

doi: 10.17116/terarkh20168895-9

© Коллектив авторов, 2016

Трансляционная медицина в российской кардиологии: новый этап или повторение пройденного?

С.Н. ТЕРЕШЕНКО, И.В. ЖИРОВ, А.Г. КОЧЕТОВ

ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

В кратком обзоре представлен опыт использования концепции трансляционной медицины в практической деятельности ФГБУ РКНПК в течение последних 25 лет существования данной организации. Очерчены возможные пути развития данного направления российской медицины для решения актуальных научных и практических задач.

Ключевые слова: трансляционная медицина, кардиология, микроРНК.

Translational medicine in Russian cardiology: a new stage or repetition of the past?

S.N. TERESHCHENKO, I.V. ZHIROV, A.G. KOCHETOV

Russian Cardiology Research and Production Complex, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

The brief review gives the experience in using the concept of translational medicine in the practical activities of the Russian Cardiology Research and Production Complex in the past 25 years of its existence. It outlines the possible ways of developing this area in Russian medicine to solve crucial scientific and practical tasks.

Key words: translational medicine, cardiology, microRNA.

ОИМ — острый инфаркт миокарда
п.н. — пары нуклеотидов
ПЦР — полимеразная цепная реакция

СН — сердечная недостаточность
ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания

Больной — книга, книга — больной.
Вот единственный способ обучения врача
Е.М. Тареев

Труды классической медицины времен античности и средних веков фокусировались на одной мишени воздействия — организм человека. Начиная с эпохи «великих эпидемий» стало ясно, что популяционные изменения также могут служить важной, а порой и ведущей составляющей здоровья. И, наконец, немецкий патолог Р. Вирхов в XIX столетии окончательно сформулировал новую цель для интенсивного изучения — клетка. С этого момента именно эти три составляющих — клетка, организм человека и общественное здоровье служат точками приложения многочисленных исследований. Однако достаточно быстро стало ясно, что призванием конкретного специалиста будет являться что-то одно из этого списка. Бурное развитие науки привело к тому, что время и силы, необходимые для обучения и специализации, привели к определенному разделению, т.е. специалист в клинической медицине не всегда хорошо и полно ориентировался в других областях. Все это приводило к тому, что наработки в

области фундаментальной науки с трудом пробивались в клинику и потом крайне сложно имплементировались в структуру популяционных мероприятий. Требовалось создание схемы, позволяющей соединить эти три составляющие в единое целое для решения актуальных задачи здравоохранения. В этой связи хотим отметить, что такое соединение впервые произведено именно в нашей стране.

В конце 1981 г. согласно новой структуре Всесоюзного кардиологического научного центра (ВКНЦ) АМН СССР все структурные подразделения разделены на три научно-исследовательских института: Институт экспериментальной кардиологии, целью которого являлось проведение фундаментальных исследований и создание перспективных моделей для последующего внедрения в клиническую практику; Институт клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, где в том числе должно было проводиться апробирование этих новых перспективных моделей, и Институт профилактической кардиологии, специализирующийся в области популяционных исследований и программ общественного здоровья [1].

Сведения об авторах:

Терещенко Сергей Николаевич — д.м.н., проф., зам. ген. дир. ФГБУ РКНПК, дир. Института экспериментальной кардиологии, рук. отд. заболеваний миокарда и сердечной недостаточности НИИ кардиологии им. А.Л. Мясникова, засл. деят. науки РФ

Кочетов Анатолий Глебович — д.м.н., зам. дир. по науке Института экспериментальной кардиологии ФГБУ РКНПК, проф. каф. госпитальной терапии с курсом лабораторной диагностики ГОУ ВПО РУДН

Контактная информация:

Жиров Игорь Витальевич — д.м.н., в.н.с. отд. заболеваний миокарда и сердечной недостаточности НИИ кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ РКНПК; тел.: +7(495)414-6788; e-mail: izhirov@mail.ru

Таким образом, не на бумаге, а на практике создан механизм преемственности от молекулярных до эпидемиологических исследований, направленных на решение конкретных задач, которые стоят перед здравоохранением. Тогда этот механизм и эта преемственность не имели конкретного названия, лишь в 1986 г. J. Burke и соавт. [2] впервые использован термин «translational* research», который подразумевал специально спланированную работу по максимально быстрому практическому применению находок, полученных в результате фундаментальных исследований, для внедрения новых способов диагностики, определения прогноза, лечения, профилактики и диагностики. Чуть позднее это получит название «трансляционная медицина» [3].

