НА ПУТИ К ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ЭНДОМЕТРИОЗА

© А. Н. Шубина[2], А. В. Киселев[1], А. А. Егорова[1], В. С. Баранов[1,2]

[1] ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН, Санкт-Петербург
[2] ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»

УДК: 618.145-007.415-085:575

■ **Обзор возможных подходов и современного состояния исследований по генной терапии эндометриоза. Рассмотрены основные данные о молекулярных патогенетических механизмах этого частого мультифакторного заболевания, а так же пути их коррекции с использованием генетических конструкций, влияющих на гормональный обмен, блокирующих васкуляризацию эндометриоидных гетеротопий, вызывающих направленную гибель эндометриоидных клеток или позволяющих лечить бесплодие у женщин с эндометриозом. Отмечена перспективность использования миРНК и микроРНК для направленной регуляции функции генов, контролирующих развитие эндометриоза и влияющих на его осложнения.**

■ **Ключевые слова:** эндометриоз; генная терапия; генные конструкции; миРНК; микроРНК; ангиогенез.

ВВЕДЕНИЕ

Генная терапия — подход к лечению заболеваний, основанный на введении генетического материала в клетки и ткани организма для компенсации генных дефектов или направленного воздействия на процессы реализации генетической информации. Важно отметить, что в качестве лекарственного препарата используются различные генетические конструкции на основе молекул ДНК или РНК.

Первоначально генную терапию рассматривали как возможность коррекции дефекта в гене путем замены мутантного участка гена на нормальный. В дальнейшем было показано, что гораздо более продуктивным подходом является введение пациенту полноценно работающей копии гена [5]. В настоящее время понятие генной терапии значительно расширилось. Наряду с «терапевтическими» генами в клинических испытаниях применяют олигонуклеотидные последовательности ДНК и РНК, способные регулировать активность генов. Так, перспективным направлением генной терапии является доставка антисмысловых нуклеотидов, а также микроРНК и малых интерферирующих РНК (миРНК), с целью направленной регуляции активности определенных генов [8].

Основные подходы по доставке нуклеиновых кислот в клетки разделяются на вирусные и невирусные. Наиболее эффективным является использование векторов на основе вирусов. Однако их применение *in vivo* ограничено высокой токсичностью, связанной с иммунной реакцией на вирусные белки, возможностью интеграции в нежелательные места генома, а также сложностью процедур производства и хранения [91].

Альтернативой являются невирусные способы доставки. По эффективности трансфекции *in vivo* они уступают вирусным векторам. Однако к числу их достоинств можно отнести их меньшую иммуногенность и отсутствие ограничений на размер доставляемой генетической конструкции [54].

На сегодняшний день генная терапия применяется для лечения широкого спектра как наследственных, так и приобретенных заболеваний. Помимо моногенных заболеваний генная терапия используется для лечения ряда инфекционных болезней, неврологических заболеваний, заболеваний сердечно-сосудистой системы, онкологических заболеваний [34]. Ряд генотерапевтических подходов был разработан для лечения рака. Это, в том числе, суицидная генная терапия, основанная на избирательном уничтожении клеток опухоли, а также генная терапия, направленная на стимуляцию иммунного ответа против опухолевых клеток [85].

На настоящий момент активно разрабатываются подходы к генной терапии гинекологических раковых заболеваний, таких как рак яичников, рак шейки матки, эндометриальная

карцинома [50]. Прогресс в понимании молекулярных механизмов патогенеза эндометриоза — доброкачественного гинекологического заболевания — позволяет оценить перспективы разработки генотерапевтического лечения данной патологии.

1. Эндометриоз — комплексное сочетанное заболевание

Эндометриоз — широко распространенное гинекологическое заболевание, характеризующиеся доброкачественным разрастанием ткани, сходной по строению и функциям с эндометрием, за пределами полости матки. По разным оценкам от эндометриоза страдают 10–15 % женщин репродуктивного возраста [53]. Это заболевание ассоциируется с хроническими тазовыми болями, дисменореей, диспареунией и является наиболее частой причиной женского бесплодия [23]. Эндометриоз является комплексным заболеванием; его патогенез характеризуется нарушениями метаболизма стероидных гормонов, иммунным дисбалансом, связанным с воспалением и/или инфекцией, повышенной перитонеальной ангиогенной активностью. На развитие заболевания также оказывают влияние генетические, анатомические и экологические факторы. Несмотря на широкое распространение эндометриоза и многочисленные исследования, посвященные этому заболеванию, этиология и патогенез эндометриоза остаются до конца неясными [1, 7, 12].

В настоящее время существует несколько теорий развития эндометриоза. Наиболее распространенной является ***имплантационная теория***, согласно которой эндометриоидная ткань возникает из клеток эндометрия, попадающих в брюшную полость в результате менструации. Однако, учитывая то, что ретроградный заброс крови наблюдается почти у 90 % женщин, остается неясным, почему только у некоторых из них он завершается имплантацией. Согласно ***метапластической теории*** эндометриоидная ткань возникает из клеток целомического эпителия (coelomic membrane) под влиянием гормональных нарушений, воспаления и других воздействий. Согласно ***эмбриональной теории*** эндометриоидная ткань развивается из рудиментов мюллеровых протоков и первичной почки.

Для объяснения этиологии и патогенеза эндометриоза предложены самые разные патогенетические механизмы, в основе которых лежат отклонения в гормональном статусе женщины, нарушения иммунных реакций и процессов васкуляризации, эндогенные и экзогенные нарушения функции генов-кандидатов. Все эти механизмы подробно изучены, а полученные данные суммированы в многочисленных монографиях и обзорах [1, 4]. Кратко рассмотрим лишь те из них, которые послужили основой для разработки генно-инженерных подходов терапии этого заболевания.

1.1. Гормональный дисбаланс

Эндометриоз — эстрогензависимое заболевание, которое развивается у женщин репродуктивного возраста и практически не наблюдается после менопаузы или овариэктомии. В эндометриоидных гетеротопиях присутствуют изоформы α и β эстрогенных рецепторов (ER) и ароматаза — фермент, катализирующий превращение андрогенов в эстрогены [73].

Гормональная регуляция пролиферативных процессов при эндометриозе характеризуется рядом отклонений. В эндометриодной ткани наблюдается высокая экспрессия ароматазы, что сопровождается повышенным локальным уровнем эстрогенов [40]. Нарушается метаболизм гидроксистероиддегидрогеназ — ферментов, регулирующих превращение стероидных гормонов в их более активные гидроксипроизводные. В очагах эндометриоза наблюдается повышенная активность 17β-гидростероиддегидрогеназы 1 типа (17β-HSD1), которая осуществляет конверсию эстрона (E1) в более активный эстрадиол (E2), и низкий уровень экспрессии 17β-HSD2, катализирующей обратный процесс [9, 73].

