

УДК 617.7:576(048)

Результаты и возможные перспективы применения генетических технологий в офтальмологии. Часть 1.

Н. А. Гаврилова, д-р мед. наук, профессор; **О. Е. Тищенко**, канд. мед. наук, доцент;
А. В. Зиновьева, старший лаборант

ФГБОУ ВО Московский
государственный медико-
стоматологический университет
им. А. И. Евдокимова;
Москва (Российская Федерация)

E-mail: aleksandra.r@live.ru

Ключевые слова:

вирусные векторы, генная терапия, сетчатка

Появление принципиально новых технологических решений в области генной терапии на сегодняшний день и сформировавшийся приоритет развития генетических технологий создают серьезные предпосылки для начала новой Fusion эры в офтальмологии в ближайшее время.

В данном обзоре, в первой его части, представлены результаты фундаментальных и клинических исследований применения вирусных и невирусных систем доставки генетического материала в офтальмологии. Вторая часть обзора будет посвящена генетическим терапевтическим стратегиям (замена гена, подавление экспрессии генов, геномное редактирование с помощью технологии CRISPR/Cas9, праймированное и транспозонное редактирование), которые используются в офтальмологии в течение последних нескольких лет.

В соответствии с основными принципами концепции новой модели предективно-превентивной и персонализированной медицины и на основании Стратегии развития медицинской науки на период времени до 2025 г. основными приоритетными направлениями, в том числе и в офтальмологии, являются исследования в области генетических, клеточных технологий, нано- и информационных технологий [1].

Появление принципиально новых технологических решений в области генодиагностики и генотерапии на сегодняшний день и сформировавшийся приоритет развития генетических технологий создают серьезные предпосылки для начала новой Fusion эры в офтальмологии в ближайшее время.

Прежде чем говорить о современных генетических технологиях в офтальмологии и проводить анализ мировых тенденций, следует сказать о нормативно-правовом и материально-техническом обеспечении направлениях развития генетических технологий на сегодняшний день

В 2019 г. в России утверждена Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий до 2027 г. [2]. Цель программы – ускоренное развитие генетических технологий, включая технологии генетического редактирования.

На заседании рабочей группы по нормативному правовому регулированию в сфере генетических технологий, включая вопросы геномного редактирования и биоэтики, которое состоялось 16 октября 2020 г., принято решение о создании Центра права и биоэтики в

сфере геномных исследований и применения генетических технологий, основная цель которого – правовое обеспечение ускоренного развития и применения генетических технологий.

В рамках реализации программы развития генетических технологий и нацпроекта «Наука» создан центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины.

Генная терапия. Системы доставки генов.

Системы доставки генов можно разделить на две группы: вирусные и невирусные, каждая из которых имеет свои преимущества и недостатки.

Вирусные системы доставки генов

Вирусные векторные системы (вирусы используются неполноценные – рекомбинантные) – в настоящее время распространенный инструмент для доставки генетического материала в клетку. Существуют векторы, разработанные на основе аденовирусов, аденоассоциированных вирусов, ретровирусов, лентивирусов и вирусов простого герпеса.

Аденовирусы имеют достаточно большую емкость (объем для вставки целевого гена составляет 20 тыс. пар нуклеотидов и более), обладают высокой эффективностью трансдукции (перенос ДНК в клетки-мишени), не интегрируются в ДНК реципиента (генетический материал остается в цитоплазме, в ядро клетки

не доставляется), что, с одной стороны, является преимуществом, с другой стороны, недостатком, так как экспрессия трансгена носит временный характер и обладает высокой иммуногенностью, т.е. является небезопасной [48, 49].

Наиболее перспективными, благодаря своим непатогенным свойствам, низкой иммуногенности, тропности к большинству клеток и тканей, высокой эффективности трансдукции, интеграции с ДНК реципиента строго по определенному сайту и продолжительной экспрессии трансгена на сегодняшний день считаются аденоассоциированные вирусные векторы (AAV). Недостатком их является небольшая емкость вектора (до 5 тыс. пар нуклеотидов).

