

ВВЕДЕНИЕ

В данной работе представлен краткий обзор инновационных терапевтических стратегий для лечения пациентов с вирусной инфекцией COVID-19. В качестве перспективного направления лечения COVID-19 может быть предложена таргетная терапия с использованием микроРНК. Коронавирус SARS-CoV-2, вызвавший пандемию COVID-19, проникает в клетку, связываясь с поверхностными белками: **ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE2)** и **сериновой протеазой 2 (TMPRSS2)**. Экспрессия данных белков значительно различается в отдельных органах и тканях организма человека. Одним из механизмов регуляции их экспрессии является активность молекул микроРНК — коротких некодирующих РНК, важнейшей функцией которых является посттранскрипционная негативная регуляция экспрессии генов.

микроРНК

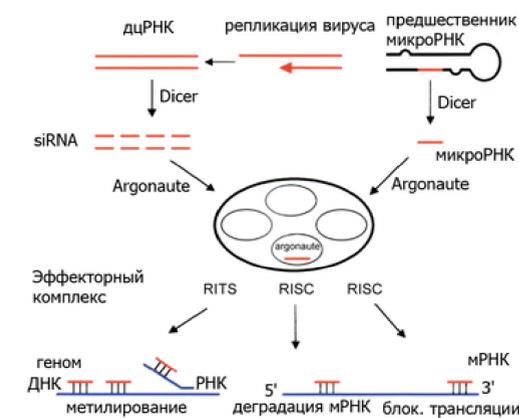


Рис. 1 Фермент Dicer разрезает двуцепочечную РНК. При этом образуются siRNA или microRNA. Эти процессированные РНК попадают в RNA-induced silencing complex (RISC), который разрушает mRNA и предотвращает трансляцию.

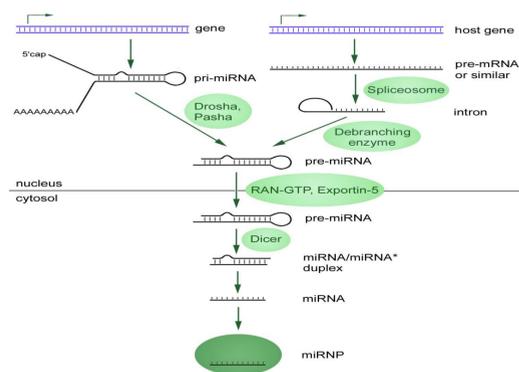


Рис. 2 Биогенез микроРНК

МикроРНК — это короткие некодирующие одноцепочечные РНК, состоящие в среднем из 22 нуклеотидов. Одна из важнейших внутриклеточных функций микроРНК — негативная регуляция экспрессии генов, осуществляемая путем связывания молекулы микроРНК с мРНК-мишенью по принципу комплементарности, что приводит к деградации мРНК или блокировке ее трансляции (рис.1).

МикроРНК образуются из более длинных молекул-сплик пред-микроРНК в результате обработки ферментами *Drosha* и *Dicer*, осуществляющими разрезание шпильки (рис.2). Неточность в позиции разреза приводит к появлению изоформ микроРНК, различающихся несколькими нуклеотидами на концах молекулы. Показано, что для многих микроРНК их каноническая форма экспрессирована значительно слабее, чем некоторая альтернативная изоформа. Крайне важно, что у различных изоформ одной микроРНК могут быть совершенно разные гены-мишени. Это объясняется тем, что наиболее важную роль при связывании с мРНК-мишенью играет участок микроРНК со 2 по 7 нуклеотид (seed-регион) на 5'-конце молекулы[1].

