

Обзоры и лекции

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Айтбаев К.А.¹, Муркамилов И.Т.^{2,3}, Фомин В.В.⁴

ВОЗМОЖНОСТИ мРНК-ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

¹Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и медицины, Бишкек, Кыргызстан

²Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызстан

³ГОУ ВПО «Кыргызско-Российский Славянский университет имени первого Президента Российской Федерации Б.Н. Ельцина», Бишкек, Кыргызстан

⁴ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Вспышка коронавирусной инфекции в 2019 г. (COVID-19), вызванная коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2), встревожила мировое сообщество большим количеством унесенных пандемией человеческих жизней. Положительным аспектом этой недавней пандемии стало то, что она, стимулировав ученых на создание вакцин против SARS-CoV-2, ускорила появление новейших терапевтических средств на основе матричных (информационных) рибонуклеиновых кислот (мРНК). В настоящее время разрабатывается множество мРНК-терапевтических препаратов, десятки из них находятся на различных стадиях клинических испытаний. Эти препараты способствовали кардинальным изменениям в парадигме медицинской терапии, в том числе в лечении сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Хотя большинство из этих сердечно-сосудистых мРНК-терапевтических средств все еще находится в стадии доклинической разработки, тем не менее испытания фазы IIa мРНК-терапии ишемии миокарда уже завершены с обнадеживающими результатами. Спектр применения мРНК-терапии при ССЗ чрезвычайно широк, можно даже сказать — безграничен, а текущие исследования по мРНК-терапии включают такие патологические состояния как ишемия миокарда, сердечная недостаточность, аритмии, гиперхолестеринемия и окклюзионные заболевания артерий. Кроме того, мРНК могут быть использованы для повышения эффективности клеточной терапии. В будущем мРНК-терапии суждено, по мнению исследователей, не только вытеснить некоторые из существующих биопрепаратов и способов фармакотерапии, но и найти применение для лечения ССЗ, ранее считавшихся не поддающимися традиционным методам лечения.

Ключевые слова: мРНК-терапия; инфаркт миокарда; сердечная недостаточность; аритмии; гиперхолестеринемия; старение; теломераза; персонализированная медицина.

Для цитирования: Айтбаев К.А., Муркамилов И.Т., Фомин В.В. Возможности мРНК-терапии в лечении сердечно-сосудистых заболеваний. *Клиническая медицина*. 2024;102(8):585–592. DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2024-102-8-585-592>

Для корреспонденции: Муркамилов Илхом Торбекович — e-mail: murkamilov.i@mail.ru

Kubanych A. Aitbayev¹, Ilkhom T. Murkamilov^{2,3}, Viktor V. Fomin⁴

POTENTIAL OF mRNA THERAPY IN THE TREATMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASES

¹Scientific and Research Institute of Molecular Biology and Medicine, Bishkek, Kyrgyzstan

²I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek, Kyrgyzstan

³Kyrgyz-Russian Slavic University named after the First President of the Russian Federation B.N. Yeltsin, Bishkek, Kyrgyzstan

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russia (Sechenov University), Moscow, Russia

The outbreak of coronavirus disease 2019 (COVID-19), caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), alarmed the global community due to the significant loss of human lives during the pandemic. However, as the saying goes, every cloud has a silver lining. A positive aspect of this recent pandemic has been that it stimulated scientists to create vaccines against SARS-CoV-2, accelerating the emergence of new therapeutic agents based on messenger ribonucleic acid (mRNA). Numerous mRNA therapeutic products are currently in development, with dozens at various clinical trial stages. These products have facilitated significant changes in the paradigm of medical therapy, including the treatment of cardiovascular diseases (CVD). Although most of these cardiovascular mRNA therapeutics are still in preclinical development, phase IIa trials for myocardial ischemia therapy have already been completed with encouraging results. The scope of mRNA therapy for CVD is extremely broad, potentially even limitless, with ongoing research including conditions like myocardial ischemia, heart failure, arrhythmias, hypercholesterolemia, and occlusive arterial diseases. Moreover, mRNA can be used to enhance the effectiveness of cell therapies. In the future, researchers predict that mRNA therapies will not only replace some existing biopharmaceuticals and pharmacotherapy methods but also be applied to treat previously considered untreatable cardiovascular diseases.

Key words: mRNA therapy; myocardial infarction; heart failure; arrhythmias; hypercholesterolemia; aging; telomerase; personalized medicine.

For citation: Aitbaev K.A., Murkamilov I.T., Fomin V.V. Potential of mRNA therapy in the treatment of cardiovascular diseases.

Klinicheskaya meditsina. 2024;102(8):585–592. DOI: <http://dx.doi.org/10.30629/0023-2149-2024-102-8-585-592>

For correspondence: Ilkhom T. Murkamilov — e-mail: murkamilov.i@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Термин «мРНК» ныне широко распространен в мировой медицинской практике, поскольку терапевтические стратегии, основанные на этой молекуле, стали ключевым инновационным подходом к созданию новых препаратов. Эти технологии предоставляют эффективные методы борьбы с различными заболеваниями, включая респираторные, сердечно-сосудистые, метаболические, аутоиммунные и онкологические. Такие подходы способны изменить существующие методы терапии, направляя внимание на трудно поддающиеся лечению патологии и открывая новые перспективы для разработки лекарств.

