



ISSN (E): 2181-4570 ResearchBib Impact Factor: 6,4 / 2023

ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Курбонов Хуршед Рахматуллоевич

Окбаев Мехрилла Бахридинович

Ассистенты кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии

Хусанов Темурбек Бобуржонович

Студент 407 группы, лечебного факультета

Самаркандский государственный медицинский университет, Республика

Узбекистан, г. Самарканд

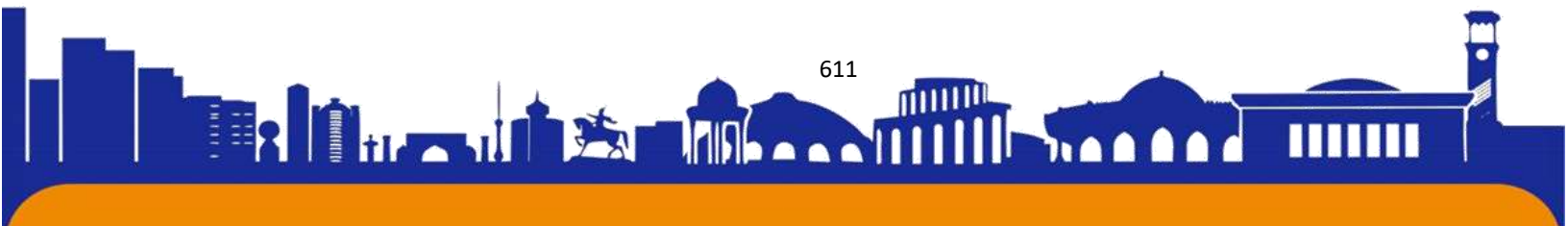
Аннотация. В статье рассматриваются новаторские стратегии применения генной терапии с целью усиления и стимуляции процессов регенерации костной ткани. Анализируются современные подходы к генной терапии, ориентированные на активацию остеогенеза и повышение эффективности ремоделирования костей, также генные механизмы, влияющие на регенерацию костной ткани, и представляются новейшие методы доставки генов в целевые клетки и ткани. Результаты данного исследования способствуют более глубокому пониманию молекулярных механизмов, лежащих в основе регенерации костей, и открывают перспективы для разработки новых методов лечения и регенерации костной ткани.

Ключевые слова: генная терапия, регенерация костной ткани, остеогенез, генные механизмы, генные трансферы, генные векторы

Abstract. The article discusses innovative strategies for using gene therapy to enhance and stimulate bone tissue regeneration processes. Modern approaches to gene therapy, aimed at activating osteogenesis and increasing the efficiency of bone remodeling, as well as gene mechanisms affecting bone tissue regeneration are analyzed, and the latest methods of gene delivery to target cells and tissues are presented. The results of this study contribute to a better understanding of the molecular mechanisms underlying bone regeneration and open prospects for the development of new treatments and bone regeneration.

Key words: gene therapy, bone tissue regeneration, osteogenesis, gene mechanisms, gene transfers, gene vectors

Введение





Генные трансферы представляют собой важное исследовательское направление в области молекулярной биологии и генетики, которое оказало глубокое воздействие на разнообразные аспекты современной биологии и медицины [4]. Понятие генных трансферов обозначает процесс передачи генетической информации или отдельных генов из одной клетки или организма в другой.

Основополагающие исследования в области генных трансферов были проведены в середине XX века. Один из первых важных шагов в этом направлении было открытие структуры ДНК Джеймсом Уотсоном и Френсисом Криком в 1953 году, что предоставило ученым ключ к пониманию молекулярных механизмов наследственности. Это открытие послужило основой для дальнейших исследований, направленных на понимание, как гены кодируют биологические функции организмов [11].

Следующим важным этапом в развитии генных трансферов стало открытие ферментов рестрикции и возможности использования их для разрезания и клонирования ДНК в 1970-х годах. Это открытие, сделанное рядом ученых, позволило манипулировать генетическим материалом и внедрять его в другие организмы, начиная с бактерий [16].

