

МИКРОРНК КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ

Шустов Евгений Борисович

*Главный научный сотрудник Института
токсикологии ФМБА России*

доктор медицинских наук профессор

*Лауреат Государственной премии РФ в
области науки и техники*

Исторические заметки

- **1993 г.** – впервые обнаружены короткие двухцепочечные РНК в организме нематоды
- **1998 г.** – впервые описан эффект РНК-интерференции, ведущий к «умолчанию» работы гена
- **2001 г.** – впервые открыта одноцепочечная микроРНК (Logas-Quintane M., Rauhut R., Zenderkel W., Tush T.)

Исторические заметки

- **2006 г.** – за открытие эффекта РНК – интерференции присуждена Нобелевская премия (Эндрю Файр и Крейг Меллоу)
- **С 2008 г.** – бум исследований биологической роли микроРНК в онкологии, кардиологии, инфектологии, гастроэнтерологии

Малые некодирующие РНК

- Малые интерферирующие РНК (миРНК, siRNA, siR) – двухцепочечные спиральные РНК длиной 22 или 28-30 нуклеотидов
- **микроРНК (мкРНК, miRs)** – одноцепочечные нити РНК длиной 20-22 нуклеотида

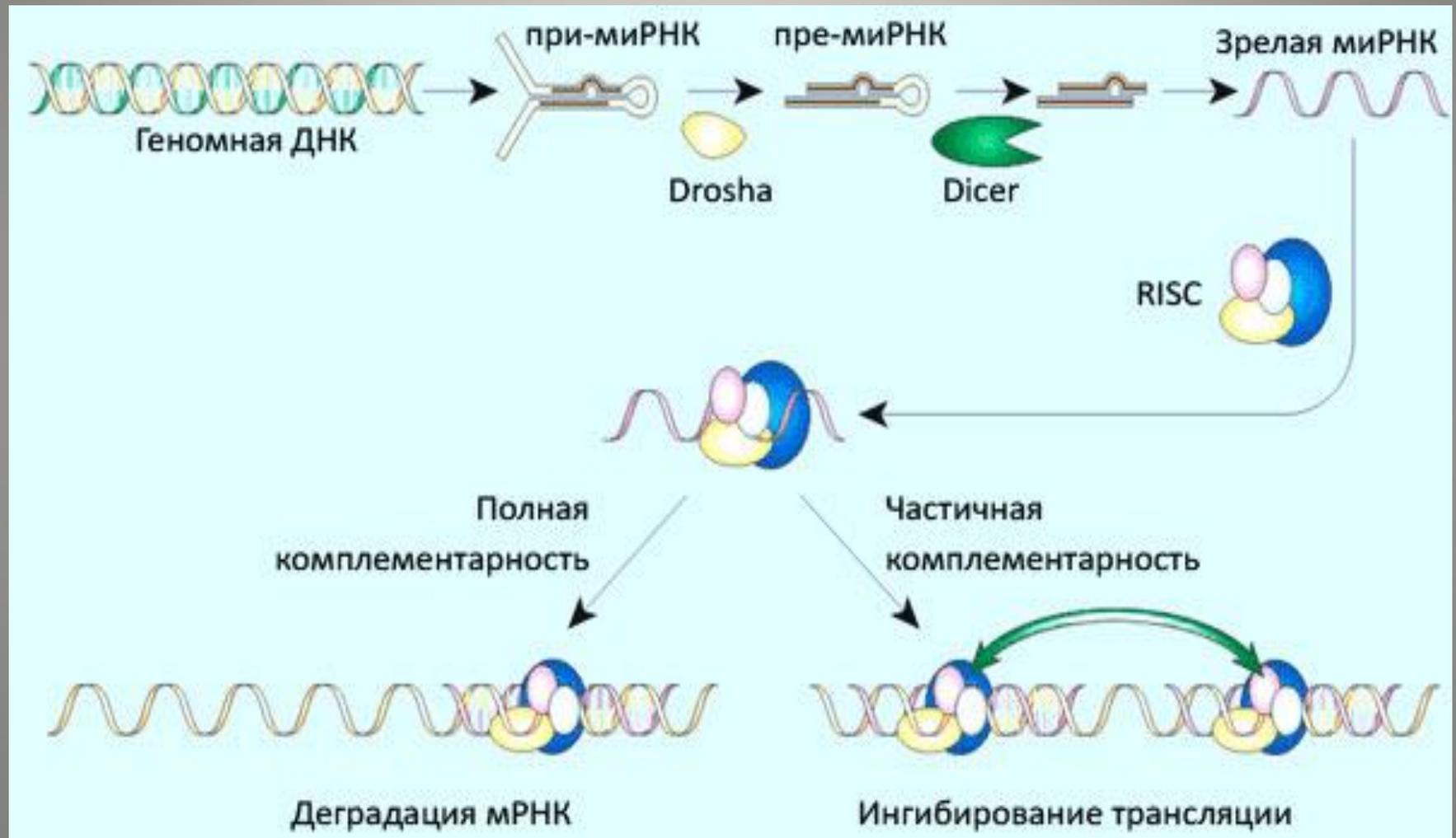
Двухцепочечные микроРНК

- Для клетки – появление в цитоплазме длинных двухцепочечных РНК – **сигнал опасности** (могут появляться в результате вирусной инфекции, под влиянием трансгенных векторов, как продукт аномальной транскрипции генов)
- Задача – включить механизмы разрушения чужеродной или аномальной РНК, не допустить ее включения в геном клетки