И еще одна иллюстрация — первое подобное учреждение в США (Институт трансляционной медицины и терапии — Institute of Translational Medicine and Therapy) создан только в 2005 г., т.е. спустя 24 года после СССР [4].

К большому сожалению, в последнее время «пальма первенства» в этой области не всегда заслуженно отдается зарубежному здравоохранению, хотя надо признать честно, что здесь последователи вырвались вперед и «бегут» сейчас быстрее основателей.

Что нам нужно сделать для того, чтобы вернуть лидерство в этой области или значительно сократить отставание? Конечно, единого рецепта для такой задачи не существует. Четкое понимание проблемы и беспристрастная ее «инвентаризация», однако, помогут принять существующие вызовы и уменьшить бремя сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в нашей стране.

Итак, понимание проблемы. Что же такое «трансляционная медицина» в современном понимании?

Уже упомянутое «жесткое» разделение привело к тому, что в современных реалиях можно встретить блестяще подготовленного клинициста, очень слабо разбирающегося в особенностях внутриклеточного метаболизма или молекулярной биологии, или, наоборот, биохимика, не представляющего, как выглядят клинические проявления дефицита того или иного фермента или накопления в клетке того или иного вещества. Существующая система образования привела к ситуации «сверхспециализации» в том или ином модуле — базовые дисциплины, клиническая медицина, общественное здоровье. Трансляционная медицина — это как раз тот мостик, который позволяет соединить их в одно целое. Если использовать англоязычную терминологию, фундаментальная медицина является «bench», т.е. дословно «получаемой на скамье», теоретической, а клиника — «bedside», т.е. практикой у «постели больного» [5, 6].

Исследования, направленные на изучение механизмов развития патологических процессов, являются исходной точкой реализации научно-исследовательских работ с дальнейшей их трансляцией в клиническую медицину. Изучение свойств стволовых клеток, новые технологии получения IPS-клеток человека и животных, использование их паракринных эффектов, выявление новых пептидных агентов и биологически активных молекул позволяют значительно расширить возможности клинической медицины при наличии структуры последовательного внедрения результатов научных исследований. Важную роль в

процессе внедрения играют доклинические исследования на лабораторных животных [7].

Мелкие животные (мыши, крысы) используются для проведения тестов при исследовании потенциальных лекарственных средств на токсичность, пирогенность, при исследовании раздражающей способности биоинженерных и синтетических материалов. Это требует большого количества животных и специальных условий их содержания. Существующая в мире и внедряемая в России стандартизация условий содержания и использования животных позволяет не только сократить сроки проведения исследований, но и повысить точность и воспроизводимость регистрируемых результатов, уменьшить расход животных при проведении экспериментальной серии за счет снижения влияния различных факторов на здоровье животных. Это в свою очередь приводит к повышению эффективности экспериментальных исследований, более полному изучению особенностей влияния потенциальных лекарственных средств и биоматериалов на развитие побочных эффектов, ускоряет внедрение инновационных и импортозамещающих технологий в клиническую практику.

Исследования на более крупных моделях лабораторных животных являются следующим этапом экспериментальных и доклинических исследований. К таким животным относятся собаки, козы, овцы, мини-свиньи (мини-пиги). Мини-свиньи особенно предпочтительны при моделировании и исследовании большинства патологических процессов и состояний человека, проведения тестов безопасности потенциальных лекарственных средств и биоматериалов [7].

Важнейшим аспектом экспериментальных и доклинических исследований является наличие мультифункциональной операционной и блока интенсивной терапии для животных. Их оснащение должно обеспечивать выполнение любых оперативных, в том числе гибридных, вмешательств, обеспечивать мониторинг всех жизненных и экспериментальных параметров животных и выполнение неотложных диагностических процедур, таких как измерение давления, температуры, электрокардиография, ультразвуковые исследования, рентген [7, 8].

Клиническая часть трансляционной медицины представляет собой не менее интересный раздел науки, в котором также получены значительные успехи. Не претендуя на полноту охвата данного вопроса, хотели бы остановиться только на одном аспекте. Речь пойдет о микроРНК — классе некодирующих РНК из 19—24 нуклеотидов, которые негативно регулируют экспрессию генов-мишеней. Из этого следует, что микроРНК участвуют в регуляции многочисленных и самых разнообразных функций клеток и вовлечены в развитие многих заболеваний [9].