Кроме того, эндометриоз характеризуется измененной экспрессией прогестероновых рецепторов (PR), вследствие которой развивается устойчивость к прогестерону. Причиной этого является полная потеря экспрессии одного из типов PR (PR-B) и сниженная экспрессия второго (PR-A) [73].

1.2. Иммунологические реакции

Ряд исследований характеризует эндометриоз как заболевание, связанное с дисфункцией иммунной системы [2]. Нарушения клеточного и гуморального иммунитета обеспечивают возможность имплантации и пролиферации эндометриоидных клеток [9]. Общее угнетение иммунитета выражается в Т-клеточном иммунодефиците, снижении количества естественных киллеров (NK-клеток) и уменьшении их цитотоксической активности [27]. Нарушение киллерной активности лейкоцитов периферической крови приводит к потере способности распознавать и уничтожать аутологические эндометриальные клетки [72]. Таким образом, дефекты в работе защитных иммунных систем создают благоприятный фон для выживания клеток эндометрия в брюшной полости и их последующей эктопической имплантации [52].

В перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом наблюдается реакция воспаления, характеризующаяся возрастанием ее объема, увеличением числа белых кровяных телец и макрофагов, их высокой активностью, а также повышенной концентрацией цитокинов, таких как интерлейкин IL-1, IL-6, IL-8, фактор некроза опухолей альфа TNF-a [6, 10, 25]. В создании провоспалительного фона важную роль играют также цитокины IL-4, IL-10, TNF-β, MCP-1 и другие воспалительные медиаторы, такие как хемокин RANTES, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), простагландины, циклооксигеназы-2 (COX-2), фактор активации транскрипции генов NF-kB [9, 25, 28, 30, 32, 35, 52, 57, 63]. Благодаря комплексному воздействию данных факторов стимулируются процессы адгезии, имплантации и пролиферации эндометриоидных клеток, а также процесс ангиогенеза [52].

1.3. Васкуляризация эндометриоидных гетеротопий.

Необходимым условием развития эндометриоидной опухоли является процесс неоваскуляризации [48]. Высокая плотность кровеносных сосудов — типична для эндометриоидных гетеротопий [58]. Перитонеальная жидкость женщин с эндометриозом характеризуется высокой ангиогенной активностью благодаря присутствию в ней проангиогенных факторов [11, 20, 57]. Главный из них — фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) — гликопротеин, стимулирующий пролиферацию и хемотаксис эндометриальных клеток, а также усиливающий проницаемость сосудов [26, 76, 89, 90]. Он связывается с тирозинкиназными рецепторами, особенно с VEGFR-1 и VEGFR-2 (Flt-1 и KDR), продуцируется эндометриодной тканью и способствует ее неоваскуляризации [60].

Образование новых кровеносных сосудов при эндометриозе может происходить путем миграции и дифференцировки эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП) [29]. Мобилизация ЭКП происходит под действием VEGF [88], фактора роста фибробластов-2 [38] и Е2 [41–43, 75]. Привлечение ЭКП регулируется гипоксией и осуществляется посредством взаимодействий хемокина SDF-1 и его рецептора CXCR4. При гипоксии в клетках эндометриоидных гетеротопий отмечается повышение экспрессии фактора миграции стволовых клеток хемокина SDF-1 [69], а также VEGF, FGF-2 и наблюдается высокое содержание Е2 [24, 37].

1.4. Гены-кандидаты и эпигенетические особенности

В настоящее время идентифицировано более 30 генов-кандидатов эндометриоза, куда входят гены метаболизма (детоксикации), иммунного статуса, эндокринных функций, межклеточных взаимодействий и проонкогены. Для многих уже известных генов-кандидатов установлены аллельные варианты, которые определяют наследственную предрасположенность к эндометриозу и влияют на тяжесть его течения [3, 13].

В последние годы появились данные в пользу того, что важную роль в этиологии эндометриоза могут играть эпигенетические механизмы регуляции функции генов, в частности, метилирование.

Показано, что при эндометриозе наблюдается сверхэкспрессия генов ДНК-метилтрансфераз (DNMT1, DNMT3a и DNMT3b), кодирующих ферменты, вовлеченные в процессы метилирования геномной ДНК [16]. Изменения их активности могут приводить к аберрантному метилированию генов-кандидатов, играющих ключевую роль в патогенезе эндометриоза [74].

В эндометрии женщин, больных эндометриозом, в отличие от здоровых, наблюдается гиперметилирование промотора гена HOXA10, контролирующего процессы дифференцировки женской репродуктивной системы [19, 17]. Сниженной экспрессией данного гена можно объяснить как преимущественное развитие эндометриоза у женщин с анатомическими аномалиями половой системы, так и ассоциацию данного заболевания с бесплодием. Интересно отметить, что именно этот ген был идентицирован недавно как один из наиболее важных генов-кандидатов эндометриоза в исследованиях с применением общегеномного скрининга [47].

Характерным для эндометриоза являются так же гиперметилирование промотора гена прогестеронового рецептора PR-B [70] и гипометилирование промотора гена стероидогенного фактора 1 (SF-1), продукт которого, белок SF-1, важен для активации стероидогенных генов, определяющих биосинтез эстрогенов [86].

Типичным для эндометриоза является сниженный уровень экспрессии генов, контролирующих синтез многих регуляторных микроРНК [74]. Так, низкая экспрессия была показана для генов микроРНК, регулирующих активность генов PR, ароматазы, VEGF, а также ряда генов иммунной и воспалительной систем [62, 66, 78, 82]. Микро РНК miR-29C подавляет активность DNMT3A, а ее низкая активность может быть причиной высокого уровня экспрессии данного фермента при эндометриозе [62]. Сниженную экспрессию ряда генов микроРНК можно объяснить ингибирующим эффектом эстрадиола [18, 39, 66], а также метилированием их промоторов из-за избыточного содержания метилтрансфераз [74].

2. Генная терапия эндометриоза

В настоящее время разрабатываются несколько подходов к лечению эндометриоза и его осложнений. Они включают воздействие на рост эндометриоидных гетеротопий посредством изменения гормонального баланса (1), подавления ангиогенеза (2), направленного уничтожения эктопических клеток (3), а так же восстановление репродуктивной функции путем переноса терапевтических генов (4).

2.1. Изменение гормонального баланса.