В последние годы достаточно широко проводятся экспериментальные исследования применения AAV при патологии сетчатки и зрительного нерва (ВМД, пигментный ретинит, амавроз Лебера, болезнь Штаргардта), аутоиммунном увеите, на моделях индуцированной неоваскуляризации [4, 8, 16, 20-22, 25, 28, 33, 35, 37, 40, 41, 43, 47].

Выявлена эффективность трансдукции клеток сетчатки, роговицы, трабекулярной сети при использовании различных вариантов AAV и различных способов введения. Boye S.E. с соавт. показали, что при введении AAV с вязкоупругим веществом (смесь Healon-AAV) «subILM» наблюдается равномерная, обширная трансдукция ганглиозных клеток сетчатки [9]. Simpson C.P. с соавт. показали, что AAV-PHP.eВ хорошо проходит гематоретинальный барьер и эффективно трансдуцирует горизонтальные клетки сетчатки, ограниченно - фоторецепторы [39]. Lee S.H. с соавт. в результате сравнения эффективности трансдукции клеток сетчатки при использовании четырех различных серотипов (AAV2,5,8,9) у мышей со стрептозоцин-индуцированным диабетом определили, что наиболее выраженная трансдукция наблюдается при использовании AAV2 и AAV9, причем AAV2 трансдуцировали в клетки Мюллера, ганглиозные, биполярные, горизонтальные и амакриновые клетки сетчатки, AAV9 - только ганглиозные и горизонтальные клетки [27]. Wang L. с соавт. установили эффективную трансдукцию трабекулярной сети, стромы и эндотелия роговицы при введении у мышей в переднюю камеру AAV [42]. Lee S.H. с соавт. выявили, что предварительно проведенная лазерная фотокоагуляция усиливает трансдукцию клеток сетчатки при интравитреальном введении AAV [26].

Лентивирусные векторы (LV) относятся к семейству ретровирусов, тоже имеют относительно небольшой объем вставки целевого гена (до 8 тыс. пар нуклеотидов), могут обеспечить длительную экспрессию трансгена и индуцируют минимальный иммунный ответ организма-хозяина, но могут встраиваться в геном случайным образом (риск инсерционного мутагенеза). Количество исследований, проведенных в офтальмологии с использованием LV для доставки генетического материала меньше, чем с использованием AAV.

LV использовались при витреоретинальной патологии, ВМД, диабетической ретинопатии, меланоме хориоидеи, ретинобластоме, неоваскуляризации, дистрофиях роговицы [3, 6, 14, 25, 29, 45]. Интересное исследование провели Bai L. с соавт., показав эффективность использования LV для доставки siRNA и блокады гена Toll-подобного рецептора 2 (TLR2) при трансплантации роговицы у крыс для предотвращения отторжения трансплантата [5].

Таким образом, на сегодняшний день в офтальмологии достаточно широко проводятся фундаментальные исследования с использованием AAV и LV, выявлена при их использовании эффективность трансдукции клеток сетчатки, роговицы и трабекулярной сети; установлено, что различные серотипы AAV трансдуцируют различные типы клеток и тканей глаза; установлено, что эффективность генной терапии во многом зависит от способа доставки.

Общее количество клинических исследований препаратов для генной терапии на август 2019 г. (по данным онлайн библиотеки Wiley) составляло 3000 (<http://www.abedia.com/wiley/indications.php>). В 95% случаев проводятся 1-2 фазы клинических исследований, в 5% – 2-3 фазы, постмаркетинговые исследования проводятся всего для 5 препаратов (по состоянию на август 2019 г.). К применению в мире регуляторными органами FDA и EMA в настоящее время разрешено 9 препаратов для генной терапии.

