

Interconnect Materials using dual Beam //XVIII российский симпозиум по растровой электронной микроскопии и аналитическим методам исследования твердых тел. Черногоровка; 2013. С. 2–4.

34. Middleton E. Antiasthmatic drug therapy and calcium ions. Review of pathogenesis and role of calcium // J. Pharm Sci. 1980. Vol. 69. P. 243–251.

35. Morey-Holten E.R., Globus R.K. The hindlimb unloading rodent model: technical aspects. //J Appl Physiol. 2002, 92: 1367–1377.

36. Morey-Holton E. The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data / Morey-Holton E., R.K. Globus, A. Kaplansky and et all. //Advances in Space Biology and Medicine. 2005. 10: 7- 40.

37. Michael R. Duchon mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death // The Journal of Physiology. Volume 529. Issue 1: 57- 68.

38. Orrenius S. Calcium and mitochondria in the regulation of cell death/ Orrenius S., Gogvadze V., Zhivotovsky B. // Biochem Biophys Res Commun. 2015. 24, 460(1):72-81.

39. Refaai M.A., Blumberg N. The transfusion dilemma-Weighing the known and newly proposed risks of blood transfusions against the uncertain benefits. //Best Pract Res Clin Anaesthesiol. 2013, 27: 17-35.

40. Szabadkai G. Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial Ca²⁺ channels. / Szabadkai G., Bianchi K., Várnai P., et al. //J Cell Biol. 2006. 175:901-11.

41. Yuanyuan Li and Trygve O. Tollefsbol DNA methylation detection: Bi-sulfite genomic sequencing analysis Methods Mol Biol. 2011, 791: 11–21.

42. Zangi R., Filella M. Transport routes of metalloids into and out of the cell: A review of the current knowledge // Hemo-Biological Interactions. 2012. V. 197: P. 47–57.

Статья поступила в редакцию 01.03.2017

Координаты для связи

Зиновьев Сергей Викторович, ст. н. с. ЦНИЛ ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: sinowev@mail.ru

Целуйко Сергей Семёнович, д. м. н., профессор, проректор по НР ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России, заведующий кафедрой гистологии и биологии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Селиверстов Сергей Сергеевич, к. м. н., заведующий кафедрой анатомии и оперативной хирургии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Горбунов Михаил Михайлович, ст. н. с. ЦНИЛ ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Почтовый адрес ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России: 675000 Амурская область, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.

УДК 577.2:616-082:616-035.1

**П.Е. Бородин, Е.А. Бородин,
В.В. Войцеховский**

ФГБОУ ВО Амурская ГМА
Минздрава России
г. Благовещенск

ДИСКУССИИ

ОТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ К МОЛЕКУЛЯРНОЙ И ПЕРСониФИЦИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ – МЕДИЦИНЕ XXI ВЕКА

В апреле 1953 года в журнале Nature была опубликована статья Джеймса Уотсона и Фрэнсиса Крика «Молекулярная структура нуклеиновых кислот, строение дезоксирибонуклеиновой кислоты» [6]. Именно с этой публикацией связывают возникновение новой биологической науки – молекулярной биологии – науки о молекулярных основах жизни, т.е. механизмах хранения, воспроизведения, передачи и реализации генетической информации, структуре и функциях молекул биополимеров – нуклеиновых кислот и белков [10].

В статье предлагалась трехмерная пространственная модель молекулы ДНК в виде двойной спирали. Из модели вытекал принцип матричных синтезов, т.е. синтезов, при которых информация о структуре синтезируемой молекулы закодирована в строении молекулы-матрицы. На матрице молекулы ДНК синтезируется молекула иРНК, которая, в свою очередь, является матрицей для синтезируемой на рибосомах полипептидной цепи белка. Благодаря этому открытию и предложенному на его основе направлению считывания генетической информации ДНК–РНК–белок, получившему название центральной догмы молекулярной биологии, последняя получила всеобщее признание (рис. 1). Молекулярная биология использует собственные методы исследования – геной инженерии, клонирования клеток и организмов, искусственной экспрессии и нокаута генов. В XX веке молекулярная биология добилась потрясающих результатов, объяснив молекулярные основы важнейших проявлений жизнедеятельности – хранения и передачи генетической информации, иммунитета, клеточного дыхания, апоптоза и другое, а также молекулярные механизмы происхождения важнейших болезней человека.