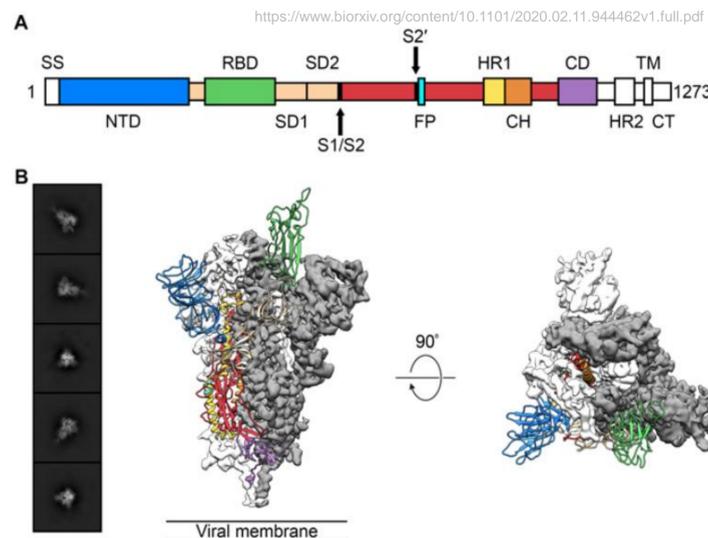


Рис. 3 Структура S-белка вируса SARS-CoV-2. Примечания: А — доменное строение молекулы S-белка вируса SARS-CoV-2: SS (signal sequence) — сигнальная последовательность; S1/S2, S2' — сайты расщепления протеазой; FP (fusion peptide) — пептид слияния; HR1 (heptad repeat 1) — гептадный повтор 1; CH (central helix) — центральная спираль; CD (connector domain) — коннекторный домен; HR2 (heptad repeat 2) — гептадный повтор 2; TM (transmembrane domain) — трансмембранный домен; CT (cytoplasmic tail) — цитоплазматический хвост. Стрелками обозначены сайты расщепления протеазой. Б — вид сбоку и сверху префузионной структуры S-белка вируса SARS-CoV-2 с одним RBD.

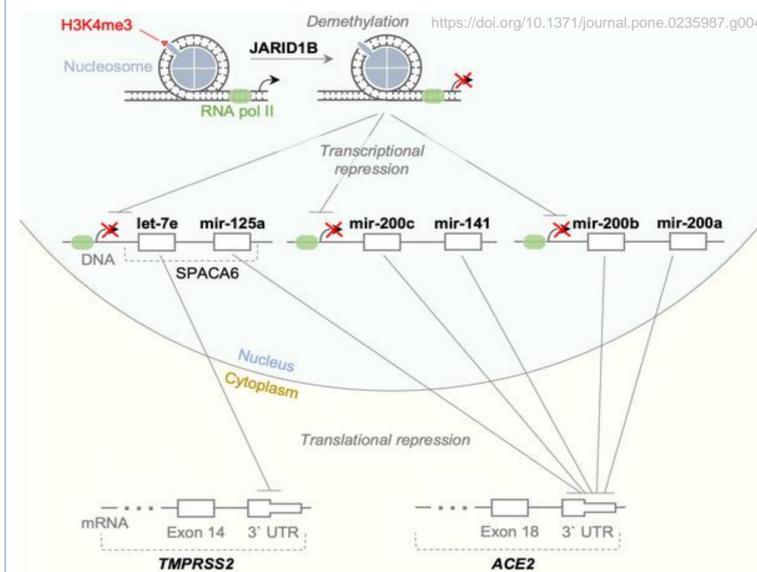


Рис. 4 Схема сети взаимодействия, состоящей из семейств микроРНК JARID1B, let-7e/miR-125a и miR-141/miR-200 и ферментов ACE2/TMPRSS2.

Связывание SARS-CoV-2 с рецептором

Основным рецептором клеток, с которым связывается шиповидный S-белок (spike protein) вируса SARS-CoV-2, был идентифицирован фермент **ACE2**. S- белок-шиповидный S-белок, закрепленный в оболочке коронавируса, представляет собой тримерный остроконечный гликопротеин, молекула которого состоит из трех доменов: эктодомена, домена мембранного якоря и короткого внутриклеточного хвоста (рис. 3). Эктодомен состоит из рецептор-связывающей субъединицы S1 и мембраносвязанной субъединицы S2. Рецептор-связывающая субъединица S1 содержит два независимых домена: N- (N-terminal domain — NTD) и C-терминальный домен (C-domain — CD). Домен CD S-белка вируса SARS-CoV-2 представляет собой рецептор-связывающий домен (receptor-binding domain — RBD), который распознает в качестве своего рецептора протеин ACE2. Необходимо отметить, что область RBD SARS-CoV-2 является основной мишенью для нейтрализующих антител[2]. Дальнейшее расщепление белка S сериновой протеазой 2 (**TMPRSS2**) для генерирования субъединиц S1 и S2 является критической стадией для слияния мембран и вирусной интернализации путем эндоцитоза с ACE2 в легочном эпителии. Предполагается, что большую вирулентность SARS-CoV-2 по сравнению с другими коронавирусами можно объяснить тем фактом, что взаимодействие белка S1 с ACE2 имеет заметно более сильную аффинность. Такой механизм попадания SARS-CoV-2 приводит к потере ACE2 на поверхности клетки, тем самым способствуя хронической потере легочной функции и усилению фиброза тканей[1].