В середине 1970-х годов была разработана методика рекомбинантной ДНК (рекомбинантная ДНК - это ДНК, созданная путем объединения фрагментов ДНК из разных источников), что открыло двери для генной инженерии и создания ГМО (генетически модифицированных организмов). Это стало возможным благодаря разработке методов, позволяющих внедрять и экспрессировать чужеродные гены в различных организмах [24].

С течением времени, генные трансферы стали неотъемлемой частью биомедицинских исследований. Они применяются для создания новых терапевтических методов, лечения генетических заболеваний и изучения молекулярных механизмов биологических процессов. В настоящее время генные трансферы продолжают эволюционировать и имеют широкий спектр потенциальных применений в биологии, медицине и биотехнологии.

Материалы

Векторы для генных трансферов представляют собой молекулярные сущности, которые выполняют функцию доставки генетической информации





внутри клеток организма. Эти векторы имеют важное значение для достижения желаемых молекулярных и генетических изменений как в научных исследованиях, так и в клинической практике при процессах восстановления костной ткани.

Вирусные векторы – это модифицированные вирусы, не способные вызвать заболевание, но эффективно доставляющие генетический материал в целевые клетки. Примерами таких векторов являются аденовирусные векторы, векторы на основе аденовирус-ассоциированных вирусов (AAV) и лентивирусные векторы. Вирусные векторы характеризуются высокой эффективностью доставки генов, что делает их неотъемлемым инструментом в исследованиях и лечении костных расстройств [8].

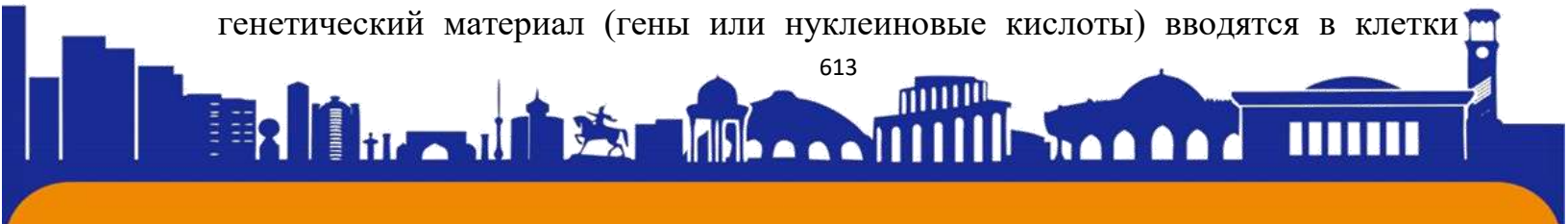
Плазмиды представляют собой кольцевые молекулы ДНК, которые могут быть легко модифицированы и манипулированы в лаборатории. Они широко используются для создания конструкций с желаемыми генами, которые затем внедряются в клетки костной ткани. Плазмиды являются важным инструментом в генной инженерии и исследованиях в области регенерации костей [13].

РНК-векторы включают молекулярные компоненты рибонуклеиновой кислоты (РНК), которые способны доставлять генетическую информацию. Они могут быть использованы для временного воздействия на экспрессию генов в клетках костной ткани [8,13].

Современные исследования также исследуют применение наночастиц и наноносителей для доставки генетических материалов в клетки костной ткани. Эти наноносители могут быть функционализированы для увеличения эффективности генных трансферов и контроля экспрессии генов.

Выбор наиболее подходящего типа вектора зависит от конкретных целей исследований или лечения. Например, вирусные векторы могут быть предпочтительными для доставки генов в стволовые клетки костной ткани, в то время как плазмиды могут быть более подходящими для исследований в клетках-предшественниках. Эффективный выбор вектора играет важную роль в обеспечении успешного генного трансфера и, следовательно, достижения желаемых результатов в области регенерации костной ткани.