В 2017 г. FDA и в 2018 г. Комитетом по лекарственным средствам для применения у человека (Committee for Medicinal Products for Human Use – CHMP) Европейского агентства по лекарственным средствам (EMA) рекомендован для применения у пациентов с амаврозом Лебера (наследственное заболевание сетчатки, вызванное биаллельной мутацией в гене RPE65) препарат Luxturna (Spark Therapeutics Inc, Филадельфия, Пенсильвания, США), который представляет собой аденоассоциированный вирусный вектор, несущий нормальную копию гена RPE65. Вводится препарат субретинально, однократно, пациентам, которые имеют достаточно жизнеспособных клеток сетчатки [38, 30]. В 2018 г. в детской больнице Лос-Анджелеса (Children's Hospital Los Angeles) была выполнена первая процедура коммерческого применения препарата Luxturna для восстановления зрения у пациента с дегенерацией сетчатки.

В офтальмологии в последние годы достаточно широко проводятся клинические исследования, направленные на определение безопасности и эффективности применения генетического материала и AAV вирусных систем.

Компания «GenVec» (США) одна из первых провела клиническое исследование (фаза I) применения AAV (интравитреальный способ введения), экспрессирующего фактора пигментного эпителия (PEDF) человека (AdGVPEDF.11), у пациентов с неоваскулярной формой ВМД [13]. Серьезных побочных эффектов

Таблица 1. Сравнительная характеристика клинических исследований с использованием генотерапевтических препаратов на основе вирусных векторов в лечении офтальмологических заболеваний

Препарат	Механизм действия	Разработчик	Путь введения	Фаза исследования/ регистрационный номер (Clinicaltrials.gov)	Заболевание	Сведения
AAV2-hRPE65v2 (Luxturna)	AAV	Spark Therapeutics	Субретинальный	3 NCT00999609	Амавроз Лебера	Благоприятный профиль безопасности. Одобрение к применению в США в 2017 г., в ЕС - в 2018 г.
AdGVPEDF.11D	AAV	GenVec	Интравитреальный	1 NCT00109499	Неоваскулярная ВМД	Отсутствие серьезных побочных эффектов. В 25% случаев транзиторное внутриглазное воспаление
rAAV.sFLT-1	AAV	Avalanche Biotechnologies	Субретинальный	1/2a NCT01494805	Неоваскулярная ВМД	Благоприятный профиль безопасности применения sFLT-1 в низкой (1×1010 vg) и в высокой (1×101 vg) дозах
RGX-314	LV	RegenexBio	Субретинальный	1/2a NCT03066258	Неоваскулярная ВМД	Благоприятный профиль безопасности. В 73% случаев наблюдалась стабилизация процесса в течение 6 месяцев, в 50% случаев - в течение 1,5 лет. В проведении анти-VEGF терапии в указанные периоды времени не было необходимости. В декабре 2019 г. компания приступила к проведению фазы II исследования (NCT03999801)
RetinoStat	LV	Oxford Biomedica	Субретинальный	1 NCT01301443	Неоваскулярная ВМД	Благоприятный профиль безопасности
AAVCAGsCD59 (HMR-59)	AAV	Heмера Biosciences	Интравитреальный	1 NCT03585556	Неоваскулярная ВМД	Благоприятный профиль безопасности. В 18% случаев пациентам в течение 6 месяцев не требовалось проведение анти-VEGF терапии.
ADVM-022	AAV	Adverum Biotechnologies	Интравитреальный	1 NCT03748784	Неоваскулярная ВМД	Результаты не опубликованы

Примечание. AAV – аденоассоциированные вирусные векторы (adeno-associated viral vector); LV – лентивирусные векторы (lentiviral vector); VG – векторные гены (gene vectors); ВМД – возрастная макулярная дегенерация

выявлено не было, но у 25% пациентов наблюдалось транзиторное воспаление.

Компания «Avalanche Biotechnologies» (США) совместно с Australian Lions Eye Institute провела клиническое исследование (фазы I/IIa) применения AAV, содержащего растворимую fms-подобную тирозинкиназу -1 с антиангиогенными свойствами sFLT-1 (rAAV.sFLT-1) (субретинальный способ введения) у пациентов с неоваскулярной формой ВМД [17, 36]. Было сделано заключение о безопасности применения векторных генов (vg) sFLT-1 как в низкой (1×1010 vg), так и в высокой дозе (1×1011 vg), и о перспективности комбинированного применения генной терапии с анти-VEGF терапией при неоваскулярной ВМД.