Недавний успех мРНК-вакцины против SARS-CoV-2 быстро привел к тому, что мРНК-терапевтические препараты стали важным и расширяющимся направлением в медицине. Новые достижения в области технологии мРНК и систем клеточной доставки в сочетании с их экономичностью, простотой производства и способностью воздействовать на ранее недоступные цели, имеют безграничный потенциал для революции в медицинской практике.

Технология мРНК-терапии обладает несколькими важнейшими преимуществами по сравнению с другими методами, такими как стратегии, основанные на ДНК, белках и малых молекулах. Препараты, основанные на мРНК, имеют модульную структуру с легко переключаемыми последовательностями, что дает возможность создавать индивидуальные молекулы, специфично направленные на различные белки или гены. Они способны непосредственно воздействовать на основную причину заболевания, что позволяет эффективно остановить или обратить его прогрессирование. Процесс производства мРНК-терапевтических препаратов также характеризуется высокой скоростью по сравнению с антителами или препаратами на основе белков. Предсказуемая фармакокинетика и отсутствие интеграции в геном делают их относительно безопасными. Такая функциональная универсальность находит широкое применение в разработке противовирусных вакцин, терапии замещения белков, иммунотерапии рака и клеточного перепрограммирования.

Помимо технологии мРНК, существует еще несколько категорий РНК-методов, которые включают антисмысловые олигонуклеотиды (АСО), микро-РНК, малые интерферирующие РНК (РНКи) и аптамеры. Наибольшее количество одобренных терапевтических препаратов приходится на АСО, за которыми следуют РНКи и аптамеры [1, 2]. При этом в настоящее время на рынке нет полностью одобренных терапевтических средств на основе мРНК. Тем не менее недавние испытания фазы IIa мРНК-терапии ишемии миокарда, которые завершились с обнадеживающими результатами [3], а также описанные выше впечатляющие преимущества технологии мРНК-терапии по сравнению с другими методами, делают данную технологию не только новейшей, но и наиболее многообещающей медицинской стратегией, привлекающей огромное внимание исследовательского сообщества, финансирующих агентств и биомедицинской промышленности. Ожидается, что в следующем десяти-

лети количество одобрений данного метода значительно возрастет.

Цель данного мини-обзора заключается в анализе факторов, способствовавших разработке революционной технологии мРНК-терапии, а также в рассмотрении характеристик разрабатываемых сердечно-сосудистых мРНК-препаратов. Дополнительно освещаются перспективы применения данной технологии в области лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Препараты мРНК: революционная парадигма в терапии

По сути, мРНК — это биологическое «программное обеспечение», в котором закодированы все функциональные и структурные белки организма. мРНК генерируется в ядре клетки транскрипционным комплексом, который копирует часть кода ДНК в мРНК. В ядре мРНК перерабатывается в зрелую форму, которая транспортируется в определенные участки цитоплазмы, где транслируется в белок с помощью рибосомного механизма. Каждая мРНК может быть использована для производства от десятков до сотен молекул белка, кодируемого этой мРНК. Однако мРНК быстро — в течение нескольких минут или часов — разрушается под действием нуклеаз, так как является лишь преходящим (временным) сообщением, дающим клетке указание произвести белок, необходимый в данный момент в конкретной области клетки. Временный характер сообщения обеспечивает клетке гибкую систему реагирования, позволяя быстро менять «белковый репертуар» клетки в ответ на тот или иной вызов.

Например, если в клетку ввести экзогенную молекулу мРНК, то она будет подвергнута действию рибосомного механизма для образования белка, кодируемого этой экзогенной молекулой мРНК. Соответственно, в случае необходимости выработки клетками пациента определенного терапевтического белка, можно записать код этого белка в молекулу мРНК и доставить эту молекулу в клетки пациента [4].

Таким образом, процесс синтеза необходимого терапевтического белка требует совсем немного времени, что было ярко продемонстрировано во время пандемии COVID-19 при создании мРНК-вакцины против SARS-CoV-2 (коронавирус 2, ассоциированный с тяжелым острым респираторным синдромом). Так, если традиционно на одобрение новой вакцины раньше уходило около десяти и более лет, то мРНК-вакцина против SARS-CoV-2 получила разрешение на экстренное применение менее чем за год [5]. Хронология этого события выглядела следующим образом: в январе 2020 г. китайские ученые опубликовали геном SARS-CoV-2, а уже через несколько дней после получения биологического кода биотехнологические и фармацевтические компании Moderna и BioNTech/Pfizer смогли разработать и синтезировать конструкции мРНК, кодирующие спайковый белок вируса. Эти мРНК-конструкции были быстро протестированы на доклинических моделях, и уже через несколько месяцев начались первые испытания на

людях. В настоящее время предпринимаются глобальные усилия по дальнейшему ускорению реагирования на следующую пандемию, в том числе с помощью РНК-платформы [6].

Безусловно, предыдущие научные работы с другими смертоносными коронавирусами (например, предшествующим SARS-CoV, а также коронавирусом, вызывающим ближневосточный респираторный синдром, или MERS) предоставили важную информацию, которая ускорила разработку вакцины против SARS-CoV-2 [7]. Из более ранних работ было известно, что нейтрализующие антитела против спайкового белка этих коронавирусов играют важную роль в иммунной защите, и что рекомбинантный спайк-белок или ДНК, кодирующая его, могут вызвать защитный иммунный ответ против коронавирусов [8]. Кроме того, стало ясно, что необходимо обеспечить мутацию двух аминокислот в спайк-белке, чтобы поддерживать его префузионную конформацию для усиления иммунного распознавания антигена. Эта работа ускорила разработку мРНК-вакцины против коронавируса. Кроме того, также были достигнуты успехи в понимании биологии мРНК и ее доставки, которые сделали возможной терапию мРНК.