Термин «молекулярная болезнь» впервые использовал в 1949 г. Лайнус Поллинг применительно к серповидно-клеточной анемии – заболеванию, обусловленному точечной мутацией, сопровождающейся заменой отрицательно заряженной глутаминовой кислоты в 6 положении β-цепи гемоглобина на гидрофобную аминокислоту валин, и приводящей к резкому уменьше-

нию растворимости гемоглобина, выпадению его в осадок, изменению формы эритроцитов и ограничению способности клеток переносить кислород [14].

Отправной точкой для возникновения новейших направлений медицины, например, генной терапии, терапевтического клонирования, позволяющего получать генно-инженерными методами стволовые клетки и использовать их в качестве лекарств, явилась реализация международного научного проекта «Геном человека» (1989–2002). Проект был направлен на полное секвенирование ДНК Homo sapiens, т.е. установление последовательности из $3,2 \cdot 10^9$ пар нуклеотидов в молекуле ДНК. Проект был задуман в середине 80-х годов XX века и начал осуществляться с 1990 г. Первоначально ученые полагали, что реализация проекта займет целый век, затем, благодаря небывалому методическому прогрессу, завершение проекта было запланировано к 2005 г., но фактически основные цели были достигнуты уже к середине 2001 г., и организаторы проекта сообщили о его более чем успешном осуществлении. Реализация проекта предоставила детальную информацию о структуре, организации и функционировании ДНК человека, способствовала разработке новых эффективных технологий в области молекулярной биологии, созданию открытых для свободного доступа международных электронных банков данных генов и белков, привела к возникновению триады новых биологических наук – геномики, протеомики и биоинформатики (рис. 2), имела колоссальное значение для биологии, медицины и международного сообщества в целом и каждого человека в отдельности, открыла

новые перспективы в понимании причин происхождения многих болезней и разработке новых способов их лечения [1].

Сегодня за рубежом термин «молекулярная медицина» переходит из сферы науки в сферу практического здравоохранения. Медицина ближайшего будущего это персонифицированная медицина, отталкивающаяся от особенностей генома конкретного индивидуума, предрасполагающего к возникновению у него той или иной болезни [9] (рис. 4). Причину возникновения болезни ученые стали видеть в характерных нарушениях генома и протеома (совокупности всех белков клетки и организма в целом), проявляющихся в нарушении структуры того или иного гена и появлении белков с измененными свойствами, получивших название «биологических маркеров» заболевания. Для предупреждения болезни или своевременного лечения необходимо как можно раньше выявить лежащие в ее основе дефекты в геноме и протеоме (биологические маркеры болезни) с помощью молекулярной диагностики, представляющей результат привнесения в клиническую лабораторную диагностику методов ПЦР и макромолекулярного блоттинга. Анализ биологических маркеров методами молекулярной биологии позволит оценивать риск развития болезни, осуществлять мониторинг ее течения, делать выводы в отношении прогноза, а также подбирать лекарственные препараты на основе чувствительности или нечувствительности к ним затронутого гена или белка. Эти гены и белки являются мишенями (targets) для принципиально новых лекарственных препаратов, создаваемых с помощью одного из направлений биоинформатики – компьютерного дизай-

РЕЗЮМЕ

Зарождение во второй половине XX века молекулярной биологии сопровождалось появлением понятий «молекулярная болезнь» и «молекулярная медицина». Благодаря достижениям молекулярной биологии в конце XX столетия был реализован международный научный проект «Геном человека», явившийся отправной точкой для возникновения новейших направлений медицины – генной терапии, терапевтического клонирования, позволяющего получать генно-инженерными методами стволовые клетки и использовать их в качестве лекарств, таргетной терапии. Возможность секвенирования индивидуальных геномов позволила реализовать индивидуальный подход к лечению и профилактике заболеваний человека и явилась фундаментальной основой персонифицированной медицины, учитывающей особенности геномов отдельных людей, определяющих склонность человека к развитию у него той или иной болезни.

