

Разработка средства для генотерапии и генокоррекции коронарной недостаточности.

1. Соответствие проекта тематике заявленной научной платформы

Сущностью проекта является разработка средства для патогенетической терапии коронарной недостаточности с применением прямого введения в ткань генов факторов ангиогенеза в виде плазмидных векторов, причем в качестве генов факторов роста сосудов используют векторы, содержащие гены HIF1a, HIF1b, VEGF165, VEGF225 в оптимальном стехиометрическом соотношении, что соответствует направлению 2.1. «Разработка средств генотерапии и генокоррекции» Научной платформы медицинской науки "Инновационные фундаментальные технологии в медицине" (Приложение N 14 к Приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 30 апреля 2013 г. N 281).

2. Актуальность исследования

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) – основная причина смерти населения всех экономически развитых стран мира и стран с переходной экономикой. Среди причин смертности населения в России, как и в большинстве развитых стран, ведущее место занимают болезни системы кровообращения (БСК). Начиная с 1975 года доля умерших от этой патологии прочно занимает первое место в структуре общей смертности населения. В 2009 году в России от БСК умерло 1136,7 тыс. человек, на их долю приходилось 56,5% всех смертей. Для сравнения число умерших от БСК в 2008 году в США составило 811,9 тыс., или 32,3% в структуре общей смертности [The Demographic Yearbook of Russia, 2010. //Federal State Statistical Service (Rosstat). Moscow, 2010. (Демографический ежегодник России, 2010); Roger V. L., Go A. S., Lloyd-Jones D. M., et al. Heart Disease and Stroke Statistics 2012 Update: A Report From the American Heart Association Circulation 2012, 125: e2-e220: originally published online December 15, 2011 <http://circ.ahajournals.org/content/125/1/e2>].

В трудоспособном возрасте, на который приходится основной период выработки валового внутреннего продукта (ВВП) от величины которого зависит благосостояние государства, БСК составляют более трети всех смертей. В создавшихся условиях можно говорить о сверхсмертности мужчин, который превышает уровень смертности среди женщин от БСК в целом в 4,7 раза, в том числе от ишемической болезни сердца (ИБС) – в 7,2 раза, от инфаркта миокарда – в 9,1 и от цереброваскулярных болезней – в 3,4 раза [The Demographic Yearbook of Russia, 2010. //Federal State Statistical Service (Rosstat). Moscow, 2010. (Демографический ежегодник России, 2010)].

Среди заболеваний сердечно-сосудистой системы, являющихся причинами смертности, основными остаются ИБС, в том числе инфаркт миокарда, цереброваскулярные болезни и гипертоническая болезнь. Высокая смертность от БСК обуславливает значительный экономический ущерб, который в 2008–2009 годах превысил 1 трлн рублей и составил 3% от ВВП страны [Oganov R. G., Kontsevaya A. V., Kalinina A. M. Economic burden of cardiovascular disease in the Russian Federation. //Cardiovascular therapy and prevention. 2011; 10 (4): 4–9 (Оганов Р. Г., Концевая А. В., Калинина А. М. Экономический ущерб от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации. //Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2011; 10 (4):4–9)].

Основными причинами эпидемии ССЗ традиционно считаются факторы образа жизни, такие как курение, избыточное потребление алкоголя, нерациональное питание и недостаточная физическая активность, а также артериальная гипертензия и психосоциальный стресс [Ford E. S., Capewell S. Proportion of the decline in cardiovascular mortality disease due to prevention versus treatment: public health versus clinical care. //Annu. Rev. Public. Health. 2011 Apr 21;32:5–22].

