

ГЕНЕТИКА МЕДИЦИНЕ: НОВЫЙ ПОДХОД К ПРЕДУПРЕЖДЕНИЮ И ЛЕЧЕНИЮ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Борис Фукс

Атеросклероз

Почти 100 лет тому назад в Петербурге академик Аничков и его сотрудник Халатов покормили кроликов яичными желтками и описали появление атеросклеротических бляшек в их аорте. Так было положено начало теории о роли холестерина в развитии атеросклероза. Сегодня эта теория выглядит следующим образом. Холестерин поступает в кровь из пищи, но главным образом продуцируется печенью. В крови холестерин присутствует в виде сложных комплексных соединений с белками аполипопротеина, образуя липопротеины низкой и высокой плотности – LDL и HDL соответственно. Первым приписывают главную роль в патогенезе атеросклероза.

Образование атеросклеротической бляшки описывают следующим образом. Важный, но не единственный фактор – появление в крови избытка LDL. Второй фактор – окисление некоторых молекул в составе LDL. Оно осуществляется свободными радикалами, т.е. атомарным кислородом. Это, в свою очередь, ведет к образованию массивных комплексов частиц LDL.

Представлены данные, согласно которым в образовании комплексов участвует иммунная система организма, в частности, антитела, образующиеся под влиянием окисленных LDL. Антитела выполняют роль клея в образовании массивных комплексов LDL. Такие комплексы захватываются фагоцитами крови и сосудистой стенки. Эти клетки становятся так называемыми пенстыми клетками, в цитоплазме которых можно видеть большие вакуоли, заполненные липидами. Мы с моей сотрудницей Фаиной Лейтес показали, что в пенстых клетках резко активируются липолитические ферменты. Однако они не справляются с расщеплением холестерина, и клетки погибают. Высвобождающиеся продукты, главным образом, холестерин, образуют бляшку.

Таким образом, перед медициной стоят задачи предупредить синтез избытка холестерина и поступления избытка LDL в кровь, предупредить образование комплексов LDL и захват их фагоцитами. Важный шаг на этом пути – создание статинов (липитор, крестор и др.). Однако они дают побочные эффекты, подавляя не только синтез холестерина в печеночной клетке, но и вмешиваясь в другие обменные процессы.

Их часто нельзя долго использовать, например, после ранее перенесенных вирусных заболеваний печени. Атеросклероз стоит на первом месте в ряду причин заболеваемости и смертности в наше время и оказывает принципиальное влияние на среднюю продолжительность жизни.

Подавление продукции холестерина и LDL в организме обезьян с помощью интерференционной рибонуклеиновой кислоты

Открытие интерференционной рибонуклеиновой кислоты (siRNA) – крупное событие в биологии, которое оказывает влияние на многие области медицины. Из более чем 600 работ мы отобрали недавнюю работу 29 авторов, опубликованную в 2006 году, имеющую самое прямое отношение к проблеме атеросклероза (Авторы поставили эксперименты на обезьянах *sunomolgus monkeys*. Им вводили внутривенно siRNA по 1-2.5 мг на кг веса. siRNA была предварительно инкапсулирована в липосомах – микропузырьках, образованных липидами. siRNA была специфична по отношению к гену, кодирующему белок аполипопротеин В (APOB). Этот белок является абсолютно необходимым звеном в цепи реакций, завершающихся синтезом холестерина. Одна

инъекция siRNA имела следствием дозозависимое замедление накопления в клетках печени переносчика информации (mRNA) от APOB-гена к рибосоме – структуре, в которой происходит синтез белка APOB. То есть mRNA присоединялась к рибосоме, но не реализовывала информацию о синтезе белка APOB. Имела место специфическая блокада, на самом деле, специфическое разрушение, информационной молекулы- mRNA под влиянием ген-специфической siRNA. Это значительное падение присутствия mRNA в клетке начиналось через 48 часов после введения обезьянам siRNA и затем постепенно достигало максимума - более 90%.

Значительное падение в сыворотке крови LDL и холестерина обнаруживалось уже через 24 часа после инъекции siRNA и длилось 11 дней.

Речь идет, таким образом, в перспективе о создании высокоактивного лекарства нового типа для лечения атеросклероза у человека. Схематичное описание этого частного случая, естественно, не исчерпывает значимости открытия двух авторов А.Fire и С.Mello, за которое они были удостоены Нобелевской премии за 2006 год. Об этом далее.

Открытие интерференционной РНК

Эндрю Файр и Крейг Мелло опубликовали их основополагающую статью в Nature в 1998 году. Чтобы описать суть их открытия, мы должны вкратце напомнить, как устроена и работает генетическая машина клетки. Центральное ее звено-ДНК в виде длинной двойной спирали. В ДНК четырехбуквенным кодом записана вся информация о данном организме. Гены, кодирующие белки, занимают менее 5% всей ДНК, т.е. всего генома. Речь идет примерно о 23000 генов. Другая большая часть генома осуществляет важнейшие регуляторные функции. Именно от нее зависят принципиальные различия между разными видами, например, между человеком и мышью. Именно в этой области лежат многочисленные специфические гены, кодирующие siRNA. Их должно быть очень много - тысячи. Белки синтезируются в небольших частицах-рибосомах, а информацию о белках переносят от ДНК в рибосомы РНК-переносчики –mRNA.