Действие микроРНК опосредовано их неполной гибридацией с 3'-нетранслируемой областью целевой матричной РНК (мРНК), имеющей комплементарные сайты. При взаимодействии микроРНК и целевой мРНК основную роль играют 2—7 нуклеотидов, локализованных на 5'-конце микроРНК, названных Lewis «зерном микроРНК» [10]. В отличие от других известных эпигенетических механизмов регуляции биологических процессов, таких как метилирование ДНК, гистоновая модификация, зависимое от АТФ ремоделирование хроматина и др., микроРНК контролируют экспрессию генов на посттранскрипционном

*Поступательный (англ.).

уровне [11]. Приблизительно половина кодирующих микроРНК-генов представлена независимыми транскрипционными единицами, в то время как другая половина локализуется в интронах генов, кодирующих белок. Некоторые гены микроРНК формируют кластеры, с которых происходит транскрипция более одной микроРНК (полицистронные микроРНК). Большинство микроРНК транскрибируется с помощью РНК-полимеразы II с последующим полиаденилированием первичного транскрипта, подобным таковому у мРНК (при-микроРНК) [12]. Длина при-микроРНК составляет несколько тысяч пар нуклеотидов (п.н.) На первом этапе процессинга РНК-нуклеаза (РНКазы III), названная Droscha, совместно с другими факторами рестрицирует при-микроРНК на более короткие фрагменты, длина которых составляет приблизительно 70 п.н. Полученные шпилькообразные фрагменты являются предшественниками микроРНК (пре-микроРНК). При помощи экспортина-5 шпилькообразная пре-микроРНК экспортируется в цитоплазму, где с участием РНКазы III, названной Dicer, происходит расщепление пре-микроРНК на короткие (18–24 п.н.) фрагменты. В результате образуются двуцепочечные РНК — дуплексы. В дальнейшем одна из цепей (ведущая) инкорпорируется в ферментативный комплекс RISC (RNA-Induced Silencing Complex), в то время как другая подвергается деградации. Каждая микроРНК контролирует несколько сотен генов, при этом один и тот же ген может являться мишенью для нескольких микроРНК. Такая мультифакторность воздействия значительно осложняет изучение механизма действия каждой микроРНК в отдельности и понимания взаимоотношений в сложных системах микроРНК-ген, микроРНК-мРНК [10, 12].

Сердце взрослого человека — это орган, способный к значительному ремоделированию под воздействием патологических факторов. Гемодинамический стресс или нейроэндокринные влияния как одни из основных факторов неблагоприятного воздействия вызывают патологический ответ сердца в виде ремоделирования за счет активации внутриклеточных сигнальных путей и медиаторов транскрипции в кардиомиоцитах. Активация подобных молекулярных механизмов может приводить к увеличению размеров кардиомиоцитов, изменению синтеза белков и реэкспрессии фетальных генов. С одной стороны, подобное ремоделирование миокарда в ответ на остро возникший или хронический стресс направлено на адаптацию сердца к патологическим условиям и может на определенное время поддерживать его адекватную работу, обеспечивая достаточное кровоснабжение организма. С другой стороны, продолжительность патологического воздействия или чрезмерная выраженность адаптивных процессов, не всегда скооперированных, неизбежно влечет за собой развитие сердечной недостаточности (СН). Каждый из процессов, запускаемых в клетке под воздействием патологических факторов, невозможен без участия микроРНК. Обнаружение специфичных для конкретных нозологий микроРНК и создание эффективных и безопасных методов влияния на них открывают новые горизонты в диагностике и лечении ССЗ [13].

Результаты многочисленных исследований, изучающих роль данных микроРНК, весьма противоречивы, а сравнение подобных исследований не всегда правомочно. В каждом конкретном случае необходимо учитывать

целый ряд факторов, влияющих на конечный результат исследования. Нельзя не принимать в расчет преаналитические вариации, связанные с различиями в сборе и подготовке образцов, их хранении, степени гемолиза и эффективности экстракции [14]. По-прежнему нет единого мнения о предпочтительном использовании плазмы или цельной крови в качестве биоматериала. Известно, что ряд авторов выполняли профилирование микроРНК как в цельной крови, так и плазме, однако в заключительном отчете не представили сравнение двух методов и не указали, какой тип образцов в большей степени подходит для обнаружения и количественного определения микроРНК [15]. Исследования могут различаться и методом обнаружения микроРНК. Наиболее часто используются полимеразная цепная реакция (ПЦР) и анализ микрочипов. Последний обладает преимуществами в обнаружении большого числа микроРНК одновременно. В то же время количественная ПЦР является «золотым стандартом» для определения микроРНК и проверки предварительных данных, полученных методом микрочипов. Ввиду низких концентраций некоторых микроРНК в плазме крови крайне важной представляется аккуратная нормализация полученных уровней микроРНК. При этом следует помнить, что даже небольшого количества микроРНК (нескольких молекул на клетку) достаточно для полного «выключения» целевого гена, что указывает на существование каскадного механизма катализа и/или амплификации [14, 16].