Ключевые слова: молекулярная биология, персонифицированная терапия.

DOI 10.22448/amj.2017.17.68-73

FROM MOLECULAR BIOLOGY TO MOLECULAR AND PERSONALIZED MEDICINE, XXI CENTURY MEDICINE

P.E. Borodin, E.A. Borodin, V.V. Voytsekhovskiy
Abstract

The emergence of molecular biology in the second half of the XX century led to the concepts of “molecular disease” and “molecular medicine”. Due to advances in molecular biology at the end of the last century the international research project “Human Genome” has been successfully realized. The project was the starting point for the emergence of new areas of medicine - gene therapy, target therapy, therapeutic cloning, which allows to obtain stem cells by genetic engineering methods and use them as drugs. The possibility of sequencing individual genomes has made a personal approach to the treatment and prevention of human diseases, and was the fundamental basis of personalized medicine, which takes into account the particularities of individual genomes determining the development of this or that disease in the individual.

Key words: molecular biology, personalized therapy

ДНК → РНК → Белок → Биологический признак

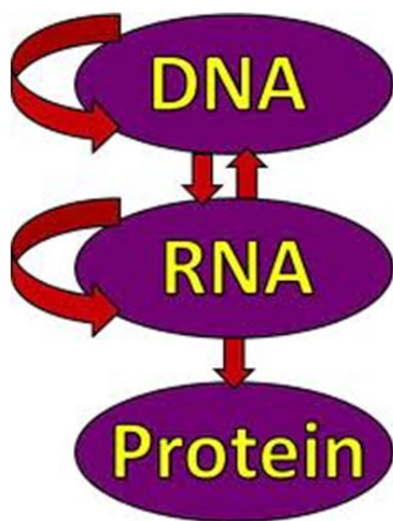


Рисунок 1. Центральная догма молекулярной биологии

на лекарств, существенно сокращающего сроки первой стадии разработки лекарства и его стоимость (рис. 3). Ничего не нужно синтезировать. Все, что необходимо, уже есть в электронных базах данных, включающих более 6 миллионов низкомолекулярных соединений. Следует идентифицировать мишень (ген, белковая молекула) и оценить способность нужного соединения из базы данных взаимодействовать с рецептором. Затем высокоэффективный скрининг, используемый во всем мире в фармакологических целях и позволяющий одновременно анализировать несколько тысяч различных соединений в параллельном режиме. Найденные таким образом базовые структуры уже на следующей стадии путем их химической модификации превращаются в конечное лекарство.

Компьютерный дизайн лекарств использует методы вычислительной химии для создания, повышения эффективности и исследования механизма действия лекарственных препаратов. Главная цель – предсказать будет ли данная молекула связываться с молекулой-мишенью и если да, то насколько прочным будет связывание. Существуют две разновидности компьютерного дизайна лекарств – структурный дизайн и дизайн, основанный на свойствах лиганда [2]. При первом отбор кандидатов на роль нового лекарства основан на способности узнавать известную трехмерную структуру белка-рецептора (мишени лекарства), устанавливаемую экспериментально методами Rg-структурного анализа, ЯМР-спектроскопии, электронной криомикроскопии. При втором осуществляется поиск кандидатов, максимально соответствующих характеристикам «фармакофора» – набора характеристик соединения (трехмерная структура, особенности электронного строения и др.),

которыми должен обладать кандидат на роль лекарства для оптимального узнавания лекарства рецептором и проявления биологических эффектов.

