

---

Marijeta  
KRALJ

VRSTE  
GENSKOG  
LIJEČENJA



Kad je krajem 19. stoljeća arhitekt Daniel H. Burnham projektirao prve moderne nebodere, njegovi kolege bili su vrlo sumnjičavi u te čudne visoke zgrade što paraju oblake. No, on im je pokušao reći da je ponekad potrebno preskočiti tradicionalne prepreke i učiniti nešto što se dotad smatralo nemogućim – to su značajke revolucije. Također smo u medicini svjedoci revolucionarnih promjena prošlih nekoliko stoljeća. Spomenimo samo neke: otkriće mikroskopa, primjena anestezije, cijepljenje, antibiotici i transplantacija. Medicina je pred vratima još jednog epohalnog pomaka. Naime, dolazi vrijeme kad će se geni moći isporučivati organizmu rutinski, sa svrhom liječenja nasljednih i stečenih bolesti, tj. dolazi vrijeme genskog liječenja. (1)

### Što je gensko liječenje?

---

Gensko liječenje jest genetička modifikacija stanica bolesnika sa svrhom prevladavanja ili izbjegavanja bolesti. Ta vrlo široka definicija obuhvaća razne pristupe, a uključuje unos kloniranih gena ljudi, dijelova gena, oligonukleotida i raznih umjetnih gena (npr. "antisense" gena). U najvećem broju slučajeva promijenjena je bolesna stanica, no nekada su ciljane stanice upravo zdrave stanice, poglavito stanice imunološkog sustava što predstavlja vrstu cijepljenja. Na taj se način, umjesto tradicionalne terapije lijekovima, koja zapravo samo uklanja simptome bolesti, pokušava popraviti osnovni problem mijenjajući genetičku pogrešku u nekim od stanica bolesnika. Naime, na temelju stečena znanja o načinu funkcioniranja gena te otkrićem novih gena i njihove uloge u nastanku mnogih nasljednih bolesti zaključilo se da bi bolest trebalo napasti upravo na njezinu izvoru, tj. nadomještanjem poremećenoga gena zdravim. (1,2)

Istraživanja genskog liječenja vrlo su brzo otpočela na bolestima kao što su cistična fibroza, mišićna distrofija, sindrom deficita adenozeaminaze, obiteljska hiperkole-

sterolemija i slično. Međutim, gensko se liječenje ipak znatno češće i intenzivnije primjenjuje u liječenju oboljelih od zloćudnih tumora.

Zbog vrlo različite molekularne osnove bolesti, neke strategije genskog liječenja prikladnije su za jednu vrst bolesti, a neke za drugu.

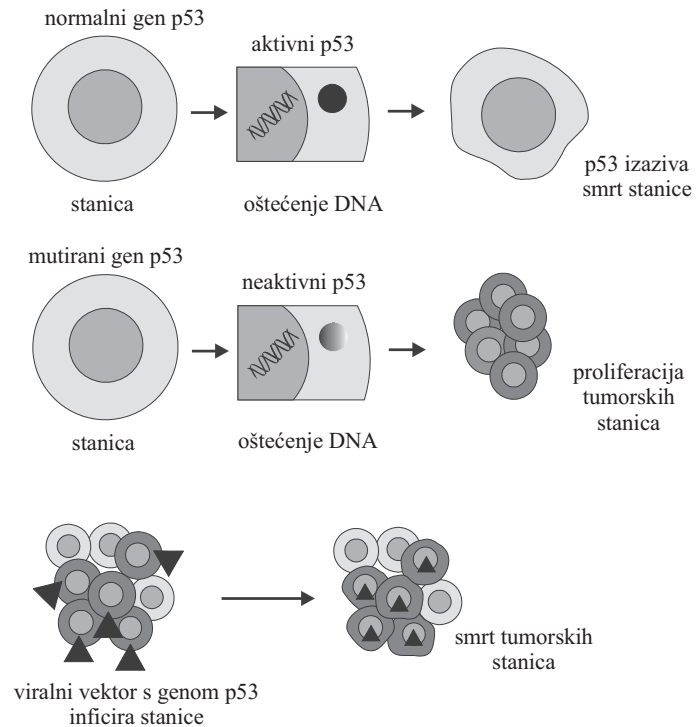
Osnovne vrste bolesti koje se mogu liječiti genskim liječenjem jesu:

**1. Infektivne i autoimune bolesti** (malarija, AIDS, reumatoidni artritis i druge). U liječenju tih bolesti, ciljaju se i uklanjaju inficirane stanice, odnosno autoreaktivne T-stanice.

**2. Monogenske (nasljedne) bolesti** (sindrom deficita adenzin deaminaze - SCID, od engl. *Severe Combined Immunodeficiency*, obiteljska hiperkolesterolemija, hemofilija, cistična fibroza, talasemija). Zbog različitih molekularnih osnova tih bolesti, različiti su i pristupi liječenju, ali osnovno je to da se zamijeni izgubljeni ili mutirani gen, tj. njegova funkcija. (3)

**3. Maligne bolesti (tumori).** U liječenju tumora primjenjuju se tri osnovne strategije: (a) *modifikacija imunološkog sustava*, bilo pojačavanjem imunološkog odgovora na tumore, bilo pojačavanjem imunogeničnosti tumora;

Slika 1.  
Gensko liječenje tumora  
uvođenjem funkcionalnog  
tumor-supresorskoga gena  
p53, pomoću adenoviralnog  
vektora



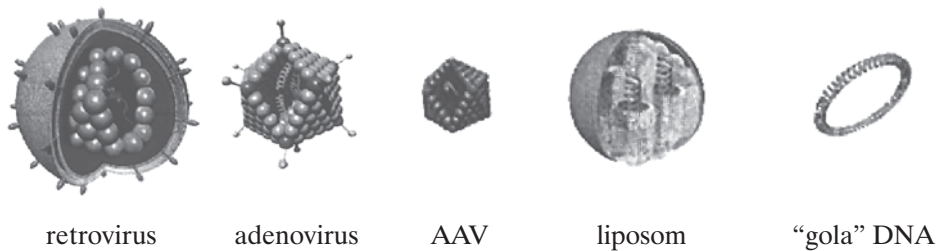
(b) *korektivne metode* – uvođenje divljeg tipa (zdravoga) gena, kočenje ekspresije onkogena; (c) *citotoksične metode* – uništenje tumora umetanjem toksičnoga gena te poticanje samoubojstva stanice.<sup>1</sup>

### Kako se funkcionalni geni unose u stanice pacijenta?

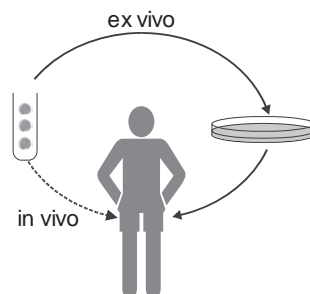
Da bi se funkcionalni gen mogao unijeti u stanicu, potrebno je posjedovati posebne prijenosnike ili vektore. Vektori su posebno konstruirane molekule DNA, a mogu biti viralnog ili neviralnog porijekla.

Viralni vektori su genetički promijenjeni virusi, te takvi ne štete organizmu, ali su vrlo učinkoviti za unošenje genetičkoga materijala. Danas se upotrebljava više od 25 vrsta virusnih vektora, ali se najčešće koriste i spominju retrovirusi, adenovirusi, adeno-združeni (AAV, od eng. *Adeno Associated Virus*) i herpes simplex virusi. Neviralni vektori, kao što su liposomi i “gola” DNA, znatno su manje efikasni od viralnih, ali predstavljaju manji rizik za organizam.