Гормональная терапия направлена на подавление овуляции и снижение содержания эстрогена в крови до постменопаузального уровня [33]. Такое лечение обычно ограничено коротким периодом применения, вследствие нежелательных побочных эффектов, связанных с гипоэстрогенемией, таких как развитие остеопороза, сердечнососудистых заболеваний, возникновения климактерического вазомоторного симптома. Наличие сопутствующей соматической патологии затрудняет проведение гормонотерапии, способствует развитию аллергических реакций и других побочных эффектов [4]. Хирургическое лечение зачастую не способствует восстановлению репродуктивной функции и не исключает рецидивов заболевания [65].

Как было отмечено выше, эндометриоз является эстроген-зависимым заболеванием, однако существующая антиэстрогенная терапия подразумевает нежелательное системное изменение уровня эстрадиола. Таким образом, актуальна разработка такого терапевтического подхода, который позволил бы достичь локального тканевого блока действия эстрадиола, но не сопровождался общей гипоэстрогенемией.

Возможность реализации подобного подхода была продемонстрирована в экспериментах с доминантными негативными мутантами эстрогенных рецепторов — (dominant negative estrogene receptor — DNER), неспособными активировать транскрипцию эстрогензависимых генов при связывании с эстрадиолом и подавляющими активность нормального ER [68].

Проведены эксперименты по доставке гена, кодирующего DNER, в эндометриоидные клетки человека с использованием аденовирусных векторов in vitro [64]. Были взяты три группы эндометриоидных клеток, полученных от пациенток с эндометриозом яичников. Первую группу клеток обрабатывали неспособным к репликации аденовирусным вектором, экспрессирующим ген DNER (Ad-DNER), вторую — контрольным вирусом, а к третьей добавляли только сыворотку. Было показано, что при обработке клеток Ad-DNER по сравнению с контрольными клетками, обработанными вирусом, наблюдалось округление клеток и их отделение от субстрата (клеточная гибель). В течение 5 дней количество живых клеток сокращалось на 72 %. Также было установлено существенное снижение уровня хемотаксического для макрофагов белка 1 (MCP-1), VEGF, IL-6, а также увеличение числа апоптотических клеток. Таким образом, было показано, что доставка гена DNER в эндометриоидные клетки с помощью аденовирусов может быть эффективным подходом к лечению эндометриоза.

Другой антиэстрогенный подход к лечению эндометриоза может быть реализован путем подавления экспрессии гена ароматазы — фермента, играющего ключевую роль в метаболизме эстрогенов. Угнетение экспрессии гена ароматазы может быть осуществлено с помощью антисмысловых нуклеотидов или малых интерферирующих РНК (миРНК) против мРНК данного гена. В данном случае для доставки могут быть применимы невирусные методы, что позволит снизить риски, связанные с использованием вирусных векторов.

2.2. Подавление ангиогенеза

Известно, что существенную роль в развитии эндометриоза играют ангиогенез и новообразование кровеносных сосудов (васкулогенез) в очаге заболевания. На животных моделях было показано, что лекарственные ингибиторы роста сосудов, такие как TNP-470, эндостатин, VEGF-A блокирующие антитела, метоксиэстрадиол и ангинекс, способны оказывать лечебное действие при эндометриозе [14, 15, 21, 22, 36]. Однако, был выявлен побочный эффект приема данных препаратов, выражающийся в снижении фертильности у животных и пациентов, принимавших указанные препараты в рамках противораковой терапии [83]. В связи с этим, особый интерес представляет разработка альтернативных генотерапевтических подходов к подавлению ангиогенеза при эндометриозе.

Ранее на мышиной модели были проведены исследования по подавлению ассоциированного с эндометриозом ангиогенеза [84]. Для этого использовали естественный ингибитор ангиогенеза — ангиостатин. Доставка гена данного белка осуществлялась с использованием неспособного к репликации аденовирусного вектора.

Эндометриоз индуцировали путем пересадки эндометриоидной ткани в перитонеальную полость мышей с удаленными яичниками. Через неделю после трансплантации мышам первой группы внутрибрюшинно вводили аденовирусный вектор, содержащий мышиный ген ангиостатина в составе аденовирусного векто-

ра (Ad-angiostatin), а мышам второй группы — контрольный аденовирус. Третья и четвертая группы служили контролем и получали либо Ad-angiostatin, либо только аденовирус.

Было показано, что через две недели эндометриоидные очаги исчезли у 100% мышей, которым вводили вектор Ad-angiostatin, и только у 15% контрольной группы, которым вводили аденовирус без терапевтического гена. Иммуногистохимический анализ с использованием мышиных антител к фактору фон Виллебрандта показал, что на пятый день после введения гена ангиостатина, помимо уменьшения количества эндометриоидной ткани, произошло значительное сокращение числа кровеносных сосудов и их размера. Также наблюдали уменьшение размеров области, занимаемой сосудистой сетью. Побочные эффекты антиангиогенной терапии у контрольных мышей были связаны со снижением выработки стероидных гормонов яичниками, уменьшением их размеров, исчезновением фолликулов и желтого тела, а также уменьшением матки и увеличением размеров тела (аналогичное увеличение массы тела наблюдалось у мышей после удаления яичников).

Таким образом, подавление ассоциированного с эндометриозом ангиогенеза введением гена ангиостатина является эффективным способом лечения эндометриоза. Однако для ограничения негативного воздействия ангиостатина на ткани матки и яичников необходимо разработать локальную или направленную доставку вектора в клетки-мишени.

Альтернативный невирусный подход к антиангиогенной генотерапии эндометриоза был использован китайскими исследователями в 2011 году [46]. В работе на крысиной модели было продемонстрировано подавление эндометриоза сверхэкспрессией гена, кодирующего фактор PEDF. Фактор пигментного эпителия (PEDF) является ингибитором ангиогенеза; это гликопротеин, принадлежащий к семейству сериновых протеаз. Помимо антиангиогенной активности он обладает противоопухолевым и нейротрофическим действием [31].

Плазмида с геном PEDF доставлялась в эндометриоидные клетки в комплексе с полимерными мицеллами на основе олигосахарида хитозана, модифицированного остатками стеариновой кислоты (CSO-SA). Для индукции эндометриоза крысам пересаживали аутологические участки эндометрия на внутреннюю поверхность брюшной стенки. Первой группе крыс (негативный контроль) вводили физиологический раствор в хвостовую вену. Второй группе (положительный контроль) перорально давали даназол (производное 17-этинилтестостерона) из расчета 36 мг/кг массы тела, а третьей группе вводили по 5 мг/кг массы тела комплексов CSO-SA/PEDF в хвостовую вену ежедневно в течение двух недель.