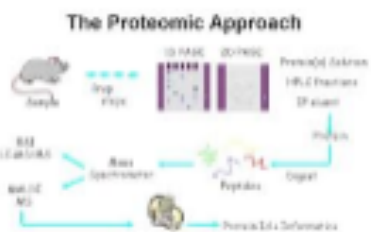
Компьютерный дизайн может быть использован на любом из этапов создания лекарственного препарата: идентификация мишени для лекарства с использованием виртуального скрининга (structure- or ligand-based design), оптимизация сродства и селективности лиганда к мишени (hit-to-lead optimization), оптимизация других фармацевтических свойств препарата с сохранением высокого сродства. Подобный подход лежит в основе таргетной терапии – нового направления в лечении злокачественных опухолей.

Первым лекарственным препаратом, созданным с помощью компьютерного дизайна, стал ингибитор карбоангидразы дорзоламид, зарегистрированный в 1995 году. Другим ярким примером эффективности использования компьютерного дизайна явилось создание фирмой Novartis (Швейцария) препарата иматиниб (гливек) – ингибитора тирозинкиназы нового поколения. Препарат зарекомендовал себя как эффективное средство в лечении миелолейкоза и ряда опухолей (7). Отличием препарата от его предшественников является способность дифференцированно воздействовать на злокачественно трансформированные клетки и не оказывать влияния на нормальные быстро делящиеся клетки.

На кафедре химии ФГБОУ ВО Амурской ГМА методы биоинформатики были использованы для разработки нового препарата – ингибитора сериновых протеаз на основе соевого ингибитора трипсина [7, 8, 12]. Использование методов *in silico* позволило выявить известную близость

НОВЫЕ ВЕТВИ БИОЛОГИИ (триада)

• Протеомика



• Геномика

• Биоинформатика



Рисунок 2. Новые ветви биологии

первичных структур соевого и панкреатического ингибиторов трипсина (апротинин, действующее начало фармацевтического препарата гордокс, контрикал) и предсказать способность растительного ингибитора оказывать влияние на процессы гемостаза [8, 12], что нашло экспериментальное подтверждение в опытах *in vitro* [7]. В настоящее время на кафедре методы биоинформатики используются для сравнительной характеристики растительных и животных ингибиторов протеаз [11], а также характеристик и TRP-рецепторов [3].

Будущая персонифицированная медицина будет основана на выявлении особенностей геномов у отдельных людей, определяющих склонность человека к развитию у него той или иной болезни. Созданы методы секвенирования нового поколения (СНП), позволяющие быстро и относительно дешево расшифровать геном конкретного индивидуума. Сегодня стоимость секвенирования индивидуального генома составляет около \$1000. Для широкого внедрения метода в практическую медицину стоимость секвенирования необходимо довести до \$100.

Принципы технологий СНП базируются на секвенировании ДНК-чипов с использованием циклических ферментативных реакций. На первом этапе секвенирования создаются библиотеки случайных последовательностей ДНК, которые можно будет «сшить» с общедоступными адаптерными последовательностями. На втором этапе методом ПЦР создаются ампликоны, которые будут использованы как образцы. На третьем этапе определяются первичные структуры всех фрагментов.

Возможность секвенирования индивидуальных геномов вносит индивидуальный подход к

лечению и профилактике заболеваний человека и является фундаментальной основой персонифицированной медицины, сближая две исторически сложившиеся философско-методологические концепции медицины. В основе первой, возникшей в глубокой древности, лежит холистический взгляд на природу человека – организм человека это единое целое. Лечить нужно не болезнь, а больного. Первым эту мысль высказал знаменитый греческий врач Гиппократ [5]. Холистический взгляд на природу организма человека и болезнь разделяли корифеи отечественной медицины М.Я. Мудров, Н.И. Пирогов и другие. М.Я. Мудров обращался к студентам со словами: «Вам же, друзья мои, еще чаще и громче буду всегда повторять одно и то же, что не должно лечить болезнь по одному только её имени, не должно лечить и самой болезни, для которой часто и названия не находим, не должно лечить и причин болезни, которые часто ни нам, ни больным, ни окружающим не известны, ибо давно уже удалились от больного и не могут быть устранены, должно лечить самого больного, его состав, его органы, его силы. Вот тайна моего лечения, которую приношу вам в дар» [4]. Холистический подход лежит в основе традиционной китайской медицины. Китайский врач думает, как восстановить здоровье человека в целом, а не только как вылечить болезнь или пораженные болезнью органы [13].