Техники трансфекции представляют собой методы, с помощью которых генетический материал (гены или нуклеиновые кислоты) вводятся в клетки





организма или культурные клетки с целью доставки и экспрессии желаемых генов [7].

Электропорация основана на временном создании микроскопических пор в клеточных мембранах с использованием электрических импульсов. Это позволяет генетическим материалам проникать внутрь клетки. Электропорация может быть применена как для живых организмов, так и для культурных клеток [21]. Липофекция включает в себя использование липосом или липидных носителей для доставки генетического материала в клетки. Липидные носители образуют комплексы с нуклеиновыми кислотами и способствуют их поглощению клетками [3]. Вирусная трансфекция включает в себя использование модифицированных вирусов (например, аденовирусов или AAV) в качестве носителей генов. Модифицированные вирусы лишены способности вызывать заболевания и могут эффективно доставлять генетический материал в клетки костной ткани [6].

Техника кальциевого осаждения предполагает использование кальциевых ионов для стимуляции поглощения генов клетками. Кальций способствует образованию комплексов с нуклеиновыми кислотами и их внедрению в клетки [13]. Лазерная трансфекция основана на использовании лазерного излучения для создания временных отверстий в клеточных мембранах, позволяя генетическому материалу войти в клетки [9].

Сочетание различных методов и технологий может быть использовано для максимальной успешности генных трансферов и достижения желаемых результатов в области регенерации костной ткани.

Генная модификация представляет собой процесс изменения генетической информации организма, включая добавление, замену или удаление генов, с целью внесения специфических изменений в его свойства и функции. В контексте регенерации костной ткани, генная модификация играет ключевую роль в исследованиях и разработке новых методов лечения, направленных на улучшение регенерационных процессов костей.

CRISPR-Cas9 представляет собой инновационную методику генетической модификации, способную проводить точные изменения в генах генома. Система CRISPR-Cas9 использует специализированные RNA-молекулы для направления Cas9, эндонуклеазу, к определенному участку ДНК, где может произойти





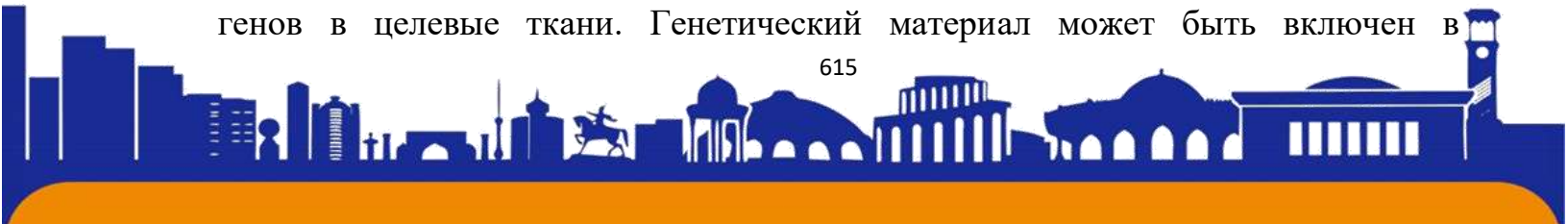
разрезание или замена генетической последовательности. Эта технология предоставляет исследователям возможность точно модифицировать гены, связанные с регенерацией костной ткани, с высокой точностью и эффективностью [27].

TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) и ZFN (Zinc Finger Nucleases) -это альтернативные методы генной модификации, основанные на использовании специальных молекулярных инструментов для создания разрывов в молекуле ДНК и внесения последующих генетических изменений. Эти технологии также позволяют исследователям изменять геном с высокой точностью [25].

Медицинская практика, нацеленная на лечение генетических нарушений или на стимуляцию процессов восстановления тканей, сосредотачивает свое внимание на регенерации костной ткани. В этом контексте генная терапия может быть использована для введения генетических изменений в организм, включая доставку генов, способствующих росту костей или преобразованию структуры ткани. Методы генной модификации, такие как клонирование и трансгенез, нацелены на внедрение генов из одного организма в другой, их применение может оказать влияние на область исследований, связанных с регенерацией костной ткани.