Факторы, способствовавшие появлению мРНК-терапевтических средств

Может возникнуть вопрос, почему мРНК-терапия появилась только сейчас, спустя 60 лет после открытия мРНК. Дело в том, что еще в 1990-х гг. было показано, что мРНК, кодирующая белок вазопрессин, введенная в гипоталамус грызунов, способна вырабатывать вазопрессин и транзитивно обращать вспять несахарный диабет у этих животных. Однако синтетическая мРНК обладала цитотоксичностью и вызывала сильную воспалительную реакцию. Этот побочный эффект был одним из главных препятствий на пути появления мРНК-терапии, которое удалось преодолеть лишь в 2005 г., когда Дрю Вайсман и Каталин Карико показали, что чрезмерной воспалительной реакции можно избежать, если заменить основания в синтезируемой мРНК (например, заменив урацил на псевдоурацил) [9]. В результате повышалась выживаемость клеток и улучшалась трансляция мРНК в белок. Кроме того, эти исследователи показали, что более эффективные стратегии очистки (для удаления abortивных транскрипций) позволяют повысить эффективность трансляции мРНК в белок.

Способствовали разработке мРНК-терапевтических препаратов и последующие совершенствования доставки мРНК в клетки пациента. Как известно, голая мРНК очень хрупка, подвержена гидролитической деградации в водном растворе и быстро разрушается экзонуклеазами. Ее эфемерная природа, хотя и обеспечивает клетке возможность быстро реагировать на изменения в окружающей среде, тем не менее затрудняет использование мРНК в терапии из-за ее недостаточной стабильности. В результате исследований был найден подход к стабилизации мРНК путем ее инкапсуляции в липидные наночастицы (LNP, lipid nanoparticles), что сделало терапию

мРНК более осуществимой [10]. Благодаря липидной наночастице мРНК стала защищенной от гидролитической деградации, а также от ферментативной деградации экзонуклеазами, которые повсеместно распространены в тканях. Кроме того, липидная наночастица существенно облегчила прохождение мРНК через клеточную мембрану посредством эндоцитоза.

Новые разрабатываемые сердечно-сосудистые мРНК-терапевтические препараты

Сосудистая регенеративная терапия ишемии миокарда. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor) представляет собой мощный стимулирующий фактор ангиогенеза. В доклинических моделях введение VEGF в виде рекомбинантного белка или генной терапии приводило к увеличению плотности микрососудов, повышению перфузии ишемизированной ткани и улучшению ее функции. Однако клинические исследования, в которых использовались VEGF в виде рекомбинантного белка или генной терапии для лечения ишемии миокарда или конечностей не увенчались успехом. Например, доставка VEGF-A с помощью плазмиды [11] или аденовируса [12] с использованием интрамиокардиальной доставки не привела к значительному клиническому эффекту. Тем не менее, основываясь на обнадеживающих данных, полученных в мышинной модели ишемии миокарда, где инъекции мРНК VEGF увеличивали локальный уровень VEGF, инфильтрацию прогениторных клеток, плотность микрососудов и уменьшали повреждение миокарда [13], было принято решение о проведении клинических испытаний мРНК VEGF для лечения ишемии миокарда. Исследование фазы I на пациентах с сахарным диабетом было многообещающим [14]. В этом уникальном исследовании мРНК VEGF вводилась подкожно, а белок VEGF определялся с помощью кожного микродиализа. Инъекции мРНК VEGF в цитратном буфере натрия вызывали дозозависимое увеличение экспрессии белка VEGF. Кроме того, лазерная доплеровская флоуметрия показала увеличение локальной перфузии. Эти перспективные исследования привели к проведению испытания фазы IIa на пациентах, перенесших операцию аортокоронарного шунтирования (АКШ). В процессе АКШ хирурги вводили мРНК в ишемизированный участок миокарда путем интрамиокардиальной инъекции. Последующие исследования выявили снижение уровня мозгового натрийуретического пептида в плазме крови и увеличение дистанции ходьбы на беговой дорожке [15].

Восстановление функций миокарда. Для восстановления функций миокарда после его повреждения необходимо не только улучшить перфузию сердца, но и активировать процессы регенерации миоцитов. Показано, что транскрипционный фактор, известный как Yes-ассоциированный белок (YAP, Yes-associated protein), связывается с промоторами целой группы генов, ответственных за реактивацию дедифференцировки и пролиферации миоцитов. Особенно важную роль играет активированная форма YAP (aYAP), которая переходит

из цитоплазмы в ядро клетки к мРНК, стимулируя тем самым процессы регенерации миокарда. Эксперименты на мышинной модели инфаркта миокарда показали, что внутримиекардиальные инъекции мРНК aYAP способны повысить местную экспрессию этого транскрипционного фактора, активировать пролиферацию миоцитов, увеличить объем жизнеспособного миокарда, снизить образование рубцов и улучшить общую сердечную функцию [16].