Вторая концепция, появившаяся в Европе в XIX веке и доминирующая в западной медицине сегодня, справедливо обращая внимание на идеалистичность первой, требует найти материальный субстрат болезни и иронизирует над медициной стран Востока. Яркий представитель этой концепции Рудольф Вирхов – основоположник

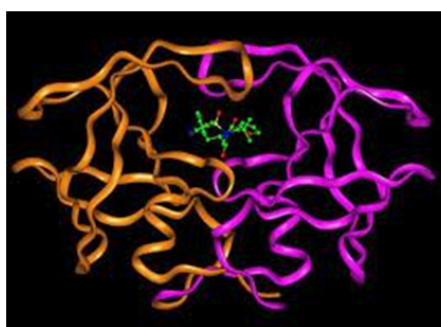
Разновидности компьютерного дизайна лекарств

• Структурный дизайн (Structure or target-based design)

Отбор кандидатов на роль нового лекарства по их способности узнавать известную

3D-структуру белка-рецептора (мишени лекарства).

3D-структура рецептора экспериментально устанавливается методами Rg-структурного анализа, ЯМР-спектроскопии и др.



• Дизайн, основанный на свойствах лиганда (Ligand-based design)

Поиск субстанций, максимально соответствующих характеристикам **фармакофора** - набора характеристик соединения (3D-структура, особенности электронного строения), которыми должен обладать кандидат на роль лекарства, которые обеспечат оптимальное узнавание лекарства рецептором и проявление биологических эффектов.

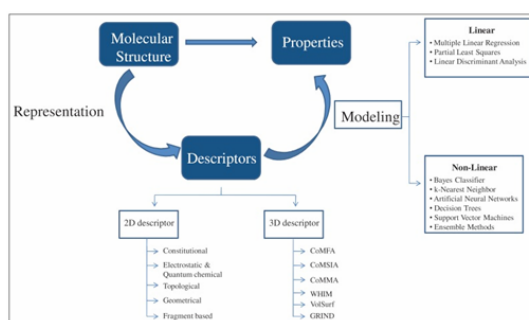


Рисунок 3. Компьютерный дизайн лекарств

целлюлярной (клеточной) патологии, в которой болезненные процессы сводятся к изменениям в жизнедеятельности элементарных мельчайших частей животного организма – клеток [15]. Вирхов считал анахронизмом поднимать вопрос об общей болезни всего организма и отказывался от принципа лечения больного, а не болезни, говоря «считать болезнь страданием всего организма и призывать лечить здоровые органы и системы – абсурд!». Традиционную восточную медицину сегодня на Западе считают псевдонаукой. Развитие естественных наук привело в XIX–XX веках к бурному прогрессу в области биологии, опирающемуся на достижения естественных фундаментальных наук, и неузнаваемо изменило медицину. Причина болезни сегодня видится даже не повреждении клеток, а в молекулярных дефектах, возникающих в результате нарушения генетического аппарата клетки, а задача медицины видится в подборе таких лекарственных средств, которые устранят имеющийся молекулярный дефект. Фактически предлагается лечить даже не болезнь, а дефекты молекул [1, 14]. На первый взгляд западная методология полностью доминирует в современной медицине, и холистический взгляд на природу человека и болезни навечно предан забвению. Однако, как ни парадоксально это звучит, именно новейшие достижения молекулярной биологии, расшифровка генома человека и возможность

быстрого прочтения индивидуальных геномов могут объединить две, казалось бы, непримиримые философские концепции медицины. Да, болезнь имеет материальный субстрат. В основе происхождения заболеваний лежат весьма конкретные изменения клеток и макромолекул, но именно уникальные особенности каждого человека определяют возможность возникновения у него того или иного заболевания, а также эффективность того или иного лекарства.