Также известно, что развитие заболеваний сердца связано с генетически обусловленным снижением образования гипоксией индуцируемого фактора (HIF) в миокарде. В результате дефицита HIF, инициирующего транскрипцию широкого спектра ангиогенных факторов (более 30), ответственных за восстановление pO_2 в тканях и адаптацию клеток к гипоксии, в сердечной мышце в ответ на гипоксию развиваются некробиотические процессы с последующим замещением дефекта соединительной тканью и формированием ИБС, так как определяющим механизмом является отсутствие неоангиогенеза. Степень развития коллатеральных сосудов у больных ИБС тесно коррелирует с увеличением экспрессии HIF-1alpha [Schultz A., Lavie L., Hochberg I., et al. Interindividual heterogeneity in the hypoxic regulation of VEGF: Significance for the development of the coronary artery collateral circulation //Circulation, 1999. - vol. 100. - p. 547–552.] и CD44 [Royen van N., Voskuil M., Hoefer I., et al. CD44 regulates arteriogenesis in mice and is differentially expressed in patients with poor and good collateralization //Circulation. - 2004. - vol. 109. - p. 1647–1652]. Наряду с экспрессией генов HIF для полноценного ангиогенеза необходима экспрессия комплекса генов факторов роста эндотелия сосудов (VEGF), среди которых определяющую роль играет VEGF 225. Между тем особенностью тканей сердца является пониженная экспрессия гена VEGF 225. В других тканях экспрессия VEGF 225 приводит к накоплению VEGF пептидов, являющихся результатом альтернативного сплайсинга, ангиопоэтинов, факторов роста. Последние обеспечивают выживание и мобилизацию эндотелиоцитов, их миграцию в зону ишемии, пролиферацию и формирование сосудов [Burgue A.L., Gianotti T.F., Mansilla N.G., Pirola C.J.,

Sookoian S. Cardiovascular disease is associated with liigh-fat-diet-induced liver damage and up-regulation of the expression of hypoxia-inducible factor 1 α ; //Clin Sci (Lond) 2013 Jan; Vol. 124 (1). pp. 53-63].

Поэтому только у каждого четвертого пациента со стенозирующим атеросклерозом коронарных артерий при окклюзиях развиваются коллатеральные сосуды, что, по-видимому, также обусловлено генетическими факторами [Wustmann K., Zbinden S., Windecker S., et al. Is there functional collateral flow during vascular occlusion in angiographically normal coronary arteries? //Circulation. - 2003. - vol. 107. - p. 2213–2220]. В свою очередь, больные ИБС с хорошо развитыми коллатеральными сосудами характеризуются определенным фенотипом гаптоглобина и имеют низкий уровень эндостатина в перикардialной жидкости, что указывает на индивидуальную генетически детерминированную вариабельность состояния естественных механизмов неоваскуляризации [Panchal V., Rehman J., Nguyen A., et al. Reduced pericardial levels of endostatin correlate with collateral development in patients with ischemic heart disease //J. Am. Coll. Cardiol. - 2004. - vol. 43. - p. 1383–1387].

В настоящее время основной подход к лечению пациентов с ИБС базируется на применении фармакологических препаратов, главным образом с целью устранения симптомов заболевания, а также профилактики «грозных» осложнений (инфаркт миокарда), или их сочетание с хирургическими методами (стентирование и/или шунтирование коронарных артерий). Однако применение хирургических методов не всегда возможно (имеется ряд абсолютных противопоказаний к проведению коронарного шунтирования и/или применению интервенционных технологий, например, при малом диаметре основных коронарных артерий или их ангуляции), а стентирование сосудов нередко осложняется высоким риском тромбозов (при многососудистом поражении) и формированием рестенозов [Парфенов Е.В., Ткачук В.А.. Перспективы генной терапии сердечно-сосудистых заболеваний. //Вопросы медицинской химии, 2000, № 3.].

Несмотря на широкое внедрение современных методов профилактики и лечения ИБС, последняя продолжает вносить значительный вклад и в неблагоприятное развитие демографической ситуации в Российской Федерации. Сокращение численности населения из-за превышения числа умерших над числом родившихся, начавшееся в 1992 году, продолжается. В 1992–2010 годах естественная убыль населения составила 13,2 млн. человек [Shalnova S. A., Deev A. D. Russian mortality trends in the early XXI century: official statistics data. //Cardiovascular therapy and prevention. 2011; 10 (6): 5–10 (Шальнова С. А., Деев А. Д. Тенденции смертности в России в начале XXI века (по данным официальной статистики).

//Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2011, 10 (6), 5–10)], а зарегистрированный в 2012 г. прирост населения на 98,3% сформирован за счет миграционного прироста.