МикроРНК всегда эндогенны

- Гены miR локализуются в межгенном пространстве кодирующих цепей в виде одиночных генов или их кластеров.
- Гены miR коэкспрессируются с их мРНК-мишенями, экспрессия вызывается теми же протеинами, cis-регуляторами, ядерными факторами K и т.д.
- В геноме человека может быть более 20000 генов miR, что составляет более 3% емкости генома, а сами miR могут контролировать около 30% всех генов человека.

Внутриядерные процессы



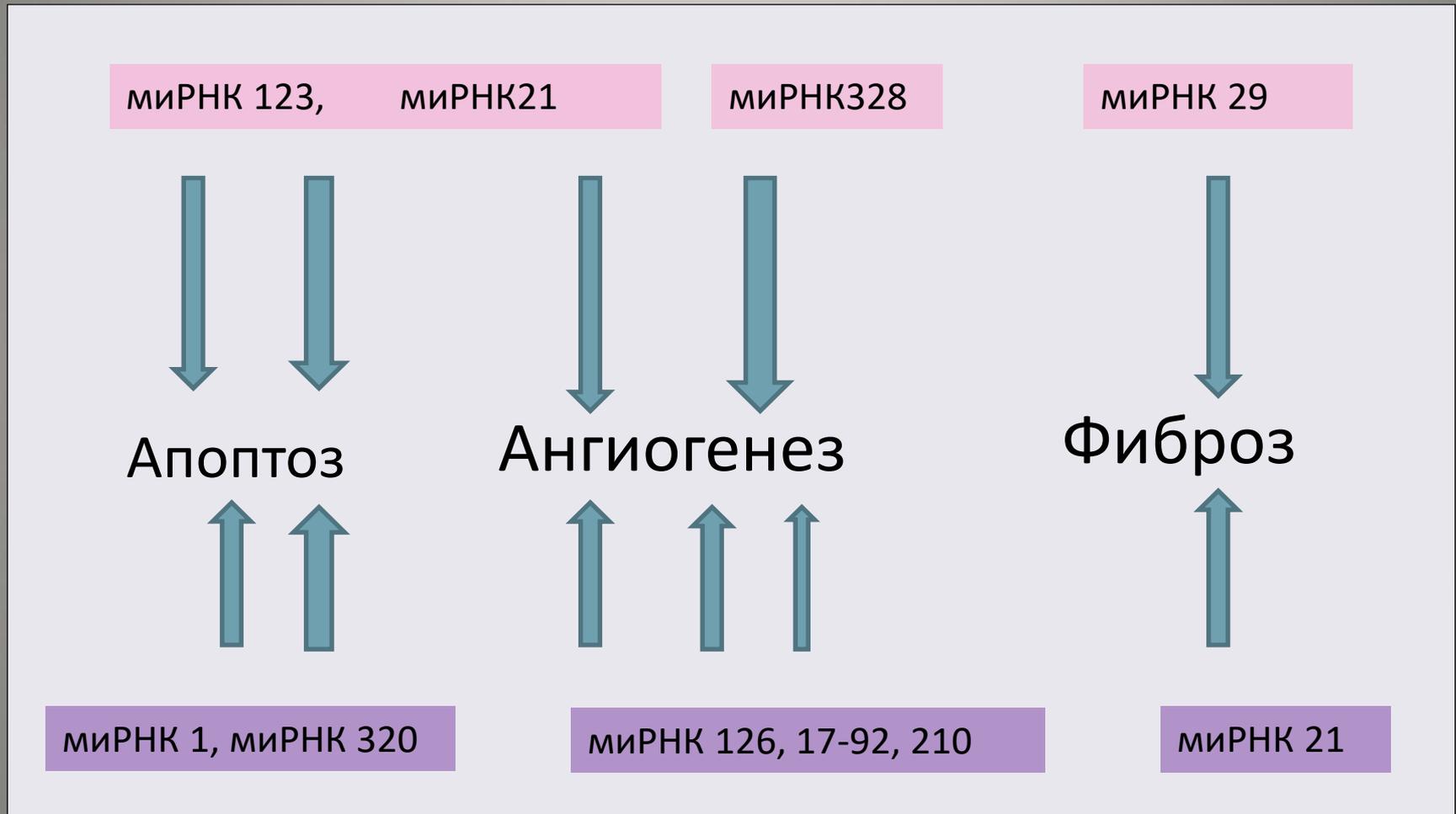
МикроРНК способны

- Связываться с полимеразами НК (как ДНК-зависимыми, так и РНК-зависимыми), останавливая процессы транскрипции
- Вызывать деградацию мРНК на посттранскрипционном уровне
- Вызывать угнетение синтеза продуктов гиперэкспрессированных генов (например, онкогенов), в том числе – регуляторов экспрессии генов (регуляторов транскрипции)
- Быть специфическими маркерами активности патологических процессов