Литература

1. Арчаков А.И. Биоинформатика, геномика и протеомика – науки о жизни XXI столетия // Вопросы медицинской биохимии. 2000. Т. 47. С. 2–9.
2. Бородин П.Е., Бородин Е.А. Биоинформатика и компьютерный дизайн лекарств. //Системный анализ в медицине. ДНЦ ФПД СО РАМН (Благовещенск). 2013. С. 11–13.
3. Бородин Е.А., Бородин П.Е. TRP-рецепторы. Биоинформатическая характеристика. //Системный анализ в медицине. ДНЦ ФПД СО РАМН (Благовещенск). 2016.
4. Биография М. Я. Мудрова // Избранные произведения; под ред. и вступительной ст. А. Г. Гукасян. М.: Изд-во Акад. мед. наук СССР, 1949. 294 с.
5. Гиппократ. Сочинения. / Пер. В.И.Руднева, комм. В.П.Карпова. Кн. 2. М.: Медгиз. 1944. 512 с.
6. Ландышев Ю.С., Есенин В.В., Войцеховский В.В. и др. Клинико-эпидемиологические особенности гемобластозов в Амурской области // Дальневосточный медицинский журнал. 1997. №3. С. 31–35.
7. Памирский И.Э., Штарберг М.А., Белоглазова И.Г., Бородин Е.А. Влияние трипсина и ингибитора трипсина соевых бобов на свертыва-