Помимо восстановления сократительной функции сердца, поддержание его нормальной электрофизиологической функции представляет собой важный аспект в лечении пациентов. Лицам с синдромом слабости синусового узла или нарушениями функционирования синоатриального (SA, sinoatrial) и атриовентрикулярного (AV, atrioventricular) узлов часто требуется установка кардиостимулятора для компенсации потери эндогенной кардиостимулирующей активности. Хотя постоянные кардиостимуляторы чрезвычайно эффективны, они иногда дают сбой в работе по многим причинам, например, могут не чувствовать эндогенный ритм, не стимулировать миокард и/или вызывать нарушения ритма. Фрагментация проводов, отказ генератора или батареи, а также инфекции — признанные проблемы постоянных кардиостимуляторов. Идея разработки биологического кардиостимулятора, который позволил бы избежать подобных проблем и заменить дисфункциональный SA- или AV-узел, способствовали развитию клеточных и генных терапевтических подходов к восстановлению нормально функционирующего эндогенного кардиостимулятора. Последние достижения в области клеточного перепрограммирования привели к признанию того, что существует несколько основных регуляторов судьбы клеток. Экспрессия специфических транскрипционных факторов, а также увеличение доступности ДНК могут изменить идентичность клеток. Как оказалось, в контексте клеточного перепрограммирования ключевым регулятором идентичности клеток кардиостимулятора в AV-узле выступает белок TBX18 (T-Box Transcription Factor 18). Недавно было показано, что мРНК, кодирующая TBX18, индуцирует пейсмекерную функцию в сердечных миоцитах и восстанавливает нормальный ритм у грызунов [17, 18].

Старение сердечно-сосудистой системы: передвинуть стрелки часов назад. Теломеры, находящиеся на концах каждой хромосомы, представляют собой последовательности тысяч гексануклеотидных повторов и играют важную роль в целостности хромосом. Эти структуры сворачиваются и закрываются белками шелтерин, которые препятствуют механизмам повреждения ДНК распознать концы хромосом как разрывы, нуждающиеся в восстановлении. С каждым делением клетки теломеры постепенно становятся короче из-за явления, известного как «проблема конца репликации». Кроме того, активные виды кислорода могут вызывать повреждение теломер, что приводит к их ускоренному укорачиванию. Заболевания, связанные с повышенным воспалением и окислительным стрессом, такие как сахарный диабет, также ассоциируются с укорочением теломер.

В эмбриональных стволовых клетках экспрессия белка теломеразы поддерживает длину теломер, позволяя клеткам делиться бесконечно долго. В меньшей степени теломераза экспрессируется в стволовых клетках взрослых (таких как мезенхимальные стволовые клетки, МСК), что позволяет им обладать большей репликативной способностью, чем обычные соматические клетки. В соматических клетках теломеразы, как правило, не экспрессируется. По этой причине дифференцированные клетки (например, клетки кожи, сердца или сосудов) имеют ограниченный срок жизни. Например, фибробласты человека способны удваиваться примерно 50 раз, после чего становятся старческими и неспособными к дальнейшей пролиферации — этот барьер известен как предел Хейфлика. Важно отметить, что стареющие клетки также вырабатывают воспалительные цитокины, которые делают другие клетки вокруг них нефункциональными.

Обнаружено, что мРНК, кодирующая теломеразу (TERT), может временно увеличивать клеточную экспрессию белка теломеразы [19]. Хотя мРНК присутствует только в течение нескольких часов, а белок теломеразы обнаруживается лишь в течение 48–72 ч, наблюдалось заметное увеличение длины теломер. Это устойчивое структурное изменение в хромосомах клеток, длящееся гораздо дольше, чем РНК или белок теломеразы, было связано с увеличением репликативной способности. Экспериментально доказано, что четыре цикла обработки мРНК TERT могут удвоить продолжительность жизни фибробластов человека [20]. Кроме того, выявлено, что подобное увеличение репликативной способности может быть достигнуто также в эндотелиальных клетках, миоцитах и кератиноцитах.

Помимо увеличения репликативной способности отмечается потрясающая реверсия многих аномалий, присущих стареющим клеткам. Примером могут служить эндотелиальные клетки, полученные от пациентов с прогерией. Они характеризуются аномальной морфологией, типичной для стареющих эндотелиальных клеток, проявляя классический облик «жареного яйца» с выраженными лобулированными ядрами. Эндотелиальные клетки пациентов с прогерией дисфункциональны, у них нарушена выработка оксида азота, снижена способность формировать сосудистые сети в матриксе и поглощение ацетилированного холестерина ЛПНП. Кроме того, они вырабатывают воспалительные цитокины и экспрессируют молекулы адгезии, включая молекулу адгезии сосудистых клеток.

Примечательно, что две обработки мРНК TERT могут как отменять указанные изменения, так и изменять функционирование клеток. Помимо удлинения теломер, наблюдается снижение сигналов повреждения ДНК, нормализация ядерной морфологии и транскрипционного профиля, а также улучшение клеточных функций и репликативной способности. Эксперименты на мышинной модели прогерии показали, что у животных, подвергшихся обработке лентивирусным вектором, кодирующим теломеразу, наблюдалось уменьшение повреждений сосудистой ДНК и маркеров воспаления, а также

увеличение продолжительности их жизни. Эти результаты предоставляют дополнительное обоснование стратегии обращения старения с помощью мРНК TERT [21]. Однако разработка мРНК TERT для того, чтобы обратить вспять процесс сердечно-сосудистого старения (и других возрастных заболеваний) потребует усовершенствованных средств доставки.