Поэтому лечение пациентов с хронической коронарной недостаточностью, у которых традиционное лечение неэффективно, требует внедрения новых лечебных методов, в основе которых должна лежать коррекция патогенетических механизмов.

3. Научный коллектив

Руководитель проекта: Макеев Олег Германович, д.м.н., профессор

- Количество цитирований статей в изданиях базы данных РИНЦ в 2012/2013 гг. - 20

- Количество цитирований статей в международных базах данных Web of Science/Scopus/Google Sch. в 2012/2013 гг. - 6/11/12 соответственно.

Коротков Артем Владимирович, к.м.н., ведущий научный сотрудник

- Количество цитирований статей в изданиях базы данных РИНЦ в 2012/2013 гг. - 8

- Количество цитирований статей в международных базах данных Web of Science/Scopus/Google Sch. в 2012/2013 гг. - 3/8/13 соответственно.

Шуман Евгений Александрович, аспирант.

- Количество цитирований статей в изданиях базы данных РИНЦ в 2012/2013 гг. - 7

- Количество цитирований статей в международных базах данных Web of Science/Scopus/Google Sch. в 2012/2013 гг. - 3/7/12 соответственно.

Мелехин Всеволод Викторович – студент 6 курса педиатрического факультета УГМУ.

4. Финансовая модель

Предполагаемый объем дальнейшего финансирования проекта

Год реализации проекта	Финансирование из федерального бюджета, тыс. руб.	Финансирование из внебюджетных источников, тыс. руб.
1-й	13000,00	1000,00
2-й	10000,00	2000,00
3-й	10000,00	8000,00
Итого	33000	11000
Всего, тыс. руб.	44000,00	

5. Конкурентные преимущества проекта.

Монотерапия с использованием отдельных генов ангиопоэтинов, как было показано в целом ряде плацебо-контролируемых исследований, не сопровождалась значимым клиническим эффектом. Так, в исследованиях AGENT [Grines C.L. The

AGENT clinical trials programme. //Eur. Heart. J. Suppl. (2004) 6 (suppl E): E18-E23], введение в миокард вектора с геном фактора роста фибробластов (FGF) на фоне ишемической болезни сердца продемонстрировало только «тенденцию к улучшению», при этом отличия толерантности пациентов к физической нагрузке и величины зон ишемического дефекта были статистически недостоверны. Отсутствие клинических эффектов наблюдалось и в ходе исследования PREVENT [Mann M.J., Whittemore A.D., Donaldson M.C. et al. Ex-vivo gene therapy of human vascular bypass grafts with E2F decoy: the PREVENT single-centre, randomised, controlled trial. //Lancet 1999; 354: 1493-1498., Alexander J.H., Hafley G., Harrington R.A., Peterson E.D., et al. Efficacy and safety of edifoligide, an E2F transcription factor decoy, for prevention of vein graft failure following coronary artery bypass graft surgery: PREVENT IV: a randomized controlled trial. //JAMA. 2005 Nov 16;294(19):2446-54] как при введении пациентам гена эпидермального фактора роста (E2F), так и гена фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) - в исследовании KAT [Hedman M., Hartikainen J., Syvanne M. et al. Safety and feasibility of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT). //Circulation 2003; 107: 2677-83].

В наших экспериментах на кроликах-самцах породы Шиншилла в условиях неполной (80%) окклюзии передней нисходящей артерии сердца показано, что введение в зону ишемии комплекса встроенных в векторы четырех генов HIF1a, HIF1b, VEGF165, VEGF225 обеспечивает формирование полноценных сосудов и анастомозов с неповрежденной сосудистой сетью, что приводит к восстановлению перфузии в ишемизированной области органа и ткани.

6. Инновационность.

Впервые показана терапевтическая эффективность одновременного введения в миокард комплекса встроенных в векторы четырех генов HIF1a, HIF1b, VEGF165, VEGF225 в отношении формирования полноценных сосудов и анастомозов с неповрежденной сосудистой сетью, и восстановлении перфузии в ишемизированной области сердца.

7. Информация о профильных публикациях, грантах и соисполнителях.