Генная модификация является мощным инструментом для исследований и разработки новых методов лечения костных нарушений. Она предоставляет возможность точно манипулировать генами, связанными с регенерацией костной ткани, и открывает перспективы для улучшения процессов регенерации и лечения костных заболеваний.

Методы доставки генов представляют собой стратегии и технологии, которые позволяют эффективно доставлять генетический материал (гены или нуклеиновые кислоты) в целевые клетки организма. В контексте регенерации костной ткани, эти методы играют важную роль в разработке терапевтических стратегий и исследованиях. Кроме того, применение (например, кремов или гелей, содержащих генетический материал) может быть использовано для целевой передачи генов на кожу или слизистые оболочки. Использование биоматериалов, таких как гидрогели или наночастицы, может облегчить доставку генов в целевые ткани. Генетический материал может быть включен в



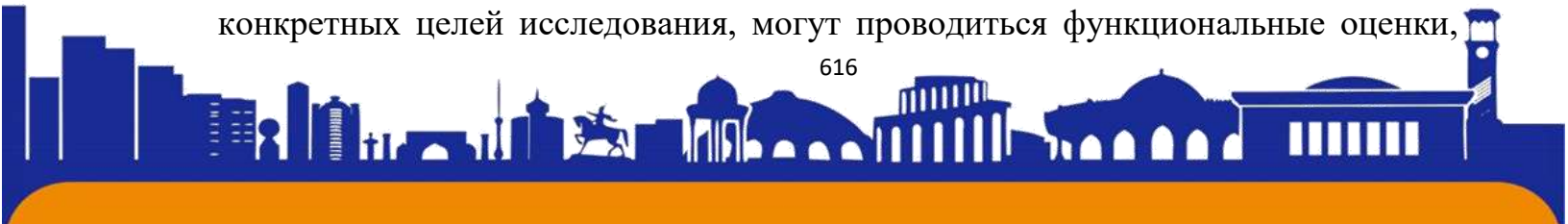


биоматериалы, которые затем внедряются в организм, обеспечивая постепенное высвобождение генов на месте назначения [1, 18].

Электропорация, как упомянуто ранее, включает создание микроскопических пор в клеточных мембранах с помощью электрических импульсов. Это позволяет генам проникать в клетки. Вирусные векторы, такие как аденовирусы или AAV, могут быть использованы для доставки генов в клетки костной ткани. Эти векторы обеспечивают высокую эффективность доставки и длительное выражение генов. Липидные носители, такие как липосомы, могут образовывать комплексы с генами и помогать их поглощению клетками [12].

Оценка результатов в исследованиях и практике генных трансферов в регенерации костной ткани является важной частью процесса исследования и лечения. Эффективная оценка позволяет определить, насколько успешно были достигнуты цели исследования или лечения. Использование биомаркеров, таких как биохимические маркеры (например, уровень кальция или коллагена в костной ткани), может помочь в оценке активности регенерационных процессов и заживления костей [10]. Медицинские методы изображения, такие как рентгеновские снимки, компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ), позволяют визуализировать структуру и плотность костей. Эти методы могут использоваться для оценки объема и качества восстановленной костной ткани [14]. Проведение функциональных тестов может помочь оценить восстановление функциональности костных структур. Например, в случае восстановления суставов, функциональные тесты могут включать в себя измерение диапазона движения и силы [23].

Биохимические анализы могут включать в себя изучение уровня маркеров воспаления, костного обмена и ростовых факторов в ткани. Эти анализы могут дать представление о биологических процессах, происходящих в области регенерации. Исследования тканей под микроскопом и гистологические анализы могут предоставить информацию о структурных изменениях в костной ткани, таких как образование новой кости, ремоделирование и присутствие клеток, участвующих в регенерации. Молекулярные методы, такие как ПЦР и анализ экспрессии генов, могут быть использованы для изучения уровня экспрессии конкретных генов, связанных с регенерацией костной ткани. В зависимости от конкретных целей исследования, могут проводиться функциональные оценки,





такие как оценка боли, подвижности или качества жизни пациентов после лечения.