Усовершенствование клеточной терапии. Клеточная терапия сердечно-сосудистых заболеваний, хотя и казалась многообещающей в доклинических исследованиях, разочаровала в клинических испытаниях. Одна из проблем аутологичной клеточной терапии (например, МСК, полученных из жировой ткани или костного мозга) заключается в том, что стволовые клетки, полученные от больного пациента, сами могут быть неполноценными. Для преодоления этой проблемы предлагается анализировать механизмы дефицита стволовых клеток, что позволит разработать мРНК-конструкцию для временного их модифицирования с целью улучшения регенеративной активности. Предполагается, что такая конструкция мРНК сможет кодировать факторы выживания, способствующие более эффективной интеграции в ткани, а также факторы роста, обеспечивающие повышенную эффективность процесса регенерации. Другой подход заключается в омоложении стволовых клеток больного пациента с помощью мРНК, кодирующей TERT.

Пока мРНК TERT еще не использовалась для улучшения клеточной терапии сердечно-сосудистых заболеваний, но имеются факты применения ее для улучшения регенеративного препарата для пациентов с ожогами. Компания Avita Medical разработала препарат клеточной терапии для пациентов с ожогами. Вместо того, чтобы сшивать донорскую кожу для непосредственного нанесения на место ожога, устройство Avita дезагрегирует человеческую кожу на отдельные клетки, которые затем распыляются на место ожога. У молодых людей косметический результат превосходит стандартную пересадку кожи. Однако у пожилых людей этот подход может быть улучшен. Поэтому было протестировано добавление мРНК TERT в липидных наночастицах к дезагрегированным клеткам человеческой кожи перед их применением. В модели раны у иммунодефицитных мышей (которые не отторгают человеческую кожу) предварительные исследования показали, что LNP с TERT мРНК, добавленные к дезагрегированным клеткам человеческой кожи, повышают их теломеразную активность. Этот эффект был связан с увеличением количества клеток кожи человека в ране через неделю после применения, снижением маркеров старения и сигналов повреждения ДНК, а также увеличением маркеров пролиферации. Таким образом, было получено первое доказательство того, что LNP с мРНК TERT могут улучшить клеточную терапию [22].

Разработка вакцин против сердечной недостаточности. Болезнь Шагаса — основная причина сердечной недостаточности в Южной Америке. Болезнь распространяется насекомыми-переносчиками, известными в народе как «целующиеся клопы» (Triatominae) или «клопы-вампиры», которые кусают людей в область рта или глаз

во время сна. В довершение ко всему, они испражняются рядом с раной, что приводит к заражению патогеном *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Паразит проникает в ткани, размножается и, вырываясь из клеток в кровоток, заражает другие органы, включая сердце. В связи с этим была создана бивалентная вакцина против *T. cruzi*, применение которой в мышинной модели болезни Шагаса показало обнадеживающие результаты [23]. Клиническая разработка этой вакцины представляется оправданной, особенно учитывая, что переносчик распространяется на север в южные районы Соединенных Штатов.

Другая новая вакцина против сердечной недостаточности была создана на основе наблюдения за тем, как при сердечной недостаточности нарушается экспрессия белка-шаперонина HSP60 (белок теплового шока 60). Этот белок в норме экспрессируется в цитоплазме и помогает нормальному сворачиванию и переносу белков. Однако при сердечной недостаточности HSP60 транслоцируется на клеточную мембрану, вызывая воспалительные сигналы и апоптоз [24]. У пациентов с сердечной недостаточностью наблюдалась повышенная экспрессия белка HSP60 и рост его концентрации в циркулирующей крови. Эти наблюдения позволили предположить, что aberrантная и повышенная экспрессия HSP60 может способствовать развитию сердечной недостаточности. В мышинной модели сердечной недостаточности (индуцированной хронической инфузией ангиотензина II и антагониста синтазы оксида азота L-NAME, а также диетой с высоким содержанием соли) наблюдалась повышенная экспрессия HSP60 в сердце и обнаруживался циркулирующий белок HSP60. Вакцина из рекомбинантного белка против HSP60 предотвращала развитие сердечной недостаточности у экспериментальных животных [25]. У мышей, получивших вакцину, значительно улучшились сердечная функция и размер камер, что дает основание для проведения дополнительных клинических исследований по установлению возможной связи циркулирующего HSP60 с сердечной недостаточностью у человека, а также доклинических испытаний мРНК-вакцины против циркулирующего HSP60.

Дальнейшие перспективы развития сердечно-сосудистой мРНК-терапии

Ряд новых интересных разработок, представленных ниже, позволит расширить возможности применения мРНК-терапевтических препаратов.