По результатам эксперимента было показано, что размеры эндометриоидных гетеротопий у крыс, которым вводили CSO-SA/PEDF, значительно меньше, чем у крыс контрольной группы, однако достоверно больше, чем у крыс, которым вводили даназол. Возможно, это связано с использованием более низкой концентрации гена PEDF относительно даназола. По сравнению с первой группой у крыс с инъекцией комплексов CSO-SA/PEDF в эндометриоидных очагах был практически полностью редуцирован железистый компонент и значительно редуцирован стромальный компонет. Анализ матки и яичников обнаружил, что комплексы CSO-SA/PEDF не оказывают негативного воздействия на ультраструктуру данных органов, а число новообразованных сосудов у крыс с введением комплексов CSO-SA/PEDF значительно ниже, чем у контрольных крыс, в то время как число зрелых сосудов не различается между двумя группами. Авторы предположили, что мишенью CSO-SA/PEDF являются в основном новообразованные сосуды. И, наконец, уровень апоптоза в клетках эндометрия крыс с введением комплексов CSO-SA/PEDF был существенно выше, чем в контрольной группе.

Таким образом, использование хитозановых наночастиц, содержащих ген фактора PEDF, является перспективным подходом для лечения эндометриоза. Данные комплексы успешно подавляют пролиферацию эктопического эндометрия, вызывают его редукцию, а также не оказывают негативного воздействия на репродуктивные органы.

Одной из наиболее перспективных мишеней для генной терапии эндометриоза может являться фактор роста сосудов (VEGF), играющий ключевую роль в процессах ангиогенеза. Подавление экспрессии гена VEGF, в том числе с помощью белка sFlt-1-продукта гена растворимой формы рецептора VEGFR1 активно используется в работах по анти-ангиогенной генотерапии онкологических заболеваний [67, 79]. Рецептор sFlt-1 связывается с VEGF и ингибирует его действие, а также может подавлять действие рецептора дикого типа [51]. Подавление экспрессии гена VEGF осуществляют путем доставки малых интерферирующих РНК, комплементарных мРНК VEGF [55]. Аналогичный подход, по нашему мнению, может быть применен при генной терапии эндометриоза.

2.3. Виротерапия.

Виротерапия основана на использовании онколитического потенциала вирусов для уничтожения опухолевых клеток. Этот подход был разработан для терапии рака, но недавно было показано, что виротерапия может являться перспективным подходом и к лечению эндометриоза [87]. В данном исследовании использовались условно реплицирующиеся аденовирусы (conditionally replicative adenovirus — CRADs). Данный тип онколитических вирусов был сконструирован таким образом, чтобы реплицироваться в клетках-мишенях, вызывая их гибель, но при этом CRADs не обладают способностью к репликации в других клетках и тканях организма. Для достижения специфичности репликации в эктопическом эндометрии гены, необходимые для вирусной репликации, были помещены под контроль промотора гена VEGF, повышенная экспрессия которого наблюдается в клетках эктопического эндометрия [57]. Для оценки эффективности работы промотора гена VEGF было проведено изучение экспрессии данного гена в образцах эктопического и эутопического эндометрия, а также тканей брюшины, у женщин, больных эндометриозом в сравнении с контрольными образцами. В качестве дополнительного контроля авторами были исследованы векторы, на основе неспособных к репликации аденовирусов, содержащие репортерный ген под контролем либо промотора гена VEGF, либо конститутивно активного промотора CMV.

Было показано, что уровень экспрессии гена VEGF значительно выше в эктопическом эндометрии по сравнению с эутопическим эндометрием или с брюшиной. Активность промотора гена VEGF также была значительно выше в эктопическом эндометрии. Вектор VEGF-CRAD реплицировался в эндометриоидной ткани, и вызывал апоптоз в культуре эндометриоидных клеток in vitro. На мышиной модели показано, что промотор VEGF был в 1,43 раза менее активен, чем конститутивный промотор CMV в печени и в 1,37 раз менее активен, чем в эутопическом эндометрии, что может свидетельствовать о меньшей токсичности вектора VEGF-CRAD для данных органов по сравнению с конститутивно реплицирующимися вирусами.

Авторами был сделан вывод, что аденовирусные векторы под контролем промотора гена VEGF перспективны для разработки генотерапевтических походов к лечению эндометриоза.

2.4. Суицидная генная терапия.

Данный подход основан на доставке в ткани генов, кодирующих фермент, превращающий предшественник лекарственного средства в вещество, убивающее клетки. Эффективность данного подхода применительно к эндометриозу впервые была изучена канадскими исследователями [71].

В исследовании использовали ген тимидинкиназы вируса герпеса (HSV-tk) — фермента, который превращает препарат ганцикловир (GCV) в токсичный метаболит. Доставка гена HSV-tk в опухоль с последующей обработкой GCV сопровождается гибелью как HSV-tk позитивных клеток, так и соседствующих с ними негативных клеток — так называемый «эффект свидетеля» (bystander effect) [59].

Авторами была исследована чувствительность клеток эндометрия человека к обработке GCV после доставки аденовирусного вектора, содержащего кДНК HSV-tk. Для этого использовали культуру клеток из эндометриоидных гетеротопий женщин, больных эндометриозом. Были использованы векторы на основе неспособных к репликации аденовирусов. Первый тип векторов содержал кДНК гена зеленого флуоресцентного белка GFP (AdGFP). Второй тип содержал одновременно гены HSV-tk и GFP (AdTK). Через 7 дней после инфекции ежедневно в течение недели проводилась обработка клеток возрастающими дозами GCV, далее оценивали процент погибших клеток. Было показано, что эффективность трансфекции составила 76 % для AdGFP и 24 % для AdTK. Клетки, обработанные AdTK, но не AdGFP были чувствительными к GCV. Причем, несмотря на то, что только 24 % клеток были трансфецированы AdTK, 70 % клеток погибли после обработки GCV в результате «эффекта свидетеля».

Далее авторами были проведены исследования на мышиной модели. Экзогенно снабжаемым эстрогеном безтимусным мышам nude с удаленными яичниками имплантировали фрагменты эндометриоидной ткани человека, предварительно инфицированной аденовирусными векторами. Половине мышей были подсажены фрагменты эндометриоидной ткани, обработанные только вектором AdGFP, другой половине — обработанные векторами AdTK и AdGFP. Через 4 дня после трансплантации в течение последующих двух недель половине мышей из каждой группы ежедневно вводили GCV, а другой половине вводили плацебо.