Оценка результатов должна быть комплексной и многоаспектной, чтобы обеспечить полное понимание эффективности генных трансферов в регенерации костной ткани. Эти методы оценки обеспечивают количественные и качественные данные, которые позволяют ученым и врачам принимать информированные решения о дальнейших шагах в исследованиях или лечении.

В исследованиях по генным трансферам и регенерации костной ткани используются различные экспериментальные модели, которые имитируют процессы регенерации и позволяют исследователям изучать воздействие генных терапий и других методов на костные ткани. Эти модели могут быть разделены на *in vitro* (вне организма) и *in vivo* (в организме) эксперименты.

Выбор конкретной экспериментальной модели зависит от целей исследования и этапа исследовательской работы. Комбинирование различных моделей может обогатить научное понимание молекулярных и физиологических механизмов, лежащих в основе регенерации костной ткани и генных трансферов.

Регенерация костной ткани - это сложный процесс, который включает в себя множество генетических механизмов, контролирующих рост, дифференцировку и ремоделирование костей. Гены, регулирующие дифференцировку и активность остеобластов (клеток, формирующих новую кость) и остеокластов (клеток, разрушающих старую кость), имеют критическое значение для нормального остеогенеза. Ген *RUNX2* и белки семейства BMP (костные морфогенные белки) регулируют дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты и их способность к формированию новой кости. *RANKL* (рецептор активации NF-κB лиганд), регулируют ремоделирование костей, участвуя в разрушении старой кости [17,26].

Ген *OPG*, регулируя активность остеокластов, сдерживает избыточное разрушение костной ткани. В то время как факторы роста, такие как FGF и IGF, инициируют генетические механизмы, способствующие росту и увеличению длины костей, особенно у детей и подростков [28].

Гены, управляющие апоптозом, имеют потенциал повлиять на выживаемость остеобластов и остеокластов, что, в свою очередь, оказывает воздействие на процессы ремоделирования костей [15]. Следует отметить, что





гены, связанные с иммунными реакциями и воспалением, могут оказывать воздействие на способность костной ткани к регенерации. Например, активация молекулы NF-κB может способствовать воспалительным процессам и привести к разрушению костей [19]. Генетическая терапия предоставляет возможность внедрения конкретных генов, способствующих регенерации костной ткани, в поврежденные области. Кроме того, некоторые микроРНК способны регулировать экспрессию генов, связанных с регенерацией костной ткани, путем взаимодействия с мРНК-мишенями и блокирования их трансляции [5].

Понимание этих генных механизмов является ключевым для разработки генных терапий и методов стимуляции регенерации костной ткани. Исследования в этой области имеют большое значение для разработки новых подходов к лечению костных нарушений и улучшения регенерации после повреждений.

Перенос генетической информации внутрь клеток, с целью изменения их функций или активации конкретных генов, представляет собой генные трансферы. В сфере регенерации костной ткани эта технология играет ключевую роль в разработке инновационных методов лечения и усовершенствовании процессов восстановления.

Для стимуляции роста костей, генные трансферы могут быть применены для доставки генов, которые регулируют выражение белков, таких как BMPs (костные морфогенные белки). Это способствует активации процессов остеогенеза, то есть образования новой кости. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК), играющие важную роль в регенерации костной ткани, могут также стать объектом воздействия генных трансферов, с целью активации их способности к дифференциации в остеобласты [20].