Таргетная терапия

Перспективным в лечении COVID-19 может быть таргетная терапия с использованием микро-РНК (состоящей из семейств **микроРНК JARID1B, let-7e/miR-125a и miR-141/miR-200**) (рис.4). Противовирусное действие лекарственного средства может быть основано на механизме РНК-интерференции и включать специфическое распознавание геномных мишеней вируса с последующим привлечением собственных белковых комплексов клетки, разрушающих вирусный геном (и его мРНК-транскрипты) и тем самым нарушать процесс воспроизводства (репликации) вируса. Лекарственное средство может применяться для подавления репликации вируса SARS-CoV-2, снижения вирусной нагрузки, снижения риска передачи инфекции воздушно-капельным путем, облегчения симптомов COVID-19, связанных с репликацией вируса, и уменьшения риска развития вызванных вирусной инфекцией клинических осложнений[3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка лекарственных средств, содержащих специфичную для SARS-CoV-2 модифицированную микроРНК, с противовирусной активностью является сложной задачей.

Во-первых, должны быть идентифицированы последовательности микроРНК, которые являются высокоспецифичными, сводящими к минимуму потенциальные нецелевые эффекты и высокоэффективными в подавлении активности.

Во-вторых, должны быть разработаны эффективные и безопасные формы доставки для введения микроРНК в инфицированные клетки. В настоящее время известны изобретения для внутриклеточной доставки нуклеиновых кислот, в т.ч. микроРНК, путем трансфекции, на основе липидов, полимеров, катионных пептидов. Наиболее перспективными среди них являются дендримерные катионные пептиды, представляющие собой разветвленные трехмерные структуры с плотным гидрофобным ядром и внешним слоем положительно-заряженных групп (например, amino- или гуанидиновая группы). Наличие большого количества концевых катионных групп позволяет эффективно связывать и конденсировать нуклеиновые кислоты.

В-третьих, важно предотвратить деградацию микроРНК нуклеазами и избежать нежелательного воспаления/иммуностимуляции. При использовании микроРНК предпочтительно использование модификаций, повышающих эффективность молекул и их устойчивость к ферментативной деградации РНКазами. Введение подобных модификаций в олигонуклеотидную последовательность позволяет пролонгировать время нахождения микроРНК в биологических средах (сыворотка крови, слизистые оболочки, цитоплазма клетки и т.д.), что усиливает их биологический эффект.

Литература

- Нерсисян, С. А., Шкурников, М. Ю., Осипьянц, А. И., Вечорко, В. И. Роль регуляции генов АПФ2/TMPRSS2 изоформами микроРНК кишечника в патогенезе COVID-19 // Вестник РГМУ. 2020. №2. С. 17–20. DOI: 10.24075/vrgmu.2020.024.
- Абатуров А. Е. и др. Патогенез covid-19 //Здоровье ребенка. – 2020. – Т. 15. – №. 2. – С. 133-144.
- Хаитов М.Р., Шиловский И.П., Кожихова К.В., Кофиади И.А., Смирнов В.В., Колоскова О.О., Сергеев И.В., Трофимов Д.Ю., Трухин В.П., Скворцова В.И. Комбинированное лекарственное средство, обладающее противовирусным эффектом в отношении нового коронавируса SARS-CoV-2. Патент № 2746362 от 12.04.2021. Заявка № 2021106335 от 11.03.2021.