Поскольку участки эндометриоидной ткани человека после обработки аденовирусом могли быть детектированы за счет флуоресценции GFP, использование данной модели позволило визуализировать эндометриоидные гетеротопии с помощью флуоресцентного сканера, не

убивая животное. Таким образом, была оценена динамика изменения размера и формы гетеротопий у мышей после введения GCV. У мышей с инъекцией вектора AdTK, которым вводили GCV, уже на восьмой день размер гетеротопий был значительно меньше, чем у контрольной группы. У мышей с инъекцией вектора AdGFP таких различий не наблюдалось.

Данная модель представляет особый интерес для моделирования эндометриоза и оценки эффективности различных подходов к его лечению, тогда как подавление эндометриоза с помощью суицидной генной терапии представляет собой эффективный подход к лечению данного заболевания.

2.5. Терапия с использованием гомеозисных генов.

Одной из причин бесплодия при эндометриозе может быть снижение экспрессии гомеозисных генов, в частности HOXA10 и HOXA11, продукты которых являются транскрипционными факторами, запускающими каскад генов, регулирующих рост и дифференциацию репродуктивных органов [44, 56, 80].

Исследование динамики экспрессии генов HOXA10 и HOXA11 в эутопическом эндометрии женщин, больных эндометриозом, в течение менструального цикла показало отсутствие увеличения уровня экспрессии HOX генов во время лютеиновой фазы цикла у пациенток с эндометриозом в отличие от здоровых женщин. Было сделано предположение, что измененный уровень экспрессии генов HOXA10 и HOXA11 при эндометриозе может являться причиной ассоциированного с данным заболеванием бесплодия [49].

В 2002 году Taylor с соавторами предложили подход к лечению бесплодия при эндометриозе, основанный на доставке в эндометрий комплексов, содержащих гены HOXA10 и HOXA11 [81]. В качестве носителя для доставки генетических конструкций использовали катионные липосомы. Была проведена оценка эффективности комплексов липосом с ДНК для трансфекции клеток Ishikawa (дифференцированная культура клеток из эндометриальной карциномы человека), клеток эндометриальной ткани мышей, а также эндометрия матки человека (ткани были получены в ходе гистерэктомии у пациенток, страдающих хроническими тазовыми болями). Эффективность трансфекции оценивали по уровню экспрессии репортерного гена lacZ. Установлено, что комплексы липосом с ДНК эффективны для трансфекции данных культур клеток, а также эндометрия матки.

Была также продемонстрирована возможность направленного изменения уровня экспрессии гена HOXA10 в эндометриальной ткани. С этой целью проведена трансфекция клеток Ishikawa комплексами липосом с антисмысловыми олигодезоксирибонуклеотидами, комплементарными участку начала трансляции мРНК гена HOXA10, либо комплексами липосом с плазмидой, содержащей ген HOXA10.

Было показано, что добавление антисмысловых олигодезоксирибонуклеотидов не влияет на содержание мРНК гена HOXA10, но значительно снижает количество белка HOXA10. Тогда как введение плазмиды с геном HOXA10, способствует увеличению содержания как мРНК, так и белка HOXA10.

Влияние уровня экспрессии гена HOXA10 на репродуктивную функцию исследовали на мышиной модели. Подавление экспрессии данного гена в эндометрии беременных мышей приводило к сокращению общего числа мест имплантации. А в результате индукции сверхэкспрессии гена HOXA10 у мышей возрастало число детенышей в помете.

Другой мишенью для генной терапии для нормализации экспрессии гена HOXA10 при эндометриозе может быть микроРНК miR135, которая является основным специфическим репрессором экспрессии гена HOXA10 [61]. Для подавления функций этой микроРНК могут быть использованы специальные конструкции антагомиры — синтетические нуклеотидные последовательности, комплементарные специфической микроРНК [77]. Невирусная доставка таких молекул в эндометрий потенциально может рассматриваться как новый перспективный подход к генной терапии эндометриоза.

Заключение

Прогресс в расшифровке генома человека и идентификации генов способствовал стремительному развитию молекулярной медицины, рассматривающей проблемы здоровья человека на молекулярном уровне. Открытие молекулярных механизмов патогенеза позволило начать разработку подходов к генотерапии различных заболеваний, в том числе и акушерско-гинекологических патологий.

Обзор существующих данных позволяет сделать заключение, что генная терапия может быть эффективной для восстановления репродуктивной функции женского организма при эндометриозе. На настоящий момент накоплены данные о «терапевтических» генах, доставка которых может быть актуальна при лечении данного заболевания. Например, исследования аденовирусной доставки генов доминантных негативных эстрогенных рецепторов и тими-

динкиназы вируса герпеса заложили основу для будущих клинических испытаний. Определены гены-мишени, подавление экспрессии которых может оказать терапевтическое воздействие. Так, перспективным подходом является подавление ангиогенеза в эндометриоидных очагах. Генами-мишенями в данном случае могут являться гены фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора пигментного эпителия (PEDF), основного фактора роста фибробластов (bFGF) и тромбоцитарного фактора роста эндотелия (PDGF). Активно разрабатываются генетические конструкции на основе молекул ДНК и РНК, а также способы их доставки в организм. Помимо экспрессионных векторов, кодирующих «терапевтические» гены, при генной терапии эндометриоза актуально применение малых молекул нуклеиновых кислот — миРНК, микроРНК, а также антагомиров.

Тем не менее, на сегодняшний день генная терапия эндометриоза находится на начальной стадии и для своего дальнейшего развития требует дальнейших фундаментальных исследований и тщательных клинических испытаний. Создание более совершенных систем доставки нуклеиновых кислот и уточнение механизмов контроля экспрессии генов, вовлеченных в патогенез эндометриоза, станет ключевым шагом в развитии безопасных клинических протоколов генной терапии данной патологии.