Slika 2.  
Različite vrste prijenosnika ili vektora



Nakon što se željeni gen ubaci u neki od vektora, može ga se u organizam unijeti na dva osnovna načina: *in vivo* – to je idealan način unosa jer se gen izravno unosi u stanice i tkiva gdje će se ispoljavati, te *ex vivo* – jednostavniji i češće primjenjivan način, pri čemu se stanice izvade iz bolesnika, uzgoje u *in vitro* uvjetima, u njima se ispravi pogreška na jedan od mogućih načina te se takve vrate u bolesnika. (6,7)



Slika 3.  
*In vivo* i *ex vivo* način unosa funkcionalnoga gena u stanice organizma.

## Klinička istraživanja genskog liječenja

---

Prvo uspješno provedeno gensko liječenje počelo je 14. rujna 1990. na četverogodišnjoj pacijentici Ashanti DeSilva, koja je patila od teške imunodeficijencije (SCID); ta bolest nastaje kao posljedica defekta u genu za adenzin deaminazu (ADA). Tijekom liječenja djevojčici su izvađene bijele krvne stanice imunološkog sustava, u njih su ubačene normalne kopije mutiranoga gena i tako izmijenjene vraćene su u organizam. Iako se taj postupak stalno ponavlja, kvaliteta života pacijentice bitno je poboljšana. Naime, više ne mora živjeti u karanteni kao prije liječenja jer je bila podložna i najblažoj infekciji, i živi manje-više normalno. (1,3)

Međutim, unatoč tom i sličnim slučajevima, gensko je liječenje još uvijek potpuno novo i izrazito eksperimentalno. Broj kliničkih ispitivanja je mali (ukupno oko 2000 osoba podvrgnuto je takvu liječenju) i ni jedna osoba do sada nije *izliječena* - poboljšati stanje se može, no učinci su privremeni i moraju se ponavljati u određenim vremenskim intervalima. (1)

## Problemi genskog liječenja

---

Postavlja se pitanje što je uzrok slaboj učinkovitosti genskoga liječenja? Postoje tri osnovne skupine problema koje susrećemo pri istraživanju i primjeni genskoga liječenja. Kao prvo to su *metodološki*, odnosno problemi izvođenja liječenja. Da bi gensko liječenje moglo biti učinkovitije provedeno, potrebno je iznimno dobro poznavati gene i njihovu regulaciju. Naravno, gensko je liječenje mnogo lakše provoditi u slučajevima kad su geni jednostavno regulirani. Rješenju će bitno pridonijeti uspješna realizacija tzv. projekta genoma čovjeka, koji ima zadaću otkriti cjelokupnoga genoma čovjeka.

Od metodoloških je problema svakako najveći i najteži problem isporučitelja (prijenosnika ili vektora), tj. pronalaženje vektora koji će učinkovito unijeti željeni gen na željeno mjesto, a da pritom ne predstavlja sam za sebe stanovit rizik. Zbog toga znanstvenici ulažu velike napore upravo u otkrivanje što boljeg i pogodnijeg vektora. (7) Tako primjerice retrovirusni vektori ugrađuju željeni gen u genom stanice, što je svakako dobro jer omogućava stalnu ekspresiju toga gena. No, ta je ugradnja nasumična i kao takva može izazvati inaktivaciju ili pretjeranu aktivaciju nekoga drugoga gena, poglavito onkogeno. Različito od toga, adenovirusni se vektori ne ugrađuju, znači ne predstavljaju takav rizik, no s vremenom se željeni geni gube iz sta-

nice. Osim toga, adenovirusi izazivaju jaku imunološku reakciju, što je opet problem za sebe. To su samo neki od mnogih problema vezanih za primjenu vektora.

Sljedeći metodološki problem genskog liječenja jest kako što preciznije usmjeriti gen na željeno mjesto u organizmu i kako spriječiti imunološki odgovor na strani protein.

Problemi su također *financiranje* istraživanja i provedba genskoga liječenja. Sljedećih nekoliko godina klinička ispitivanja bit će skupa i moći će se provoditi samo u velikim medicinskim centrima.