Компания «Heмера Biosciences» (США) провела клиническое исследование (фаза I) интравитреального введения AAV, содержащего CD59 (AAVCAGsCD59) - HMR59, у пациентов с экссудативной формой ВМД.

CD59 является мембранно-связанным ингибитором образования комплекса мембранной атаки (МАС), вызывающим гибель клеток в результате разрушения клеточной мембраны [15]. По итогам исследования было установлено, что применение HMR-59 является безопасным и эффективным, в 18% случаев пациентам в течение 6 месяцев не требовалось проведение анти-VEGF терапии [19].

Компания «Oxford Biomedica» (Великобритания) выполнила клиническое исследование GEM (фаза I) субретинального введения лентивирусного вектора, содержащего ингибиторы ангиогенеза – ангиостатин и эндостатин (RetinoStat), у пациентов с прогрессирующей неоваскулярной ВМД [14]. Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о том, что лентивирусные векторы EIAV являются безопасной платформой для генной терапии в офтальмологии с устойчивой экспрессией трансгена.

Компания «Adverum Biotechnologies» (США) в 2018 г. начала проводить клиническое исследование OPTIC (фаза I) рекомбинантного AAV, содержащего кодон-оптимизированную комплементарную ДНК белка афлиберцепта (ADVM-022). По протоколу исследования пациентам с ВМД, активной хориоидальной неоваскулярной мембраной проводится интравитреальное введение препарата в дозе 6E11 vg или 2E11 vg. Результаты исследования на сегодняшний день пока не представлены.

Многообещающие результаты получены компанией «RegenexBio» (США) при проведении клинического исследования (фазы I/IIa) субретинального введения AAV8, содержащего ген, кодирующий Fab - фрагмент моноклонального антитела к VEGF, у пациентов с неоваскулярной ВМД. В фазе I исследования TRIAL была определена безопасность различных доз RGX-314 (3E9 GC, 1E10 GC, 6E10 GC, 1.6E11 GC, 2.5E11 GC). Стабилизация процесса наблюдалась в 73% случаев в течение 6 месяцев, в 50% случаев – в течение 1,5 лет, в проведении анти-VEGF терапии в указанные периоды времени необходимости не было. В декабре 2019 г. компания приступила к проведению фазы II исследования LTFU.

Невирусные системы доставки генов

Невирусные системы доставки генов – «голая ДНК» (ген не помещен в защитный наноконтейнер) и наночастицы на основе металлов, полимеров или липидов. К преимуществам невирусных векторных систем относятся большая емкость, безопасность использования в связи с низкой иммуногенностью и, что немаловажно, привлекательность для производства (дешевле, чем вирусные системы, их легче стандартизовать). Основным недостатком является невысокая эффективность трансфекции генетического материала в клетки.

Наиболее простой способ – это так называемая «голая» ДНК (naked DNA). В этом случае используется ген в сопровождении минимального количества дополнительных нуклеотидных последовательностей. Исследований с использованием naked DNA небольшое, но полученные результаты, свидетельствуют о достаточно успешной трансдукции и экспрессии в сетчатке репортерных плазмид (ДНК) [18, 31].

Наночастицы на основе металлов, полимеров или липидов являются более популярными и успешными системами доставки генов. Наночастицы на основе металлов (оксид церия и оксид иттрия) не токсичны для тканей глаза и обладают свойствами антиоксидантной защиты при патологии сетчатки [10-12, 34, 46]. Наночастицы на основе полимеров в последнее время, вследствие простоты их получения и возможности управлять их свойствами, привлекают внимание исследователей. В офтальмологии, в ряде исследований (при пигментном ретините, диабетической ретинопатии) используются не обладающие иммуногенностью наночастицы полимера СК30-PEG; авторы