7.1. Профильные публикации

№ п. п.	Наименование	Название издательства, журнала (номер, год) или номер авторского свидетельства	Кол-во п.л. или страниц	Фамилии соавторов работ
1	2	3	4	5
2	Изменение морфофункциональных параметров миокарда при моделируемой сердечной недостаточности под влиянием плазмидного вектора с ДНК фактора роста эндотелиоцитов.	Тезисы докладов Международной научной школы для молодежи "Инновационные технологии в здравоохранении: молекулярная медицина, клеточная терапия, трансплантология, реаниматология, нанотехнологии", Международной научной конференции "Инновационные технологии в реальном секторе экономики (Екатеринбург, 2009, С. 232-233).	2	Е.А. Шуман, А.В. Коротков
3	Модель ишемического повреждения миокарда для исследования и оценки эффективности генотерапии возникающих нарушений	Вестник уральской медицинской академической науки, № 1, 2010. С. 40-42	3	О.Г. Макеев, Е.А. Шуман, А.В. Коротков
4	Терапевтический ангиогенез. Успехи, проблемы, будущее	Вестник уральской медицинской академической науки, № 1, 2010. С. 89-95.	7	О.Г. Макеев, Е.А. Шуман, А.В. Коротков
5	Применение генного конструкта rhVEGF165 для терапии моделируемой сердечной недостаточности (в эксперименте)	Сборник тезисов XVII международной ежегодной научно-практической конференции «Актуальные вопросы кардиологии» (Тюмень, 19-21 мая 2011 года, С.231-235)	6	Макеев О.Г., Шуман Е.А., Коротков А.В.
6	Результаты доклинического исследования эффективности генно-клеточной терапии ишемии миокарда	Цитология, №9(53). 2011. С. 754-755	2	Шуман Е.А., Коротков А.В., Макеев О.Г.
7	Preclinical studies of cell-gene therapy for treatment	Достижения, инновационные направления, перспективы	3	Kaelin W.G., Spiegelman B., Shuman E.A.,

	of heart ischemia	развития и проблемы современной медицинской науки, генетики и биотехнологий: Материалы I Международной научно-практической конференции (Екатеринбург, 31 марта 2011 г. С. 30-32.).		Korotkov A.V., Makeev O.G.
8	Induced pluripotent stem cells from adult human adipose stem cells free of vectors and transegene sequences	Достижения, инновационные направления, перспективы развития и проблемы современной медицинской науки, генетики и биотехнологий: Материалы I Международной научно-практической конференции (Екатеринбург, 2011 г С. 34-36)	3	Yu J., Thompson J.A., Shuman E.A., Korotkov A.V., Makeev O.G.
9	Результаты доклинического исследования эффективности генно-клеточной терапии ишемии миокарда	Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения. Материалы 67-й всероссийской научно-практической конференции с международным участием - Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2012. С. 343-345	3	Шуман Е.А.
10	Эффективная индукция плюрипотентных стволовых клеток	Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2012, том VII, №2, с 36-37	2	Макеев О.Г., Коротков А.В., Шуман Е.А.
11	Изучение эффективности генно-клеточной терапии ишемии сердца в модельном эксперименте	Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2012, том VII, №2, с 54-55	2	Шуман Е.А., Коротков А.В., Макеев О.Г.
12	Результаты доклинических исследований генно-клеточной терапии сердечной недостаточности	Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2012. - № 3 (40). - С. 98-99.	2	Шуман Е.А., Коротков А.В., Макеев О.Г.
13	Comparative In Vivo Assessment of Some Adverse Bio-Effects of Equidimensional Gold and Silver Nanoparticles and the Attenuation of Nanosilver's Effects with a Complex of Innocuous Bioprotectors.	International journal of Molecular Sciences, 2013, v. 14, 2449-2483	34	Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.G., Shur V.Ya., Beikin Ya.B., Sutunkova M.P., Kireyeva E.P., Minigalieva I.A., Loginova N.V., Vasilyeva M., Korotkov A., Shuman E., Vlasova L., Shishkina E.N., Tyurnina A., Kozin

