УДК 615.015.4(075.8)

МЕТОД ЛІКУВАННЯ ВРОДЖЕННИХ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЗА ДОПОМОГОЮ ВВЕДЕННЯ IN VIVO КРИСТАЛІВ МОНТМОРИЛОНІТУ (ТЕХНОЛОГІЯ IN VIVO)

БУРЯЧЕНКО С. В.

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, кафедра біохімії, пл. Свободи 4, Харків, 61077, Україна, semenb837@gmail.com

Вступ. Вперше була реалізована на практиці технологія in vivo (системне введення через кров) лікування метаболічного генетичного захворювання фенілкетонурія. Раніше проблемою було наявність на шляху лікарських препаратів велика кількість потенційних тканин-мішеней (шкіра, мязи, легені, мозок, печінка, клітини крові та ін..). Велика кількість різних мішеней потребує створенню специфічних та ефективних систем адресної доставки генетичної конструкції. Такою специфічною системою доставки та відтворення дефектного гену PAH R408W є наноскопічні кристали глини, що можно вводити внутрішньовенно у кров'яне русло. Кристали глини монтморилоніту оказують позитивний ефект при лікуванні генетичних метаболічних порушень у експерементальних тварин з відтвореною у поколінні патологією дефекта гену PAH R408W з порушенням метаболізму та обміну фенілаланіну.

Методи. Нами було створено лінію Pahenu2 щурів імітуючих хворих фенілкетонурією. У щурів розвивалась мікроцефалія. Її діагностували з венозної крові хвостової вени тварини по методу Гатрі. Визначалася концентрація фенілаланіну у сироватці крові. Було створено 2 групи: експерементальна і контрольна. Від хворих тварин отримували гепатоцити пункцією з послідуючим їх підрощуванням на поживному середовищі з додаванням кристалів монтморилоніту. Після відтворення дефектного гену PAH у клітинній культурі, що відбувається за рахунок перекодування коферментного центру і добудови гену фенілаланін – 4 – гідроксилази іонами Fe^{2+}, проводять їх внутрішньовенну реімплантацію з послідуючим усуненням дефекту фенілаланінгідроксилазної активності клітин печінки. Кристали монтморилоніту добудовують дефектний ген за допомогою того що несуть у своїх порах залишки рибоз, іонів металів, атомів деяких амінокислот. Вони стимулюють активність ферменту ФАГ під дією якого фенілаланін перетворюється у тирозин, активність гену PAH досягає 99 %. Рівень фенілаланіна знижується до 3 – 6 %.

Результати. У піддослідних щурів через 5 днів після проведення процедури внутрішньовенної реімплантації повністю відновилась активність фенілаланінгідроксилази і нормалізувався рівень фенілаланіну у сироватці крові, що відбулося у результаті проникнення атомів заліза та рибози в дефектний ген, добудови та експресії ДНК гепатоцитів, активації коферментного центру ферменту фенілаланінгідроксилази хворої тварини. У геномі трансформованих клітин була виявлена стабільна інтеграція та ефективна транскрипція гену ФАГ. Дані імуноблотінгу із специфічною по відношенню до ФАГ антисироватки виявили наявність імунореактивного протеїну ФАГ. У клітинах була зареєстрована птерин-залежна активність ФАГ, яка досягла 95 % від активності ФАГ у контрольній групі.

Висновки. Клітинні екстракти клітин гепатоми щурів мали ферментативну активність ФАГ, зареєстровану in situ по можливості переводу фенілаланіну у тирозин. На цей метод по коррекції генетичних хвороб обміну речовин, в частності фенілкетонурії покладаються великі надії так як цей метод не потребує хірургічного втручання.

Література.

Michals K., Lopus M., Matalon R. Phenylalanine metabolites as indicators od dietary compliance in children with phenilketonuria – Biochem. Med. Metab. Biol., 1988, v. 39, p. 18 – 23.

3 – Медична біохімія
«НА КОНКУРС»