высказывают предположение о перспективности их использования [24, 32]. Липидные системы доставки (липосомы, ДНК-липидные комплексы и др.) на сегодняшний день являются одними из наиболее используемых носителей наночастиц. Gao Y. с соавт. на модели кислород-индуцированной ретинопатии у мышей показали, что при использовании липосомной системы доставки миРНК к VEGF наблюдается длительный терапевтический эффект и значительно уменьшается площадь неоваскуляризации сетчатки [23]. Однако, к недостаткам липидных систем доставки относится отсутствие клеточной специфичности транспортировки, что может приводить к нецелевым эффектам. Wang Y. с соавт. показали, что доставлять гены только к специфическим клеткам сетчатки наночастицам на основе липидов можно благодаря использованию клеточно-специфических промоторов [44].

Недавно разработан способ целевой направленной доставки генетического материала, позволяющий осуществлять трансфекцию достаточно крупных генно-терапевтических конструкций. Используются покрытые полимером золотые наностержни и лазерное излучение ближнего ИК-диапазона — это спектр максимального поглощения золотых наночастиц. Наностержни в результате лазерного воздействия нагреваются и при контакте с клеточной мембраной за счет увеличения ее проницаемости обеспечивают сайт-специфическую трансфекцию крупных генно-терапевтических конструкций, при этом не целевые ткани не затрагиваются [7].

Заключение

Таким образом, результаты офтальмологических клинических исследований свидетельствуют о безопасности и эффективности применения генотерапевтических препаратов с использованием, как вирусных (в основном AAV), так и невирусных систем доставки и позволяют говорить о перспективности данного направления.

Однако, следует помнить, что AAV могут проявлять иммуногенность, особенно при повторных инъекциях, LV вызывать инсерционный мута- и онкогенез, при использовании липосомных систем доставки не всегда возможна клеточная специфичность транспортировки, что может приводить к нецелевым эффектам.

Основные задачи в области применения систем доставки генной терапии в офтальмологии на сегодняшний день – это сайт-специфическая (целевая) доставка генетического материала и доставка (трансдукция/трансфекция) больших терапевтических генов.

Литература

1. Приказ Минздрава России от 30 марта 2013 г. № 175 «Об утверждении плана мероприятий по реализации Стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 г., утвержденной распоряжением Правительства РФ от 28 декабря 2012 г. № 2580-р» (в ред.