Усиливающий эффект. Самоусиливающиеся РНК (saRNAs, self-amplifying RNAs) способны к самовоспроизведению. Такие молекулы РНК могут передавать сообщение для создания целевого белка и кодировать РНК-зависимую полимеразу, которая копирует молекулу РНК. По сравнению со стандартной мРНК для производства того же количества терапевтического белка в ткань доставляется значительно меньше РНК [26]. Конструкции saRNA основаны на альфавирусе — одноцепочечном РНК-вирусе, который может хорошо самовоспроизводиться. Стандартная saRNA имеет два функциональных домена, один из которых кодирует терапевтический бе-

лок, а другой — кодирующую последовательность РНК-зависимой РНК-полимеразы, а также другие элементы, необходимые для репликации. Одним из основных препятствий для разработки конструкций saRNA является их большой размер. Синтез *in vitro* таких конструкций затруднен из-за абортивных транскриптов, а также фрагментации больших saRNA в процессе обработки. Трансамплифицирующая РНК частично решает эти проблемы, разделяя функции с помощью двух РНК-конструкций. Одна конструкция кодирует нужный белок, а другая — механизм самоамплификации, причем обе конструкции доставляются вместе для достижения самоамплификации [27].

Повышение стабильности. Одной из особенностей мРНК является ее недостаточная стабильность: деградация мРНК происходит в течение от нескольких минут до нескольких часов. Для некоторых приложений это полезно. Например, временный характер конструкции мРНК теломеразы повышает безопасность. мРНК существует несколько часов, а белок теломеразы, транслируемый с мРНК, — от 48 до 72 ч, что достаточно, чтобы вызвать заметное увеличение теломера, которое сохраняется еще долго после исчезновения белка теломеразы. Таким образом, мРНК-конструкция обладает устойчивым эффектом без риска иммортализации. Аналогично, вакцинная конструкция мРНК транзитивно генерирует антиген, при этом краткого представления антигена иммунной системе достаточно, чтобы вызвать выработку нейтрализующих антител, Т-клеточной цитотоксичности и Т-клеток памяти, которые обеспечивают иммунную защиту.

Однако для многих других сфер применения эфемерная природа мРНК является проблематичной и нуждается в стабилизации. Несколько повысить стабильность мРНК можно путем оптимизации кодонов, выбора 3' и 5' нетранслируемых областей в зависимости от ткани и использования длинного полиаденилированного хвоста. Например, можно сконструировать «умную РНК» на основе библиотеки микро-РНК конкретной ткани. В этом случае в 3' нетранслируемую область включается последовательность, которая облегчает сайленсинг микро-РНК в большинстве тканей, кроме той, в которой экспрессия желательна.

Другой путь стабилизации мРНК — модификация структуры мРНК, что может существенно увеличить продолжительность жизни конструкции. Например, циркуляризация мРНК заметно повышает стабильность. Циркулярная РНК устойчива к 3' и 5' экзонуклеазам, поскольку у нее нет конца. Внутренний сайт входа в рибосому позволяет рибосомальному механизму зацепиться за циркулярную РНК и транслировать ее в белок. Циркулярная РНК может сохраняться в течение нескольких дней, а, возможно, и недель. Такие конструкции могут генерировать терапевтические белки в течение более длительного времени, что необходимо для лечения хронических заболеваний. В одном из последних экспериментальных исследований, проведенных на мышах, эффективная защита сердца от хронической кардиоток-

сичности, вызванной доксорубицином, была достигнута с использованием циркулярной РНК, кодирующей рецептор инсулина [28].

Улучшение доставки. Имеющиеся в настоящее время липидные наночастицы (LNPs) очень хорошо подходят для вакцин. Действительно, есть некоторые доказательства того, что LNP могут действовать как адъювант, стимулируя местные воспалительные сигналы. В то время как этот низкий уровень воспалительной сигнализации может усилить действие вакцины, он нежелателен для лечения хронических заболеваний. Кроме того, при системной доставке LNPs в значительной степени секвестрируются в печени и селезенке. Эта особенность может быть полезна при лечении печеночных заболеваний, но нежелательна для лечения других органов.

Соответственно, в настоящее время значительные усилия направлены на совершенствование LNP путем снижения их токсичности и улучшения распределения по тканям. В связи с этим были разработаны лейкосомы, которые представляют собой LNPs с мембранными белками аутологических лейкоцитов, встроенными в наружную мембрану LNP. Исследования биораспределения показывают, что лейкосомы преимущественно внедряются в очаги воспаления. Показано, что лейкосомы превосходят стандартные LNPs в доставке терапевтического груза к атероматозным поражениям у гиперхолестеринемической мыши с дефицитом апо Е [29].

Иной подход предполагает маркировку внешней поверхности липосомальных наночастиц (LNPs) специфическими антителами. Пример данного метода был недавно представлен исследовательской группой, которая пометила LNP антителом, направленным против Т-клеток, для доставки мРНК, кодирующей химерный антигенный рецептор против активированных фибробластов [30]. В доклинической модели сердечного фиброза данные терапевтические LNP генерировали CAR-T клетки, что привело к уменьшению числа активированных фибробластов в сердце, сокращению сердечного фиброза и улучшению сердечной функции [31].

РНК-терапия в больницах: еще один шаг на пути к персонализированной медицине

Технология мРНК-терапевтических препаратов открывает новые возможности для персонализированной медицины, поскольку код терапевтического белка может быть быстро написан с помощью биологического программного обеспечения, а мРНК оперативно создана путем синтеза *in vitro* с использованием стандартного лабораторного оборудования на объектах с относительно небольшой площадью. Например, в академической больнице при Хьюстонском научно-исследовательском институте создан региональный центр РНК-терапии со сборочным конвейером для производства мРНК-терапевтических препаратов [32]. В центре работает команда ученых, способных разрабатывать новые подходы, создавать новые конструкции, синтезировать, очищать, лиофилизировать и инкапсулировать мРНК-конструкции в ЛНП. Имеется также производственная

площадка, отвечающая надлежащим требованиям производственной практики, которая позволяет генерировать терапевтическую мРНК для доклинических исследований и первых клинических испытаний. Кроме того, функционирует отделение клинических испытаний и большая больничная система, которая поддерживает клинические испытания фазы II и III.