Литература

1. *Адамян Л. В., Спицын В. А., Андреева Е. Н.* Генетические аспекты гинекологических заболеваний. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 200 с.
2. *Адамян Л. В., Осипова А. А., Сонова М. М.* Эволюция гормональной терапии эндометриоза // Проблемы репродукции. — 2006. — Т. 12, № 5. — С. 11–16.
3. *Баранов В. С., Иващенко Т. Э., Швед Н. Ю.* Генетические основы профилактики и лечения эндометриоза // Молекулярно-генетические технологии в медицинской практике. — 2004. — Вып. 5. — С. 136–156.
4. *Баскаков В. П., Цвелев Ю. В., Кира Е. Ф.* Эндометриоидная болезнь. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2002. — 448 с.
5. *Горбунова В. Н., Баранов В. С.* Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. — СПб.: Специальная литература, 1997. — 286 с.
6. Исследование цитокинового профиля и ангиогенного потенциала перитонеальной жидкости больных с наружным генитальным эндометриозом / Соколов Д. И. [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2005. — Т. 140, № 11. — С. 552–555.
7. *Ищенко А. И., Кудрина Е. А.* Эндометриоз: диагностика и лечение. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — 104 с.
8. *Киселев А. В., Баранов А. Н., Баранов В. С.* Генная терапия. Состояние проблемы и перспективы // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. — 2003. — № 3. — С. 49–75.
9. Молекулярная патология эндометриоза / Ляшенко А. А. [и др.] // Проблемы репродукции. — 2006. — Т. 12, № 6. — С. 16–21.
10. *Сельков С. А., Солодовникова Н. Г., Павлов О. В.* Особенности локальной продукции интерлейкинов и ростовых факторов при наружном генитальном эндометриозе // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2005. — Т. 139, № 4. — С. 439–442.
11. Участие факторов ангиогенеза в развитии наружного генитального эндометриоза / Кондратьева П. Г. [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2007. — № 3. — С. 70–74.
12. *Ярмолинская М. И., Рулев В. В.* Современные подходы к комплексной терапии наружного генитального эндометриоза // Доктор.Ру. — 2008. — № 6. — С. 1727–2378.
13. *Ярмолинская М. И.* Генитальный эндометриоз: влияние гормональных, иммунологических и генетических факторов на развитие, особенности течения и выбор терапии: автореф. дис… д-ра мед. наук. — СПб., 2009. — 40 с.
14. 2-methoxyestradiol inhibits hypoxia-inducible factor-1{alpha} and suppresses growth of lesions in a mouse model of endometriosis / Becker C. M. [et al.] // Am. J. Pathol. — 2008. — Vol.172, N.2 — P. 534–544.
15. A novel noninvasive model of endometriosis for monitoring the efficacy of antiangiogenic therapy / Becker C. M. [et al.] // Am. J. Pathol. — 2006. — Vol. 168, N. 6. — P.2074–2084.
16. Aberrant expression of deoxyribonucleic acid methyltransferases DNMT1, DNMT3A, and DNMT3B in women with endometriosis / Wu Y. [et al.] // Fertil. Steril. — 2007. — Vol. 87, N 1. — P. 24–32.
17. Aberrant methylation at HOXA10 may be responsible for its aberrant expression in the endometrium of patients with endometriosis / Wu Y. [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. — 2005. — Vol. 193, N. 1. — P. 371–380.
18. Alterations in micro-ribonucleic acid expression profiles reveal a novel pathway for estrogen regulation / Cohen A. [et al.] // Endocrinology. — 2008. — Vol. 149, N. 4. — P. 1687–1696.
19. Altered expression of HOXA10 in endometriosis: potential role in decidualization / Kim J. J. [et al.] // Mol. Hum. Reprod. — 2007. — Vol. 13, N. 5. — P. 323–332.
20. Angiogenic activity of peritoneal fluid from women with endometriosis / Oosterlynck D. J. [et al.] // Fertil. Steril. — 1993. — Vol. 59, N. 4. — P. 778–782.
21. Antiangiogenesis therapy for endometriosis / Nap A. W. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2004. — Vol. 89, N. 3. — P. 1089–1095.
22. Antiangiogenic agents are effective inhibitors of endometriosis / Hull M. L. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2003. — Vol. 88, N. 6. — P. 2889–2899.
23. *Baldi A., Campioni M., Signorile P. G.* Endometriosis: pathogenesis, diagnosis, therapy and association with cancer // Oncol. Rep. — 2008. — Vol. 19, N. 4 — P. 843–846.