- от 26 июня 2015 г. № 373). Собрание законодательства Российской Федерации. – 2013. – №2. – С.111.
2. Постановление Правительства Российской Федерации от 22.04.2019 г. №479 «Об утверждении Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019 – 2027 годы». Собрание законодательства Российской Федерации. – 2019. – №7. – С.2108.
 3. **Aktas Z., Rao H., Slauson S.R. et al.** Proteasome Inhibition Increases the Efficiency of Lentiviral Vector-Mediated Transduction of Trabecular Meshwork // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2018. – Vol.59(1). – P.298-310.
 4. **Alves C.H., Wijnholds J.** AAV Gene Augmentation Therapy for CRB1-Associated Retinitis Pigmentosa // *Methods Mol Biol.* – 2018. – Vol.1715. – P.135-151.
 5. **Bai L., Liang W., Chen M., Cissé Y. et al.** Effect of Lentivirus-Mediated Gene Silencing, Targeting Toll-Like Receptor 2, on Corneal Allograft Transplantation in Rats // *Mol Immunol.* – 2017. – Vol.91. – P.97-104.
 6. **Basche M., Kampik D., Kawasaki S. et al.** Sustained and Widespread Gene Delivery to the Corneal Epithelium via In Situ Transduction of Limbal Epithelial Stem Cells, Using Lentiviral and Adeno-Associated Viral Vectors // *Hum Gene Ther.* – 2018. – Vol. 29(10). – P.1140-1152.
 7. **Batabyal S., Gajjerman S., Tchedre K., Dibas A., Wright W., Mohanty S.** Near-Infrared Laser-Based Spatially Targeted Nano-enhanced Optical Delivery of Therapeutic Genes to Degenerated Retina // *Mol Ther Methods Clin Dev.* – 2020. – Vol. 17. – P. 758-770.
 8. **Bosco A., Anderson S.R., Breen K.T. et al.** Complement C3-Targeted Gene Therapy Restricts Onset and Progression of Neurodegeneration in Chronic Mouse Glaucoma // *Mol Ther.* – 2018. – Vol.26(10). – P.2379 - 2396.
 9. **Boye S.E., Alexander J.J., Witherspoon C.D., Boye S.L. et al.** Highly efficient delivery of adeno-associated viral vectors to the primate retina. *Hum Gene Ther.* // – 2016. – Vol.27. – P. 580597.
 10. **Cai X., Yodoi J., Seal S et al.** Nanoceria and thioredoxin regulate a common antioxidative gene network in tubby mice // *Adv Exp Med Biol.* – 2014. – Vol.801. – P.829–836.
 11. **Cai X., McGinnis J.F.** Nanoceria: a Potential Therapeutic for Dry AMD // *Adv Exp Med Biol.* – 2016. – Vol.854. – P.111–118.
 12. **Cai X., Seal S., McGinnis J.F.** Sustained inhibition of neovascularization in *vldlr*^{-/-} mice following intravitreal injection of cerium oxide nanoparticles and the role of the ASK1-P38/JNK-NF-kappaB pathway // *Biomaterials.* – 2014. – Vol.35. – P.249–258.
 13. **Campochiaro P.A., Nguyen Q.D., Shah S.M. et al.** Adenoviral vectordelivered pigment epithelium-derived factor for neovascular age-related macular degeneration: results of a phase I clinical trial // *Hum Gene Ther.* – 2006. – Vol.17(2). – P.167–176.
 14. **Campochiaro P.A., Lauer A.K., Sohn E.H. et al.** Lentiviral Vector Gene Transfer of Endostatin/Angiostatin for Macular Degeneration (GEM) Study // *Hum Gene Ther.* – 2017. – Vol.28(1). – P.99-111.
 15. **Cashman S.M., Ramo K., Kumar-Singh R.** A non membrane-targeted human soluble CD59 attenuates choroidal neovascularization in a model of age related macular degeneration // *PLoS One.* – 2011. – Vol.6(4). – e19078.
 16. **Chekuri A., Sahu B., Chavali V. R. M. et al.** Long-Term Effects of Gene Therapy in a Novel Mouse Model of Human MFRP-Associated Retinopathy // *Human Gene Therapy.* – 2019. – Vol. 30(5). – P. 632-650.