микроРНК экспрессируются тканеспецифично

- кардиомиоциты (миРНК-1, миРНК-133, миРНК-126–3р, миРНК-30с и миРНК-26а),
- гладкие мышцы артерий (миРНК-145, миРНК-125b, миРНК-125а, миРНК-23, миРНК-143, миРНК-133).

миРНК при ИБС



Основные биологические свойства микроРНК

- контроль и регуляция развития организма (начиная с эмбриогенеза), процесса дифференциации и роста клеток, процессов образования тканей и отдельных органов;
- контроль самоидентификации и дифференциации стволовых клеток;
- регуляция процессов пролиферации и апоптоза, иммуногенеза, ангиогенеза, фиброза;
- участвуют в сигнальных системах клетки, в регуляции нервной и эндокринной систем;

Основные биологические свойства микроРНК

- регуляция метаболизма низкомолекулярных соединений (аминокислот, липидов, глюкозы, фосфатов);
- регуляция клеточного осмотического давления;
- процессы взаимодействия белок-белок у человека;
- изменения профиля miR выявлены при различных патологических процессах, включая стресс, воспаление, онкогенез.

Направленный синтез

- микроРНК могут быть синтезированы по любой маркерной последовательности нуклеотидов (как антисмысловые, комплементарные маркерным нуклеотидам)
- Возможен синтез со структурными аналогами нуклеотидов, что обеспечивает защиту от быстрой инактивации РНКазами крови, тканей, цитозоля и ядра клеток

Перспективы применения в медицине и фармакологии

- Средства генной терапии при высоком риске наследуемых заболеваний
- Онкопрофилактика при гиперэкспрессии онкогенов
- Снижение множественной лекарственной устойчивости (например, при терапии цитостатиками)
- Устранение индуцированных процессов апоптоза при различных патологических процессах

Противоопухолевые микроРНК, находящиеся на различных стадиях доклинического изучения

Опухоль	Ген-мишень, в отношении которого создана микроРНК
Карцинома молочных желез	c-myc, FAK, CXCR4
Карцинома поджелудочной железы	H-ras, RRR2, Bcl-2
Карцинома предстательной железы	VEGFR2 (KDR), FAK
Карцинома толстого кишечника	VEGFR2 (KDR)
Карцинома яичников	H-ras
Лимфома	c-myc
Лимфосаркома	MDR1
Рак легких	H-ras

микроРНК в трансплантологии

Центр Алмазова, Институт
экспериментальной медицины (М.М.
Галагуза)

МикроРНК-223-5p при добавлении в
кардиоплегический раствор обеспечивает
значимое улучшение реваскуляризации и
сократительной способности миокарда,
уменьшение его повреждение, блокирует
механизмы некроптоза донорского сердца в
процессе хранения и транспортировки

Перспективы в фармакологии

- Контроль фиброза при циррозе печени
- Усиление регенерации тканей после оперативного иссечения
- Усиление кроветворения и регенерации тканей после применения цитостатиков
- Контроль состояния миокарда при гипертрофиях, дистрофиях, атеросклерозе, постишемическом и постинфарктном кардиосклерозе

Проблемы и пути решения

- Быстрое разрушение в крови, тканях, клетке – создание стабильных синтетических аналогов, не чувствительных к РНКазам
- Транспорт в клетки-мишени (вирусные векторы, плазмидные конструкции, холестеринные комплексы, липосомы)
- Тканевая избирательность (наноструктуры с тканеспецифическими антителами, магнитоуправляемые наноструктуры, тканеспецифические липосомы)

Несмотря на то, что ни один из потенциальных препаратов на основе мкРОНК еще не вышел со стадии клинических испытаний, специалисты считают, что объем рынка этих препаратов в первые 5 лет их реализации составит

не менее

\$ 10¹⁰

Токсикологические исследования

- МикроРНК могут быть маркерами, позволяющими количественно оценить интенсивность и динамику протекания типовых патологических процессов в отдельных тканях при воздействии токсикантов на разных стадиях поражения организма
- Цепочка активации и угнетения образования микроРНК позволяет определить последовательность развития поражений органов при развитии интоксикации

Таким образом, класс недавно открытых биологических структур – микроРНК может стать перспективным объектом фармакологических воздействий как генный регулятор (преимущественно «выключатель») многих тканевых патологических процессов, а в токсикологических исследованиях – маркером специфики протекания и механизмов развития тканевых реакций на воздействие токсиканта.

Благодарю за внимание!