МикроРНК-21 — широко изученная микроРНК, представляющая интерес во многих сферах биологии медицины, таких как развитие организма, онкология, воспаление и ССЗ. Несмотря на неоднозначные выводы множества исследований, посвященных ее роли при СН, ишемической болезни сердца, гипертрофии миокарда и аритмиях, неизменным остается положение о ее способности регулировать активность фибробластов. Как известно, изменение тканевого баланса в миокарде в сторону увеличения доли компонентов внеклеточного матрикса характерно для ССЗ, вызванными любыми патологическими факторами — механическими, нейрогуморальными или цитокиновыми [17].

Важная роль в фиброзе, а также апоптозе отводится микроРНК-34. Дебаты относительно весомости отдельно взятого представителя этого семейства (микроРНК-34а) при СН продолжаются. Если опираться на данные литературы, создается впечатление о большей информативности при анализе уровней семейства в целом. Тем не менее важно убедительно очертить потенциал микроРНК-34а, так как в будущем идея лечения, ассоциированного с микроРНК, столкнется с трудностями, обусловленными многочисленностью мишеней микроРНК, и как следствие потенциальными побочными эффектами [18, 19]. Так как семейство микроРНК-34 регулирует на 31–55% больше генов-мишеней, чем отдельно взятая микроРНК-34а, вмешательства, модулирующие все семейство, заведомо сопряжены с большим числом неожиданных последствий. В этой связи терапевтическая состоятельность воздействия исключительно на одного представителя семейства позволит минимизировать нежелательные реакции [19, 20].

Известно также о четкой связи микроРНК-208 не только с тропонином плазмы при остром инфаркте мио-

карда (ОИМ), но и с фракцией выброса левого желудочка [20], а также связь микроРНК-208 и микроРНК-499 с риском смерти, в том числе от СН, после перенесенного ИМ [21] послужили основанием рассматривать повреждение миокарда как составляющую СН, прежде всего ее тяжелых стадий. По-видимому, потенциал дальнейшего изучения этих микроРНК сосредоточен в рамках острого повреждения миокарда, когда сразу после гибели кардиомиоцитов происходит их выход в общий кровоток в значительных концентрациях. Это определяет их перспективность в качестве маркеров ОИМ [22].

До момента установления точных взаимосвязей генов и микроРНК их применение в диагностических целях будет ограничено. Большие надежды связаны с созданием новых методов лечения на основе микроРНК. Однако,

прежде чем эти перспективные методы лечения могут быть успешно и безопасно применяться у пациентов, необходимо преодолеть ряд существующих ограничений.

Современная медицина, как и современное общество, сталкивается с многочисленными вызовами. Для их решения нам необходимо создание эффективных диагностических и лечебных алгоритмов, позволяющих разработать персонализированные, прогностические, превентивные и партнерские подходы к разрешению этих глобальных сложностей. И в этой связи схема, созданная в РКНПК еще более 20 лет назад, — единая площадка для клинических, экспериментальных и производственных мощностей может служить основой для подобных решений.