Генные трансферы предоставляют средство для регулирования уровня биохимических маркеров, связанных с процессами регенерации костной ткани, таких как кальций и коллаген. Используя технику генной терапии, можно точно регулировать эти маркеры в костной ткани [23]. Они также могут применяться в целях лечения генетических костных нарушений, таких как болезнь Лобштейна — Вролика и фиброзная дисплазия. В таких случаях осуществляется введение генов, ответственных за нормальное формирование костей, с целью исправления дефектов. Одним из преимуществ их является их способность доставлять гены





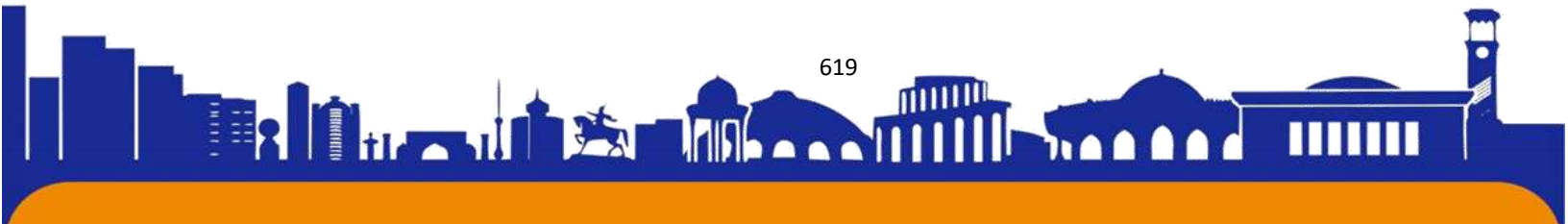
точно в целевые клетки или ткани, минимизируя воздействие на соседние структуры [2].

Регенерация костной ткани остается актуальной и многообещающей областью исследований и медицинской практики. Генные трансферы, в качестве передовой технологии, предоставляют уникальные возможности для улучшения процессов заживления костей и лечения костных нарушений.

Важно отметить, что генные трансферы позволяют точно манипулировать генами, связанными с регенерацией костей, что открывает перспективы для индивидуальных и персонализированных подходов к лечению. Генные терапии могут быть применены как для стимуляции роста костей, так и для коррекции генетических костных нарушений.

Литература:

1. Апарцин Е. К., Кнауэр Н. Ю. Методы доставки генетического материала в клетки и возможности их применения в генной терапии //Гены и клетки. – 2016. – Т. 11. – №. 2. – С. 32-41.
2. Балычевцева И. В., Гадецкая С. Г. Случай несовершенного остеогенеза (клиническое наблюдение) //Журнал «Здоровье ребенка. – 2008. – Т. 4. – С. 13.
3. Божокин М. С. и др. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСФЕКЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (ММСК) В КАЧЕСТВЕ СИСТЕМЫ МОДИФИКАЦИИ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ДЛЯ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ ДЕФЕКТОВ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА //Современные проблемы науки и образования. – 2021. – №. 4. – С. 90-90.
4. Бозо И. Я. и др. НЕВИРУСНЫЙ ГЕННЫЙ ТРАНСФЕР В ГИДРОГЕЛЕВЫХ МАТРИКСАХ С МИКРОГРАНУЛАМИ ОКТАКАЛЬЦИЕВОГО ФОСФАТА В ОПТИМИЗАЦИИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА //Гены и клетки. – 2021. – Т. 16. – №. 3. – С. 91-96.
5. Галицына Е. В. и др. МикроРНК в регуляции остеогенеза *in vitro* и *in vivo*: от фундаментальных механизмов к патогенезу заболеваний костной ткани //Гены и клетки. – 2019. – Т. 14. – №. 1. – С. 41-48.