Jedan od nezaobilaznih problema svakako je i *etički problem*. Naime, kad imamo tehničke mogućnosti da osiguramo gen koji će spriječiti smrtonosnu bolest, također možemo osigurati gen s manje plemenitom funkcijom. No ovdje moramo razlikovati gensko liječenje somatskih (tjelesnih) stanica od genskoga liječenja spolnih stanica. Gensko liječenje somatskih stanica uglavnom ne izaziva etičke probleme. Naime, posljedice toga liječenja ograničene su samo na bolesnika koji se pristao tako liječiti, kao što je slučaj i kod npr. presađivanja organa. Riječ je obično o za život opasnoj bolesti za koju alternativa nije konvencionalna terapija te bi, iako tehnologija još nije dovoljno razvijena, bilo gotovo neetički odbiti takav način liječenja. Mnogo veći problem jest problem genskoga liječenja spolnih stanica jer mijenjanjem genetskog materijala spolnih stanica automatski mijenjamo i genetski materijal potomaka koji će ga naslijediti. To znači poništiti pravo tih osoba da sami izaberu hoće li ili neće prihvatiti takvu genetičku promjenu. Osim toga, genetička modifikacija u ovom slučaju ne odnosi se samo na modifikaciju određenih stanica, nego apsolutno na modifikaciju svih stanica organizma te su moguće štetne posljedice (navedene prije) mnogo izraženije. Iako bi se genskim liječenjem spolnih stanica mogla izbjeći neka vrlo teška bolest i omogućilo bi se rađanje osobe sposobne za normalan život, što bi svakako bilo pozitivna namjera, moguća je pogreška u tehnologiji ili, što je možda još gore, u prosudbi i tada to liječenje predstavlja potencijalnu Pandorinu kutiju. (8)

Ipak, zaključimo na kraju da se zamjećuje stalan napredak u tehnologiji genskoga liječenja. Istraživači su, poučeni iskustvom iz prošlosti, oprezniji ali i optimistični. Neki od glavnih problema genskoga liječenja postupno se i kvalitetno rješavaju. Kad se usavrši tehnologija kao i molekularna dijagnostika nasljednih bolesti i raka, gensko će liječenje biti jedino i pravo rješenje. Ono predstavlja veoma primamljiv pristup liječenju oboljelih i samo je pitanje vremena kad će postati realnost.

## BILJEŠKA

<sup>1</sup> U Zavodu za nuklearnu medicinu Instituta "Ruđer Bošković" primjenjuju se dva pristupa genskom liječenju raka: citotoksični - poticanje samoubojstva stanice te korektivni - uvođenje funkcionalnog tumor-supresorskog gena *p53*, ili inhibitora staničnog ciklusa, gena *p21*. (4,5)

## LITERATURA

1. Friedmann, T. (1997), Overcoming the obstacles to gene therapy, *Sci. Am.*, 276:86-90.
2. Anderson, W. F. (1992), Human gene therapy, *Science*, 256:808-813.
3. Culver, K. W., Berger, M., Miller, A. D., Anderson, W. F., Blaese, R. M. (1992), Lymphocyte gene therapy for adenosine deaminase deficiency, *Ped. Res.*, 31:149A.
4. Roth, J. A., Cristano, R. J. (1997), Gene therapy for cancer: what have we done and where are we going?, *J. Natl. Cancer. Inst.*, 89:21-39.
5. Culver, K. W., Blaese, R. M. (1994), Gene therapy for cancer, *Trends. Genet.*, 10:174-178.
6. Prince, H. M. (1998), Gene transfer: A review of methods and applications, *Pathology*, 30:335-347.
7. Morgan, J. R., Anderson, W. F. (1993), Human gene therapy, *An. Rev. Biochem.*, 62:191-217.
8. Cancer Net from the National Cancer Institute.  
<http://oncolink.upenn.edu/>