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. 70 лет — ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Министерства здравоохранения Российской Федерации. М.: КомплектСервис; 2015.
2. Burke JD, Pincus HA, Pardes H. The clinician-researcher in psychiatry. *Am J Psychiatry*. 1986;143(8):968-975. doi:10.1176/ajp.143.8.968
3. Ипатова О.М., Медведева Н.В., Арчаков А.И., Григорьев А.И. Трансляционная медицина — путь от фундаментальной биомедицинской науки в здравоохранение. *Вестник РАМН*. 2012;6:57-65.
4. Пальцев М.А., Белушкина Н.Н. Трансляционная медицина — новый этап развития молекулярной медицины. *Молекулярная медицина*. 2012;4:3-9.
5. Feldman A. Does Academic Culture Support Translational Research? *Clin Translat Sci*. 2008;1(2):87-88. doi:10.1111/j.1752-8062.2008.00046.x
6. Sarkar I. Biomedical informatics and translational medicine. *J Translational Med*. 2010;8(1):22. doi:10.1186/1479-5876-8-22
7. Feldman A, Koch W, Force T. Developing Strategies to Link Basic Cardiovascular Sciences with Clinical Drug Development: Another Opportunity for Translational Sciences. *Clin Pharmacol Ther*. 2007;81(6):887-892. doi:10.1038/sj.cpt.6100160
8. Birmingham K. What is translational research? *Nature Med*. 2002;8(7):647-650. doi:10.1038/nm0702-647
9. Lewis B, Burge C, Bartel D. Conserved Seed Pairing, Often Flanked by Adenosines, Indicates that Thousands of Human Genes are MicroRNA Targets. *Cell*. 2005;120(1):15-20. doi:10.1016/j.cell.2004.12.035
10. Iaconetti C, Gareri C, Polimeni A, Indolfi C. Non-Coding RNAs: The «Dark Matter» of Cardiovascular Pathophysiology. *IJMS*. 2013;14(10):19987-20018. doi:10.3390/ijms141019987
11. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang C. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008;18(10):997-1006. doi:10.1038/cr.2008.282
12. Weber J, Baxter D, Zhang S, Huang D, How Huang K, Jen Lee M, Galas D, Wang K. The MicroRNA Spectrum in 12 Body Fluids. *Clin Chem*. 2010;56(11):1733-1741. doi:10.1373/clinchem.2010.147405
13. Кочетов А.Г., Жиров И.В., Масенко В.П., Гимадиев Р.Р., Лянг О.В., Терешенко С.Н. Перспективы применения микроРНК в диагностике и терапии сердечной недостаточности. *Кардиологический вестник*. 2014;2:62-67.
14. Кочетов А.Г., Лянг О.В., Гимадиев Р.Р., Жиров И.В., Скворцов А.А., Засеева А.В., Босых Е.Г., Масенко В.П., Терешенко С.Н. Экспрессия циркулирующих микроРНК при развитии хронической сердечной недостаточности у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. *Лабораторная служба*. 2016;1:26-32. doi:10.17116/labs20165126-32
15. Roy S, Khanna S, Hussain S, Biswas S, Azad A, Rink C, Gnyawali S, Shilo S, Nuovo G, Sen C. MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction: miR-21 regulates fibroblast metalloprotease-2 via phosphatase and tensin homologue. *Cardiovasc Res*. 2009;82(1):21-29. doi:10.1093/cvr/cvp015
16. Tijssen A, Creemers E, Moerland P, de Windt L, van der Wal A, Kok W, Pinto Y. MiR423-5p As a Circulating Biomarker for Heart Failure. *Circulation Res*. 2010;106(6):1035-1039. doi:10.1161/circresaha.110.218297
17. Matkovich S, Van Booven D, Youker K, Torre-Amione G, Diwan A, Eschenbacher W, Dorn L, Watson M, Margulies K, Dorn G. Reciprocal Regulation of Myocardial microRNAs and Messenger RNA in Human Cardiomyopathy and Reversal of the microRNA Signature by Biomechanical Support. *Circulation*. 2009;119(9):1263-1271. doi:10.1161/circulationaha.108.813576
18. Bernardo B, Gao X, Winbanks C, Boey E, Tham Y, Kiriazis H, Gregorevic P, Obad S, Kauppinen S, Du X, Lin R McMullen J. Therapeutic inhibition of the miR-34 family attenuates pathological cardiac remodeling and improves heart function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(43):17615-17620.

- doi:10.1073/pnas.1206432109
19. Huang Y, Qi Y, Du J, Zhang D. MicroRNA-34a regulates cardiac fibrosis after myocardial infarction by targeting Smad4. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2014;1-11.
doi:10.1517/14728222.2014.961424
20. Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a Biomarker of Myocardial Injury. *Clin Chem*. 2009;55(11):1944-1949.
doi:10.1373/clinchem.2009.125310
21. Gidlöf O, Andersson P, van der Pals J, Götberg M, Erlinge D. Cardiospecific microRNA Plasma Levels Correlate with Troponin and Cardiac Function in Patients with ST Elevation Myocardial Infarction, Are Selectively Dependent on Renal Elimination, and Can Be Detected in Urine Samples. *Cardiology*. 2011;118(4):217-226.
doi:10.1159/000328869
22. Gidlöf O, Smith J, Miyazu K, Gilje P, Spencer A, Blomquist S, Erlinge D. Circulating cardio-enriched microRNAs are associated with long-term prognosis following myocardial infarction. *BMC Cardiovasc Disord*. 2013;13(1):12.
doi:10.1186/1471-2261-13-12

Поступила 30.03.2016