Как работает siRNA? Эти РНК имеют небольшой размер, всего 20-23 буквы. Они похожи на ДНК, представляя собой двойную спираль. Они проникают из ядра клетки в цитоплазму, «узнают» на рибосоме по буквенному коду «свою» mRNA, с помощью ферментов разрушают ее. Синтез специфического белка, например, APOB (см. выше) прекращается. В результате, прекращается синтез конечного продукта, в данном случае, холестерина. Это, конечно, предельно упрощенная схема. Выше не сказано, что буквы кода в ДНК и РНК – это определенные молекулы-нуклеотиды, что они «умеют узнавать» друг друга и о многом другом. Знания и технологии, стоящие за этими немногими строчками, занимают многие сотни томов биологических журналов, монографий и методических книг. Однако и неизученная область достаточно велика. Оказалось, что в клетку, например, печени извне должно проникнуть небольшое число молекул siRNA, чтобы заблокировать гораздо более многочисленные mRNA, кодирующие APOB, и, как следствие, блокирующие синтез холестерина. При предполагаемом хаотическом (Броуновском) движении молекул siRNA, проникших в печеночную клетку (см. выше - опыт на обезьянах), непонятно, как они находят «свои» mRNA? В реальной практике это происходит, но как?

Значение открытия siRNA

Сегодня уже известно, что siRNA защищают клетку от вирусной атаки. Пока эта закономерность не изучена у человека. 50% нашего генома, т.е.совокупности генов каждой клетки, представляют собою вирусные ДНК и так называемые транспозоны, т.е. мобильные части генома, способные «переселяться» из одного участка генома в другой и дезорганизовать работу генома клетки. В их число входят и раковые гены. Оказалось, что

siRNA нейтрализуют вирусные и транспозонные гены, как бы выполняя функцию иммунной системы самого генома. Пока неясно, как использовать эту функцию siRNA.

Вскоре после открытия siRNA был открыт еще один класс молекул – микроРНК (miRNA), аналогичных по размеру siRNA. На сегодня описано 500 вариантов miRNA в клетках млекопитающих. Установлено, что они участвуют в регулировании 30% всех генов клетки. Известно, что miRNA играют важную роль в развитии растений, червей и млекопитающих.

В 2007 году опубликована фундаментальная работа о роли miRNA в происхождении группы нейро-дегенеративных, в том числе, фатальных заболеваний у человека. Почти 30 лет тому назад мы заинтересовались возможностью использовать для лечения этой группы болезней неспецифические олигонуклеотиды – короткие цепочки РНК, более короткие, чем miRNA и siRNA. Мы получали их из дрожжевой RNA. Препарат получил название Энкад. Его действие было исследовано первоначально более чем у ста больных нейро-дегенеративными заболеваниями с выраженным позитивным эффектом при некоторых из них. Был получен патент, а препарат Энкад представлен в многочисленных публикациях.

Читатель может найти описание Энкада в общеизвестном руководстве академика Машковского. Мы хотели бы сделать здесь очень осторожное предположение, что наши олигорибонуклеотиды вмешивались в работу miRNA при некоторых этих болезнях, «узнавая» адекватные короткие рибонуклеотидные последовательности в ДНК или в miRNA и блокируя последние. Сегодняшний методологический уровень позволяет проверить это предположение.

В литературе, посвященной siRNA, делается однозначное заключение, что индивидуальная специфическая siRNA блокирует в геноме один ген. Это открывает дорогу для определения функции любого ранее открытого гена. Как известно, проект «Геном человека» позволил описать 23000 генов к концу прошлого века. Эта огромная многолетняя работа требует кооперации многочисленных научных коллективов Европы и Америки. Это первый этап. Открытие siRNA делает возможным второй этап – определение функции каждого гена. Сегодня невозможно предсказать, какие горизонты открываются перед медициной.

Однако, очевидно, что многие болезни будут побеждены, и изменится само лицо медицины.

Заключение

Открытие, согласно которому клетки имеют специальный механизм для подавления функции индивидуальных генов, было полностью неожиданным. Оно драматическим образом расширило возможности биологии и медицины контролировать индивидуальные гены. siRNA образуются в самой клетке, но могут проникать в клетку извне. Развитие организма и функций его клеток и тканей зависит от наличия нормального механизма, включающего многие siRNA. Этот механизм подавляет активность вирусной и транспозонной ДНК самой клетки, защищая организм от многих болезней. Вместе с тем, в нем таится разгадка ряда болезней и возможность лечения их.

Источники

1. Fire A. et al, 1998. Nature 391, 806-811
2. Zimmermann T. et al, 2006, Nature 441, 111-114
3. Eisenberg I. Et al, 2007, PNAS, October 23, v 104, no 43, 17016-17002