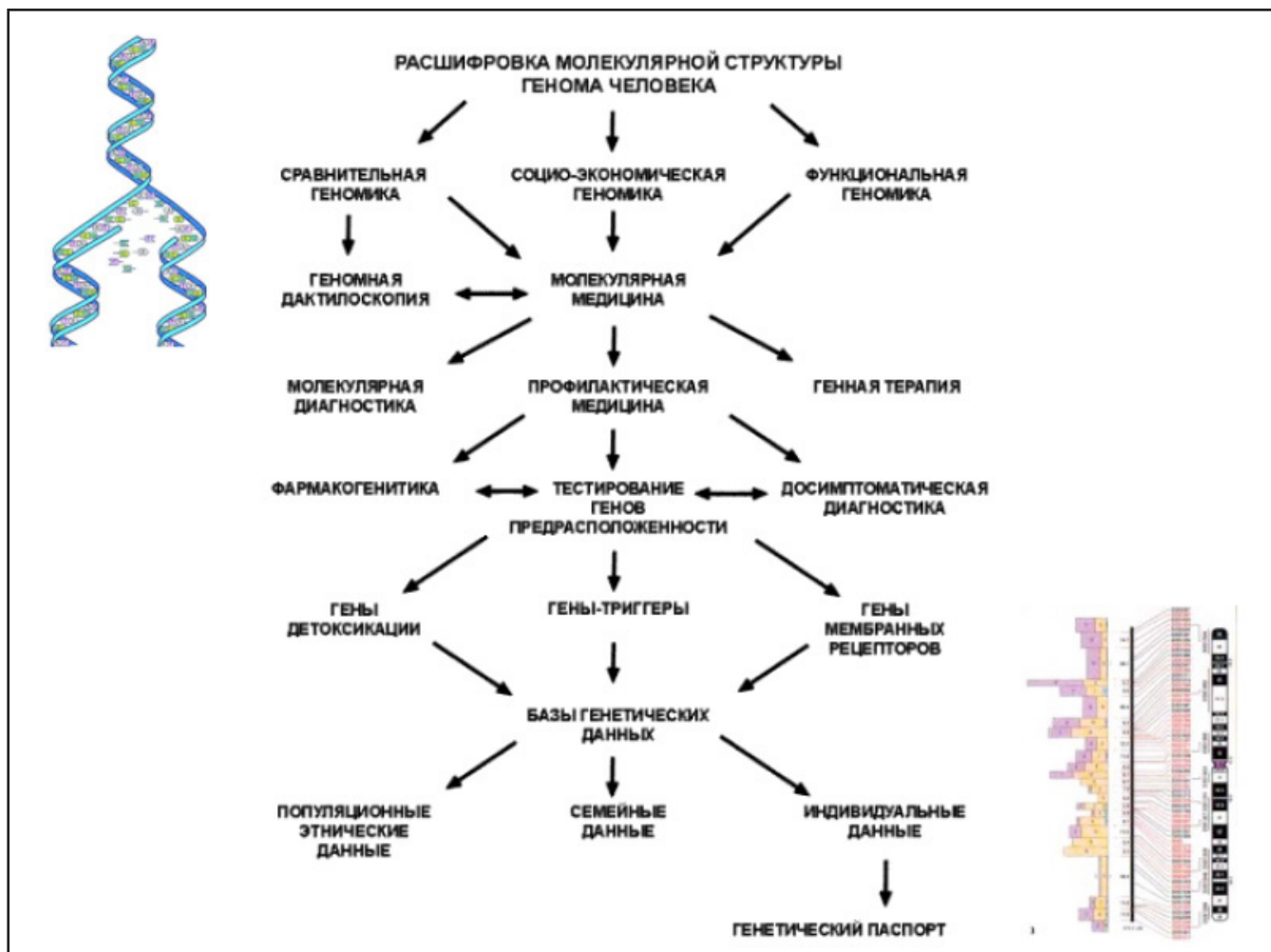


Рисунок 4. Персонализированная медицина (5).

ние крови, фибринолиз, агрегацию тромбоцитов и гемолитическую активность комплемента *in vitro* // Дальневосточный медицинский журнал. 2008. №1. С. 98–100.

8. Памирский И.Э., Бородин Е.А., Штарберг М.А. Регуляция протеолиза растительными и животными ингибиторами. Lambert Academic Publishing, Saarbrücken, Germany, 2012. ISBN 978-3-659-13878-2. 105 с.

9. Щербо С.Н. Персонализированная медицина. Лабораторные методы. www.ramld.ru/userfiles/file/Kirov2013/SherboKir.pdf

10. Astbury, W.T. "Molecular Biology or Ultrastructural Biology?" *Nature*. 1961. Vol. 190, No 4781, p.1124

11. Borodin P.E., Borodin E.A. Plant serpins as potential pharmaceuticals for the correction of hemostasis and fibrinolysis disturbances. *Bioinformatic study. The 13-th Sino-Russia Forum of Biomedical and Pharmaceutical Science*. June 16-17, 2016. Harbin, China. P. 24–25.

12. Eugene A. Borodin, Igor E. Pamirsky, Mikhail A. Shtarberg, Vladimir A. Dorovskikh, Alexander V. Korotkikh, Chie Tarumizu, Kiyoharu Takamatsu and Shigeru Yamamoto Effects of Soy Bean Trypsin Inhibitor on Hemostasis. // *Soybean - A Review*. (Ed.by Hany A. El-Shemy). In-Tech, Croatia. 2013. P. 495–512. ISBN 978-953-51-0977-8.

13. Inner Canon of Huangdi or Yellow Emperor's Inner Canon. (http://en.wikipedia.org/wiki/File:The_Su_Wen_of_the_Huangdi_Neijing.djvu).

14. Pauling L., Itano H., Singer SJ, Wells I. Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease". *Science*, Vol. 110, No. 2865, P. 543–548.

15. Virchow R. L. K. «Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiolog. und pathol. Gewebslehre», 1858.

16. Watson J., Crick F. (1953). "Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid". *Nature* 1953, Vol. 171? No

4356, pp. 737–8 Гиппократ. Сочинения. / Пер. В.И.Руднева, комм. В.П.Карпова. Кн. 2. М.: Медгиз. 1944. 512 с.

Статья поступила в редакцию 28.01.2017

Координаты для связи

Бородин Павел Евгеньевич, студент ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: borodin.agma@gmail.com

Бородин Евгений Александрович, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой химии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: borodin54@mail.ru

Войцеховский Валерий Владимирович, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой госпитальной терапии с курсом фармакологии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: voitsehovskij@yandex.ru

Почтовый адрес ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России: 675000, г. Благовещенск Амурской области, ул. Горького, 95.