Академические больницы призваны сыграть важную роль в развитии мРНК-терапевтических препаратов, в их создании и применении. Персонализированные методы лечения, такие как вакцины против рака, теперь действительно возможны при использовании мРНК-терапевтических препаратов, и их лучше всего создавать и применять в академических центрах, где пациент получает лечение. В этом случае биопсия или хирургическое удаление опухоли может сопровождаться секвенированием для выявления опухолевых антигенов. Эти знания позволяют генерировать мРНК-конструкции, кодирующие опухолевые антигены, для введения пациенту в качестве вакцины. Помимо создания персонализированных РНК-препаратов, региональные центры РНК-терапии могут участвовать в глобальном реагировании на пандемию как силы быстрого реагирования на локальную вспышку. Таким образом, медицина сегодня стоит на пороге нового терапевтического рубежа, полного перспективных и преобразующих методов лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sasso J.M., Ambrose B.J.B., Tenchov R. et al. The progress and promise of RNA medicine — an arsenal of targeted treatments. *J. Med. Chem.* 2022;65(10):6975–7015. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.2c00024. Epub 2022 May 9. PMID: 35533054; PMCID: PMC9115888.
2. Zogg H., Singh R., Ro S. Current advances in RNA therapeutics for human diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(5):2736. DOI: 10.3390/ijms23052736. PMID: 35269876; PMCID: PMC8911101.
3. Collén A., Bergenhem N., Carlsson L. et al. VEGFA mRNA for regenerative treatment of heart failure. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2022;21(1):79–80. DOI: 10.1038/s41573-021-00355-6
4. Center for RNA Therapeutics. 2022. [cited 2022 Oct 21]. [Electronic resource]. URL: www.houstonmethodist.org/rna-therapeutics
5. FDA Takes Key Action in fight against COVID-19 by issuing emergency use authorization for first COVID-19 vaccine. 2020. [cited 2022 Oct 24]. [Electronic resource]. URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-takes-key-action-fight-against-covid-19-issuing-emergency-use-authorization-first-covid-19>
6. CEPI 2.0 and the 100 days mission. 2022. [cited 2022 Oct 24]. [Electronic resource]. URL: <https://100days.cepi.net/>
7. Terada Y., Kawachi K., Matsuura Y., Kamitani W. MERS coronavirus nsp1 participates in an efficient propagation through a specific interaction with viral RNA. *Virology.* 2017;511:95–105. DOI: 10.1016/j.virol.2017.08.026
8. Shehata M.M., Kandeil A., Mostafa A. et al. A recombinant influenza A/H1N1 carrying a short immunogenic peptide of MERS-CoV as bivalent vaccine in BALB/c mice. *Pathogens.* 2019;8(4):281. DOI: 10.3390/pathogens8040281
9. Karikó K., Buckstein M., Ni H., Weissman D. Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity.* 2005;23(2):165–75. DOI: 10.1016/j.immuni.2005.06.008
10. Geall A.J., Verma A., Otten G.R. et al. Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012;109(36):14604–9. DOI: 10.1073/pnas
11. Stewart D.J., Kutryk M.J.B., Fitchett D. et al. VEGF gene therapy fails to improve perfusion of ischemic myocardium in patients with advanced coronary disease: results of the NORTHERN trial. *Mol. Ther.* 2009;17(6):1109–15. DOI: 10.1038/mt.2009.70
12. Stewart D.J., Hilton J.D., Arnold J.M.O. et al. Angiogenic gene therapy in patients with nonrevascularizable ischemic heart disease: a phase 2 randomized, controlled trial of AdVEGF(121) (AdVEGF121) versus maximum medical treatment. *Gene Ther.* 2006;13(21):1503–11. DOI: 10.1038/sj.gt.3302802
13. Zangi L., Lui K.O., von Gise A. et al. Modified mRNA directs the fate of heart progenitor cells and induces vascular regeneration after myocardial infarction. *Nat. Biotechnol.* 2013;31(10):898–907. DOI: 10.1038/nbt.2682
14. Gan L.M., Lagerström-Fermér M., Carlsson L.G. et al. Intradermal delivery of modified mRNA encoding VEGF-A in patients with type 2 diabetes. *Nat. Commun.* 2019;10(1):871. DOI: 10.1038/s41467-019-08852-4
15. Anttila V., Saraste A., Knuuti J. et al. Synthetic mRNA Encoding VEGF-A in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Grafting: Design of a Phase 2a Clinical Trial. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 2020;18:464–472. DOI: 10.1016/j.omtm.2020.05.030
16. Liu S., Tang L., Zhao X. et al. Yap Promotes Noncanonical Wnt Signals From Cardiomyocytes for Heart Regeneration. *Circ. Res.* 2021;129(8):782–797. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318966
17. Kapoor N., Liang W., Marbán E., Cho H.C. Direct conversion of quiescent cardiomyocytes to pacemaker cells by expression of Tbx18. *Nat. Biotechnol.* 2013;31(1):54–62. DOI: 10.1038/nbt.2465
18. Choudhury M., Black N., Alghamdi A. et al. TBX18 overexpression enhances pacemaker function in a rat subsidiary atrial pacemaker model of sick sinus syndrome. *J. Physiol.* 2018;596(24):6141–6155. DOI: 10.1113/JP276508. Epub 2018 Oct 13. PMID: 30259525; PMCID: PMC6292813
19. Bai Y., Kan S., Zhou S. et al. Enhancement of the *in vivo* persistence and antitumor efficacy of CD19 chimeric antigen receptor T cells through the delivery of modified TERT mRNA. *Cell. Discov.* 2015;1:15040. DOI: 10.1038/celldisc.2015.40
20. Li Y., Zhou G., Bruno I.G. et al. Transient introduction of human telomerase mRNA improves hallmarks of progeria cells. *Aging Cell.* 2019;18(4):e12979. DOI: 10.1111/ace1.12979
21. Mojiri A., Walther B.K., Jiang C. et al. Telomerase therapy reverses vascular senescence and extends lifespan in progeria mice. *Eur. Heart J.* 2021;42(42):4352–4369. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab547
22. Chang D.F., Court K.A., Holgate R. et al. Telomerase mRNA enhances human skin engraftment for wound healing. *Adv. Healthc. Mater.* 2023;24:e2302029. DOI: 10.1002/adhm.202302029. Epub ahead of print. PMID: 37619534.
23. Dzul-Huchim V.M., Ramirez-Sierra M.J., Martinez-Vega P.P. et al. Vaccine-linked chemotherapy with a low dose of benznidazole plus a bivalent recombinant protein vaccine prevents the development of cardiac fibrosis caused by Trypanosoma cruzi in chronically-infected BALB/c mice. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2022;16(9):e0010258. DOI: 10.1371/journal.pntd.0010258
24. Kim S.C., Stice J.P., Chen L. et al. Extracellular heat shock protein 60, cardiac myocytes, and apoptosis. *Circ. Res.* 2009;105(12):1186–95. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.209643
25. Youker K.A., Shen H., Bhimaraj A., Torre-Amione G. Abstract 11435: A new paradigm in therapy: a vaccine against the progression of heart failure. *Circulation.* 2021;144(1):A11435. DOI: 10.1161/circ.144.suppl_1.11435
26. Vogel A.B., Lambert L., Kinnear E. et al. Self-amplifying RNA vaccines give equivalent protection against influenza to mRNA vaccines but at much lower doses. *Mol. Ther.* 2018;26(2):446–455. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.11.017
27. Beissert T., Perkovic M., Vogel A. et al. A Trans-amplifying RNA vaccine strategy for induction of potent protective immunity. *Mol. Ther.* 2020;28(1):119–128. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.09.009
28. Lu D., Chatterjee S., Xiao K. et al. A circular RNA derived from the insulin receptor locus protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Eur. Heart J.* 2022;43(42):4496–4511. DOI: 10.1093/eurheartj/ehac337
29. Boada C., Zinger A., Tsao C. et al. Rapamycin-loaded biomimetic nanoparticles reverse vascular inflammation. *Circ. Res.* 2020;126(1):25–37. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119