 17. **Constable I.J., Lai C.M., Magno A.L. et al.** Gene Therapy in Neovascular Age-related Macular Degeneration: Three-Year Follow-up of a Phase 1 Randomized Dose Escalation Trial // *Am J Ophthalmol.* – 2017. – Vol.177. – P.150-158.
 18. **Dezawa M., Takano M., Negishi H. et al.** Gene transfer into retinal ganglion cells by in vivo electroporation: a new approach // *Micron.* – 2002. – Vol.33(1). – P.1 - 6.
 19. **Dugel P.U.** Clinical trial download: Data on a Gene Therapy for Dry and Wet AMD. A phase 1 clinical trial program is targeting both disease states // *Retinal Physician.* – 2020. – Vol.17. – P.16-17.
 20. **Dyka F.M., Molday L.L., Chiodo V.A. et al.** Dual ABCA4-AAV Vector Treatment Reduces Pathogenic Retinal A2E Accumulation in a Mouse Model of Autosomal Recessive Stargardt Disease // *Hum Gene Ther.* – 2019. – Vol.30(11). – P.1361 - 1370.
 21. **Feathers K.L., Jia L., Perera N.D. et al.** Development of a Gene Therapy Vector for RDH12-Associated Retinal Dystrophy. *Hum Gene Ther.* – 2019. – Vol.30(11). – P.1325 - 1335.
 22. **Gamlin P.D., Alexander J.J., Boye S.L. et al.** SubILM Injection of AAV for Gene Delivery to the Retina // *Methods Mol Biol.* – 2019. – Vol.1950. – P.249 - 262.
 23. **Gao Y., Liu X., Li C. et al.** Targeting VEGF siRNA Transfection by New Polymeric Liposomes to Inhibit Retinal Neovascularization // *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* – 2015. – Vol.51(5). – P.344 - 350.
 24. **Han Z., Banworth M.J., Makkia R. et al.** Genomic DNA nanoparticles rescue rhodopsin-associated retinitis pigmentosa phenotype // *FASEB J.* – 2015. – Vol.29. – P.2535–2544.
 25. **Kalesnykas G., Kokki E., Alasaarela L. et al.** Comparative Study of Adeno-associated Virus, Adenovirus, Baculovirus and Lentivirus Vectors for Gene Therapy of the Eyes // *Curr Gene Ther.* – 2017. – Vol.17(3). – P.235 - 247.
 26. **Lee S.H., Kong Y.J., Lyu J., Lee H., Park K., Park T.K.** Laser Photocoagulation Induces Transduction of Retinal Pigment Epithelial Cells by Intravitreally Administered Adeno-Associated Viral Vectors // *Hum Gene Ther Methods.* – 2015. – Vol.26(5). – P.159-161.
 27. **Lee S.H., Yang J.Y., Madrakhimov S., Park H.Y., Park K., Park T.K.** Adeno-Associated Viral Vector 2 and 9 Transduction Is Enhanced in Streptozotocin-Induced Diabetic Mouse Retina // *Mol Ther Methods Clin Dev.* – 2018. – Vol.13. – P.55-66.
 28. **Lipinski D.M.** A Comparison of Inducible Gene Expression Platforms: Implications for Recombinant Adeno-Associated Virus (rAAV) Vector-Mediated Ocular Gene Therapy // *Adv Exp Med Biol.* – 2019. – Vol.1185. – P.79-83.
 29. **Liu S., Song W., Liu F., Zhang J., Zhu S.** Antitumor efficacy of VP22-CD/5-FC suicide gene system mediated by lentivirus in a murine uveal melanoma model // *Exp Eye Res.* – 2018. – Vol.172. – P.144-151.
 30. **Maguire A.M., Russell S., Wellman J.A., Chung D.C. et al.** Efficacy, safety, and durability of voretigene neparvovec-rzyl in RPE65 mutation-associated inherited retinal dystrophy: results of phase 1 and 3 trials // *Ophthalmology.* – 2019. – Vol.26. – P.1273–1285.
 31. **Matsuda T., Cepko C.L.** Electroporation and RNA interference in the rodent retina in vivo and in vitro // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2004. – Vol.101(1). – P.16 - 22.
 32. **Mitra R.N., Nichols C.A., Guo J. et al.** Nanoparticle-mediated miR200-b delivery for the treatment of diabetic retinopathy // *J Control Release.* – 2016. – Vol.236. – P.31–37.