6. Гольдштейн Д. В. и др. Композиция для восстановления дефектов костной ткани на основе аденовирусных конструкций, несущих кДНК BMP-2, фибринового геля и синтетического β -трикальцийфосфата и способ ее получения. – 2017.
7. Екимова И. В. и др. Роль индуцибельного белка Hsp70 в модуляции нейродегенеративной патологии nigростриатной системы, характерной для болезни Паркинсона //Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2016. – Т. 52. – №. 1. – С. 73-75.
8. Елифанова Е. А. и др. Вирусные векторы для доставки генетического материала в клетку и их использование в нейробиологии (обзор) //Современные технологии в медицине. – 2017. – Т. 9. – №. 1. – С. 162-174.
9. Ильина И. В. и др. Бесконтактная микрохирургия клеточных мембран с помощью фемтосекундных лазерных импульсов для оптоинъекции в клетки заданных веществ //Квантовая электроника. – 2013. – Т. 43. – №. 4. – С. 365-369.
10. Кирпичников М. П., Шайтан К. В. О развитии нанобиотехнологии //Инновации. – 2007. – №. 12. – С. 55-61.
11. Королёв А. С., Литвинов А. В. «Спираль жизни»(к 50-летию присуждения Нобелевской премии Фрэнсису Крику, Джеймсу Уотсону и Морису Уилкинсу «За открытия, касающиеся молекулярной структуры нуклеиновых кислот и их значения для передачи информации в живых системах») //Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2012. – Т. 11. – №. 3. – С. 93-98.
12. Метлева А. С. СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ЛИПИДНОЙ ТРАНСФЕКЦИИ И ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ СПЕРМИЕВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА //Вестник Курганской ГСХА. – 2023. – №. 1 (45). – С. 33-39.
13. Недорубова И. А. и др. Невирусная доставка гена BMP2 для регенерации костной ткани //Гены и клетки. – 2020. – Т. 15. – №. 4. – С. 33-39.
14. Педаченко Е. Г., Горбатюк К. И. Генетические аспекты и возможности генной терапии дегенеративных заболеваний межпозвонковых дисков //Ukrainian Neurosurgical Journal. – 2008. – №. 2. – С. 4-9.





15. Пикалюк В. С., Мостовой С. О. Современные представления о биологии и функции костной ткани //Таврический медико-биологический вестник. – 2006. – Т. 9. – №. 3. – С. 186-194.
16. Плескова С. Н. Основные принципы генной инженерии. – 2011.
17. Подлужный П. С. и др. РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ КОСТЕЙ //Гены и клетки. – 2021. – Т. 16. – №. 4. – С. 63-67.
18. Ризванов А. А. Вирусные и невирусные методы введения в организм рекомбинантных нуклеиновых кислот. – 2010.
19. Сметник В. П., Сметник А. А. Эстрогены и костная ткань //Фарматека. – 2013. – Т. 12. – №. 256. – С. 17-21.
20. Спивак Н. Я. и др. Генноинженерные технологии и стволовые клетки. – 2008.
21. Улащик В. С. Электропорация: характеристика и лечебное использование метода (обзор) //Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2016. – Т. 93. – №. 4. – С. 66-73.
22. Федорова А. В. и др. Фиброзная дисплазия //Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2022. – №. 3-4. – С. 3-11.
23. Чаусская И. Ю. и др. БИОТРАНСПЛАНТАТ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ОБЪЕМА КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ТРАВМАТИЧЕСКИХ ПВОРЕЖДЕНИЯХ КОСТЕЙ И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ. – 2014.
24. Чиркин А. А. Основы генной инженерии: методы рекомбинантных ДНК. – 2005.
25. Beumer K. J. et al. Comparing zinc finger nucleases and transcription activator-like effector nucleases for gene targeting in Drosophila //G3: Genes, Genomes, Genetics. – 2013. – Т. 3. – №. 10. – С. 1717-1725.
26. Dimitriou R. et al. Bone regeneration: current concepts and future directions //BMC medicine. – 2011. – Т. 9. – №. 1. – С. 1-10.
27. Jiang F., Doudna J. A. CRISPR–Cas9 structures and mechanisms //Annual review of biophysics. – 2017. – Т. 46. – С. 505-529.
28. Khosla S. Minireview: The opg/rankl/rank system //Endocrinology. – 2001. – Т. 142. – №. 12. – С. 5050-5055.