24. Basal and steroid hormone-regulated expression of CXCR4 in human endometrium and endometriosis / Ruiz A. [et al.] // Reprod. Sci.— 2010.— Vol. 17, N. 10.— P. 894–903.
25. Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis / Pizzo A. [et al.] // Gynecol Obstet Invest.— 2002.— Vol. 54, N. 2.— P. 82–87.
26. Conditional switching of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in tumors: induction of endothelial cell shedding and regression of hemangioblastoma-like vessels by VEGF withdrawal // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.— 1997.— Vol. 94, N. 16.— P. 8761–8766.
27. Changes of peripheral blood lymphocyte subsets before and after operation of patients with endometriosis / Kikuchi Y. [et al.] // Acta. Obstet. Gynecol. Scand.— 1993.— Vol. 72, N. 3.— P. 157–161.
28. Chemokine bioactivity of RANTES in endometriotic and normal endometrial stromal cells and peritoneal fluid / Hornung D. [et al.] // Mol. Hum. Reprod.— 2001.— Vol. 7, N.2.— P. 163–168.
29. Circulating endothelial progenitor cells are up-regulated in a mouse model of endometriosis / Becker C. M. [et al.] // Am. J. Pathol.— 2011.— Vol. 178, N. 4.— P. 1782–1791.
30. COX-2 overexpression in peritoneal lesions is correlated with non-menstrual chronic pelvic pain / Buchweitz O. [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.— 2006.— Vol. 124, N. 2.— P.215–221.
31. *Dass C. R., Contreras K. G., Dunstan D. E.* Chitosan microparticles encapsulating PEDF plasmid demonstrate efficacy in an orthotopic metastatic model of osteosarcoma // Biomaterials.— 2007.— Vol. 28, N. 19.— P. 3026–3033.
32. Distinct mechanisms regulate cyclooxygenase-1 and –2 in peritoneal macrophages of women with and without endometriosis / Wu M. H. [et al.] // Mol. Hum. Reprod.— 2002.— Vol. 8, N. 12.— P. 1103–1110.
33. *Dlugi A. M., Miller J. D., Knittle J.* Lupron depot (leuprolide acetate for depot suspension) in the treatment of endometriosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. Lupron Study Group // Fertil. Steril.— 1990.— Vol. 54, N. 3.— P. 419–427.
34. *Edelstein M. L., Abedi M. R., Wixon J.* Gene therapy clinical trials worldwide to 2007— an update // J. Gene Med.— 2007.— Vol. 9, N. 10.— P. 833–842.
35. Elevated concentration and biologic activity of monocyte chemotactic protein-1 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis / Akoum A. [et al.] // Fertil. Steril.— 1996.— Vol. 66, N. 1.— P. 17–23.
36. Endostatin inhibits the growth of endometriotic lesions but does not affect fertility / Becker C. M. [et al.] // Fertil. Steril.— 2005.— Vol.84.— P. 1144–1155.
37. Endothelial progenitor cells contribute to the vascularization of endometriotic lesions / Laschke M. W. [et al.] // Am. J. Pathol.— 2011.— Vol. 178, N. 1 — P. 442–450.
38. Essential role of bone marrow fibroblast growth factor-2 in the effect of estradiol on reendothelialization and endothelial progenitor cell mobilization / Fontaine V. [et al.] // Am. J. Pathol.— 2006.— Vol. 169, N. 5.— P. 1855–1862.
39. Estradiol downregulates miR-21 expression and increases miR-21 target gene expression in MCF-7 breast cancer cells / Wickramasinghe N. S. [et al.] // Nucleic Acids Res.— 2009.— Vol. 37, N. 8.— P. 2584–2595.
40. Estrogen content and metabolism in human breast tumor tissues and cells / Castagnetta L. A. [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1996.— Vol. 784.— P. 314–321.
41. Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation / Strehlow K. [et al.] // Circulation.— 2003.— Vol. 107, N. 24.— P. 3059–3065.
42. Estrogen-mediated endothelial progenitor cell biology and kinetics for physiological postnatal vasculogenesis / Masuda H. [et al.] // Circ. Res.— 2007.— Vol. 101, N. 6.— P. 598–606.
43. Estrogen-mediated, endothelial nitric oxide synthase-dependent mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells contributes to reendothelialization after arterial injury / Iwakura A. [et al.] // Circulation.— 2003.— Vol. 108, N. 25.— P. 3115–3121.
44. *Favier B., Dollé P.* Developmental functions of mammalian Hox genes // Mol. Hum. Reprod.— 1997.— Vol. 3, N. 2.— P. 115–131.
45. *Gazvani R., Templeton A.* New considerations for the pathogenesis of endometriosis // Int. J. Gynaecol. Obstet.— 2002.— Vol. 76, N. 2.— P. 117–126.
46. Gene therapy of endometriosis introduced by polymeric micelles with glycolipid-like structure / Zhao M. D. [et al.] // Biomaterials.— 2012.— Vol. 33, N. 2.— P. 634–643.
47. Genome-wide association study identifies a locus at 7p15.2 associated with endometriosis / Painter J. N. [et al.] // Nature Genetics.— 2011.— Vol. 43, N. 1.— P. 51–54.
48. *Groothuis P. G., Nap A. W., Winterhager E.* Vascular development in endometriosis // Angiogenesis.— 2005.— Vol. 8, N. 2 — P. 147–156.
49. HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis / Taylor H. S. [et al.] // Hum. Reprod.— 1999.— Vol. 14, N. 5.— P. 1328–1331.
50. *Kanerva A., Raki M., Hemminki A.* Gene therapy of gynaecological diseases // Expert Opin. Biol. Ther.— 2007.— Vol. 7, N. 9.— P. 1347–1361.
51. *Kendall R. L., Wang G., Thomas K. A.* Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR // Biochem. Biophys. Res. Commun.— 1996.— Vol. 226, N. 2 — P. 324–328.
52. *Kyama C. M., Debrock S., Mwenda J. M.* Potential involvement of the immune system in the development of endometriosis // Reprod. Biol. Endocrinol.— 2003.— Vol. 1 — P. 123.
53. *Lebovic D. I., Mueller M. D., Taylor R. N.* Immunobiology of endometriosis // Fertil. Steril.— 2001.— Vol. 75, N. 1.— P. 1–10.
54. *Li S. D., Huang L.* Gene therapy progress and prospects: non-viral gene therapy by systemic delivery // Gene Ther.— 2006.— Vol. 13, N. 18.— P. 1313–1319.

55. Local and systemic delivery of VEGF siRNA using polyelectrolyte complex micelles for effective treatment of cancer / Kim S. H. [et al.] // J. Control. Release. — 2008. — Vol. 129, N. 2. — P. 107–116.
56. *McGinnis W., Krumlauf R.* Homeobox genes and axial patterning // Cell. — 1992. — Vol. 68, N. 2. — P. 283–302.
57. *McLaren J., Prentice A., Charnock-Jones D. S.* Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis // Hum. Reprod. — 1996. — Vol. 11, N. 1. — P. 220–223.
58. *McLaren J.* Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis // Hum Reprod Update. — 2000. — Vol. 6, N. 1. — P. 45–55.
59. Mechanism of 'bystander effect' killing in the herpes simplex thymidine kinase gene therapy model of cancer treatment / Ishii-Morita H. [et al.] // Gene Therapy. — 1997. — Vol. 4, N. 3. — P. 244–251.
60. Mechanistic and therapeutic implications of angiogenesis in endometriosis / Taylor R. N. [et al.] // Reprod. Sci. — 2009. — Vol. 16, N. 2. — P. 140–146.
61. MicroRNA 135 regulates HOXA10 expression in endometriosis / Petracco R. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2011. — Vol. 96, N. 12. — P. 925–933.
62. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis / Ohlsson Teague E. M. [et al.] // Mol. Endocrinol. — 2009. — Vol. 23, N. 2 — P. 265–275.
63. Nuclear factor-kappa B is constitutively activated in peritoneal endometriosis / González-Ramos R. [et al.] // Mol. Hum. Reprod. — 2007. — Vol. 13, N. 7. — P. 503–509.
64. *Othman E. E., Salama S., Ismail N.* Toward gene therapy of endometriosis: adenovirus-mediated delivery of dominant negative estrogen receptor genes inhibits cell proliferation, reduces cytokine production, and induces apoptosis of endometriotic cells // Fertil. Steril. — 2007. — Vol. 88, N. 2. — P. 462–471.
65. Ovulation suppression for endometriosis / Hughes E. [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. — 2007. — Vol. 18, N 3 — Art. No.: CD000155
66. *Pan Q., Luo X., Toloubeydokhti T.* The expression profile of micro-RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression // Mol. Hum. Reprod. — 2007. — Vol. 13, N. 11. — P. 797–806.
67. PEG conjugated VEGF siRNA for anti-angiogenic gene therapy / Kim S. H. [et al.] // J. Control. Release. — 2006. — Vol. 116, N. 2. — P. 123–129.
68. Powerful dominant negative mutants of the human estrogen receptor / Ince B. A. [et al.] // J. Biol. Chem. — 1993. — Vol. 269, N. 19. — P. 14026 –14032.
69. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1 / Ceradini D. J. [et al.] // Nat. Med. — Vol. 10, N. 8. — P. 858–864.
70. Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR-B) in endometriosis / Wu Y. [et al.] // Epigenetics. — 2006. — Vol. 1, N. 2. — P.106–111.
71. Quantitative assessment of human endometriotic tissue maintenance and regression in a noninvasive mouse model of endometriosis / Fortin M. [et al.] // Mol. Ther. — 2004. — Vol. 9, N. 4 — P. 540–547.
72. Recombinant interleukin-2 corrects in vitro the immunological defect of endometriosis / Melioli G. [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. — 1993 — Vol. 30, N. 4 — P. 218–227.
73. *Rizner T. L.* Estrogen metabolism and action in endometriosis // Mol. Cell Endocrinol. — 2009. — Vol. 307, N. 1–2. — P. 8–18.
74. *Rosser M. D., Parvez I. H., Dyan N. A.* The emerging role of epigenetics and miRNAs in endometriosis // Expert Review of Obstretrics and Gynecology. — 2011. — Vol. 6, N. 4. — P. 431–450.
75. Selective estrogen receptor-alpha agonist provides widespread heart and vascular protection with enhanced endothelial progenitor cell mobilization in the absence of uterotrophic action / Bolego C. [et al.] // FASEB J. — 2010. — Vol. 24, N. 7. — P. 2262–2272.
76. *Senger D. R., Perruzzi C. A., Feder J.* Ahighly conserved vascular permeability factor secreted by a variety of human and rodent tumor cell lines // Cancer Res. — 1986. — Vol. 46, N 11. — P. 5629–5632.
77. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs' / Krützfeldt J. [et al.] // Nature. — 2005. — Vol. 438, N 7068. — P. 685–689.
78. *Sonkoly E., Stahle M., Pivarcsi A.* MicroRNAs and immunity: novel players in the regulation of normal immune function and inflammation // / Semin. Cancer Biol. — 2008. — Vol. 18, N. 2. — P. 131–140.
79. Suppression of ovarian cancer by muscle-mediated expression of soluble VEGFR-1 / Flt-1 using adeno-associated virus serotype 1-derived vector / Takei Y. [et al.] // Int. J. Cancer. — 2007. — Vol. 120, N. 2. — P. 278–284.
80. *Taylor H. S., Vanden Heuvel G. B.* A conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes // Biol. Reprod. — 1997. — Vol. 57, N. 6. — P. 1338–1345.
81. *Taylor S. H., Shelton C. T.* Endometrial gene therapy: US Patent 0177574, 2002. — 17 p.
82. The expression and ovarian steroid regulation of endometrial micro-RNAs / Toloubeydokhti T. [et al.] // Reprod. Sci. — 2008. — Vol. 15, N. 10. — P. 993–1001.
83. The vascular endothelial growth factor (VEGF) / VEGF receptor 2 pathway is critical for blood vessel survival in corpora lutea of pregnancy in the rodent / Pauli S. A. [et al.] // Endocrinology. — 2005. — Vol. 146, N. 3. — P. 1301–1311.
84. Therapeutic effect of angiostatin gene transfer in a murine model of endometriosis / Dabrosin C. [et al.] // Am. J. Pathol. — 2002. — Vol. 161, N. 3. — P. 909–918.
85. *Touchefeu Y., Harrington K. J., Galmiche J. P.* Gene therapy, recent developments and future prospects in gastrointestinal oncology: review article // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2010. — Vol. 32, N. 8. — P. 953–968.
86. Transcriptional activation of steroidogenic factor-1 by hypomethylation of the 50 CpG island in endometriosis / Xue Q. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2007. — Vol. 92, N. 8. — P. 3261–3267.