33. Moore N.A., Bracha P., Hussain R.M. Gene therapy for age-related macular degeneration // Expert Opinion on Biological Therapy. – 2017. – Vol.10. – P.1235-1244.
34. Nita M., Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults // Oxid Med Cell Longev. – 2016. – 3164734.
35. Patricio M.I., Barnard A.R., Xue K., MacLaren R.E. Choroideremia: molecular mechanisms and development of AAV gene therapy // Expert Opin Biol Ther. – 2018. – Vol.18(7). – P.807 - 820.
36. Rakoczy E.P., Magno A.L., Lai C.M. et al. Three-Year Follow-Up of Phase 1 and 2a rAAV.sFLT-1 Subretinal Gene Therapy Trials for Exudative Age-Related Macular Degeneration // American Journal of Ophthalmology. – 2019. – Vol.204. – P.113-123.
37. Ramachandran P.S., Lee V., Wei Z. et al. Evaluation of Dose and Safety of AAV7m8 and AAV8BP2 in the Non-Human Primate Retina // Hum Gene Ther. – 2017. – Vol.28(2). – P.154 - 167.
38. Russell S., Bennett J., Wellman J.A. et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial // Lancet. – 2017. – Vol.390(10097). – P.849 - 860.
39. Simpson C.P., Bolch S.N., Zhu P., et al. Systemic Delivery of Genes to Retina Using Adeno-Associated Viruses // Adv Exp Med Biol. – 2019. – Vol.1185. – P.109 - 112.
40. Simpson E.M., Korecki A.J., Fornes O. et al. New Mini-Promoter Ple345 (NEFL) Drives Strong and Specific Expression in Retinal Ganglion Cells of Mouse and Primate Retina // Hum Gene Ther. – 2019. – Vol.30(3). – P.257 - 272.
41. Sun P., Liu Z. Overexpressing kringle 1 domain of hepatocyte growth factor with adeno-associated virus inhibits the pathological retinal neovascularization in an oxygen-induced retinopathy mouse model // Biochem Biophys Res Commun. – 2019. – Vol.508(1). – P.130 - 137.
42. Wang L., Xiao R., Andres-Mateos E., Vandenberghe L.H. Single stranded adeno-associated virus achieves efficient gene transfer to anterior segment in the mouse eye // PLoS One. – 2017. – Vol.12(8). – e0182473.
43. Wang S.K., Xue Y., Rana P., Hong C.M., Cepko C.L. Soluble CX3CL1 gene therapy improves cone survival and function in mouse models of retinitis pigmentosa // Proc Natl Acad Sci USA. – 2019. – Vol.116(20). – P.10140 - 10149.
44. Wang Y., Rajala A., Cao B. et al. Cell-Specific Promoters Enable Lipid-Based Nanoparticles to Deliver Genes to Specific Cells of the Retina In Vivo // Theranostics. – 2016. – Vol.6. – P.1514-1527.
45. Wert K.J., Mahajan V.B. In Vivo Expression of Mutant Calpains in the Eye Using Lentivirus // Methods in Molecular Biology. – 2019. – Vol.1915. – P.233-247.
46. Wong L.L., McGinnis J.F. Nanoceria as bona fide catalytic antioxidants in medicine: what we know and what we want to know // Adv Exp Med Biol. – 2014. – Vol.801. – P.:821-828.
47. Xue K., MacLaren R.E. Ocular gene therapy for choroideremia: clinical trials and future perspectives // Expert Rev Ophthalmol. – 2018. – Vol.13(3). – P.129 - 138.
48. Ротов А.Ю., Николаева Д.А., Астахова Л.А., Фирсов М.Л. Вирусные векторы для оптогенетического протезирования сетчатки // Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2018. – Т.104(12). – С.1391-1408.
49. Супотницький М.В. Генотерапевтичні векторні системи на основі вірусів // Біопрепарати. – 2011. – №3. – С.15-26.

Автори заявляють об відсутності конфлікту інтересів, котрі могли б впливати на їх мнение относительно предмета или матеріалів, описаних и обговорюваних в данній рукописі.

Поступила 10.07.20

Результати та можливі перспективи застосування генетичних технологій в офтальмології. Частина 1.

Гаврилова Н. А., Тищенко О. Е., Зиновева А. В.

ФГБОУ ВО Московський державний медико-стоматологічний університет ім. А. І. Євдокимова; Москва (Російська Федерація)

Поява принципово нових технологічних рішень в області генної терапії на сьогоднішній день і сформування пріоритету розвитку генетичних технологій створюють серйозні передумови для початку нової Ери в офтальмології найближчим часом. В даному огляді, в першій його частині, представлені результати фундаментальних і клінічних досліджень застосування вірусних і невірусних систем доставки

генетичного матеріалу в офтальмології. Друга частина огляду буде присвячена генетичним терапевтичним стратегіям (заміна гена, придушення експресії генів, геномне редагування за допомогою технології CRISPR / Cas9, праймування і транспозонне редагування), які використовуються в офтальмології протягом останніх кількох років.

Ключові слова: вірусні вектори, генна терапія, сітківка