30. Rurik J.G., Epstein J.A. Uniting disciplines to develop therapeutics: targeted mRNA lipid nanoparticles reprogram the immune system *in vivo* to treat heart disease. *DNA Cell. Biol.* 2022;41(6):539–543. DOI: 10.1089/dna.2022.0171
31. Rurik J.G., Tombácz I., Yadegari A. et al. CAR T cells produced *in vivo* to treat cardiac injury. *Science.* 2022;375(6576):91–96. DOI: 10.1126/science.abm0594. PMID: 34990237; PMCID: PMC9983611.32.

Поступила 18.01.2024

Принята в печать 23.01.2024

Информация об авторах

Айтбаев Кубаныч Авеневич — д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией патологической физиологии и иммунологии НИИ молекулярной биологии и медицины, член правления Общества специалистов по хронической болезни почек Кыргызстана, <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X>

Муркамилов Илхом Торобекович — д-р мед. наук, доцент кафедры факультетской терапии Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева; профессор кафедры терапии №2 медицинского факультета Кыргызско-Российского Славянского университета имени Б.Н. Ельцина, председатель правления Общества специалистов по хронической болезни почек Кыргызстана, <https://orcid.org/0000-0001-8513-9279>

Фомин Виктор Викторович — д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой факультетской терапии №1 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, проректор по инновационной и клинической деятельности, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), <https://orcid.org/0000-0002-2682-4417>

Information about the authors

Kubanych A. Aitbaev — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Pathological Physiology and Immunology of the Research Institute of Molecular Biology and Medicine, Member of the Board of the Society of Specialists in Chronic Kidney Disease of Kyrgyzstan, <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X>

Ilkhom T. Murkamilov — Doctor of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Faculty Therapy of the Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbayev; Professor of the Department of Therapy No. 2 of the Medical Faculty of the Kyrgyz-Russian Slavic University named after B.N. Yeltsin, Chairman of the Board of the Society of Specialists in Chronic Kidney Disease of Kyrgyzstan, <https://orcid.org/0000-0001-8513-9279>

Viktor V. Fomin — Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Faculty Therapy No. 1 of the N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, Vice-Rector for Innovation and Clinical Activities, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), <https://orcid.org/0000-0002-2682-4417>