				R., Valamina I.E., Pichugova S., Tulakina L
14	Опыт разработки персонифицированных средств для терапии социально-значимых заболеваний	Медицина, фармация и общественное здоровье. Материалы Евразийского конгресса. Екатеринбург, 21-23 мая 2013 г. С 453-459	7	Макеев О.Г., Коротков А.В., Шуман Е.А.
15	Генно-клеточная терапия моделируемой ишемии миокарда с использованием мультитипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), трансфицированных невирусным вектором гена VEGF	1-й Национальный Конгресс по регенеративной медицине, МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА, М., 2013 – 325 с. 279-280	2	Шуман Е.А., Коротков А.В., Макеев О.Г.
16	Средство для генно-клеточной терапии моделируемой коронарной недостаточности	Медицина, фармация и общественное здоровье. Материалы Евразийского конгресса. Екатеринбург, 21-23 мая 2013 г. С 519-521	3	Шуман Е.А., Коротков А.В., Макеев О.Г.
17	Cell-gene therapy efficacy for treatment of heart ischemia (preclinical studies)	https://www.researchgate.net/publication/235645547		Makeev O.G., Shuman E.A., Korotkov A.V.
18	A novel strategy of inducing pluripotent stem cells from adult human adipose stem cells.	https://www.researchgate.net/publication/235645541		Makeev O.G., Korotkov A.V., Shuman E.A.
19	Принципы генно-клеточной терапии социально значимых заболеваний	Вестник Уральской медицинской академической науки, 2013, №1 (43), с96-99	4	Макеев О.Г., Коротков А.В., Костюкова С.В., Сатонкина О.А., Шуман Е.А., Буханцев В.А., Васильева М.С., Зверева А.Е., Герасимов М.Ю., Симанова Ю.А., Власова Л.А., Пономарев А.И., Улыбин А.И., Зубанов П.С.
20	Ремоделирование сосудистой сети ишемизированных тканей посредством образования сосудов DE NOVO за счет эктопической экспрессии факторов	Вестник Уральской медицинской академической науки, 2013, №4, с.131-134.	4	Макеев О.Г., Шуман Е.А., Коротков А.В.

	ангиогенеза			
21	Ways to optimize production of pluripotent stem cells	Advances in Science, June, 2014, Vol. 4 Issue 1 http://www.ais.phpnet.us/web_documents/makeev.pdf		O.G. Makeev, A.V. Korotkov, E.A Shuman

7.2. Гранты.

Представляемый проект:

- победитель конкурса по отбору инновационных проектов, проводимого в рамках программы «Умник» 2010 г;
- победитель Молодежного инновационного конвента Свердловской области. Екатеринбург, 2010 г;
- победитель окружного Молодежного инновационного конвента УРФО с проектом «Генно - инженерный препарат для стимуляции неоангиогенеза». Тюмень, 2010 г.;
- победитель полуфинала конкурса инновационных проектов "Зворыкинская премия". Москва, 2010 г;
- финалист Национальной премии в области инноваций имени Владимира Зворыкина ("Зворыкинская премия"), проект вошел в 4 лучших проекта Российской Федерации. Москва, Сколково, 2010 г;
- победитель конкурса Фонда содействия развития МФП и НТС по программе Правительства Свердловской области. Екатеринбург, 2011 г;
- победитель конкурса по отбору бизнес - проектов начинающих малых инновационных компаний. Екатеринбург, 2011 г.;
- удостоен Диплома и Золотой медали 5й международной биотехнологической выставки "РосБиоТех - 2011" (ВВЦ – ВДНХ). Москва, 2011 г. За разработку "Технология лечения коронарной недостаточности";
- победитель конкурса "Форум Победителей Свердловской области". Екатеринбург, 2011 г;
- удостоен Диплома и Золотой медали 6й международной биотехнологической выставки "РосБиоТех - 2012"(ВВЦ – ВДНХ). Москва, 2012 г. За разработку "Способ генной терапии ишемии миокарда";
- удостоен стипендии Президента Российской Федерации (Е.А. Шуман; 2013-2015).

7.3. Соисполнители:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области Институт медицинских клеточных технологий
620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 22а

Тел.: (343) 376-98-15 (16)

Факс: (343) 376-97-83

e-mail: imct@celltechnologies.ru