87. Treatment of endometriosis with a VEGF-targeted conditionally replicative adenovirus / Rein D.T. [et al.] // Fertil. Steril. — 2010. — Vol. 93, N. 8. — P. 2687–2694.
88. Vascular endothelial growth factor (165) gene transfer augments circulating endothelial progenitor cells in human subjects / Kalka C. [et al.] // Circ. Res. — 2000. — Vol. 86, N. 12, — P.1198–1202.
89. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF / Keck P.J. [et al.] // Science. — 1989. — Vol. 246, N. 4935. — P.1309–1312.
90. Vascular permeability factor / vascular endothelial growth factor (VPF / VEGF) delays and induces escape from senescence in human dermal microvascular endothelial cells / Watanabe Y. [et al.] // Oncogene. — 1997. — Vol. 14, N. 17. — P. 2025–2032.
91. Viral gene therapy strategies: from basic science to clinical application / Young L.S. [et al.] // J. Pathol. — 2006. — Vol. 208, N. 2. — P. 299–318.

.

Статья представлена В.С. Барановым,
ФГБУ «НИИАГ им. Д.О. Отта» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

TOWARDS GENE THERAPY OF ENDOMETRIOSIS

Shubina A.N., Kiselev A.V., Egorova A.A., Baranov V.S.

■ **Summary:** Review of current state and future prospects of endometriosis gene therapy is presented. Main molecular pathogenetic mechanisms and possible ways of their correction by means of genetic constructs are described. Examples of anti-estrogenic, anti-angiogenic, suicidal gene therapy approaches are presented. Advantages of siRNA and microRNA mediated regulation of endometrial genes expression are discussed.

■ **Key words:** endometriosis; gene therapy; genetic constructs; siRNA; microRNA; angiogenesis.

■ **Адреса авторов для переписки**

Шубина Анастасия Николаевна — студентка кафедры генетики и селекции биолого-почвенного факультета. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Университетская наб. 7/9, Санкт-Петербург.

Киселев Антон Вячеславович — к. б. н., с. н. с. лаб. пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН, 199034, Менделеевская линия, 3, Санкт-Петербург. **E-mail:** ankiselev@yahoo.co.uk.

Егорова Анна Алексеевна — к. б. н., н. с. лаб. пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН, 199034, Менделеевская линия, 3, Санкт-Петербург.

Баранов Владислав Сергеевич — заведующий лабораторией пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний человека, член-корр. РАМН, з. д. н., д. м. н., проф., ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН, 199034 Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3; ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», 199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9.

Shubina Anastasia Nikolaevna — student of Department of Genetics and Breeding of Saint-Petersburg State University, 199034, Universitetskaya emb. 7/9, Saint-Petersburg
199034 Saint-Petersburg, Mendeleevskaya line, 3

Kiselev Anton Vyacheslavovich — PhD, senior scientist, lab. prenatal diagnostics of inherited diseases, Ott's Institute for Obstetrics and Gynecology RAMS, 199034, Mendeleevskaya line 3, Saint-Petersburg. **E-mail:** ankiselev@yahoo.co.uk.

Egorova Anna Alexeevna — PhD, post-doctoral fellow, lab. prenatal diagnostics of inherited diseases.
Ott's Institute for Obstetrics and Gynecology RAMS.
199034, Mendeleevskaya line 3, Saint-Petersburg.

Baranov Vladislav Sergeevich — head of lab.for Prenatal Diagnosis, PhD, prof. D. O. Ott's Institute of Obstetrics and Gynecology. 199034 Saint-Petersburg, Mendeleevskaya line, 3. Saint-Petersburg State University. 199034 Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9.