

©Коллектив авторов

СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ВЫСОКОПОЛИМЕРНЫХ ДВУСПИРАЛЬНЫХ РНК ДЛЯ ПРОТИВОВИРУСНОЙ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

Е.Д. Даниленко, А.О. Белкина, Г.М. Сысоева*

Институт медицинской биотехнологии Государственного научного центра
вирусологии и биотехнологии “Вектор”,
633010, Новосибирская область, Бердск, ул. Химзаводская, 9; *эл.почта: danilenko_ed@vector.nsc.ru

Обобщены представленные в литературных источниках результаты исследований, посвященных созданию лекарственных препаратов на основе природных и синтетических высокополимерных двуспиральных РНК (дсРНК), изучению их противовирусных, иммуноадаювантных и противоопухолевых свойств. Приведены сведения о рецепторах клеток, реагирующих на экзогенные дсРНК, путях реализации дсРНК-зависимой противовирусной реакции, способности дсРНК ингибировать рост и вызывать апоптоз малигнизированных клеток. Показано, что усиление врожденного иммунного ответа с помощью дсРНК может быть эффективной составляющей в улучшении способов лечения и профилактики инфекционных и онкологических заболеваний. Обсуждается вопрос о перспективах дальнейшего использования дсРНК для коррекции патологических процессов различного происхождения.

Ключевые слова: двуспиральные РНК; индукторы интерферона; иммуномодуляторы; противоопухолевые и противовирусные свойства

DOI: 10.18097/PBMC20196504277

ВВЕДЕНИЕ

Узнавание вирусных нуклеиновых кислот и индукция синтеза интерферонов – главные составляющие врождённого противовирусного иммунитета [1, 2]. Общеизвестно, что одним из важнейших медиаторов, обеспечивающих индукцию интерферона (IFN) в ответ на вирусную инфекцию, являются двуспиральные или двухцепочечные РНК (дсРНК). Вирусное заражение ассоциировано с появлением в клетке двуспиральных форм РНК, которые либо представляют собой собственно геном вируса, либо возникают в ходе вирусного репродуктивного цикла [3]. Первичный каскад ответных реакций организма на вирусное заражение и введение экзогенной дсРНК (узнавание, инициация внутриклеточных сигнальных путей) имеют много общего, что позволяет рассматривать дсРНК как регуляторы противовирусных реакций [1]. Однако дальнейшее углубленное изучение механизмов действия дсРНК показало, что функции их в организме более многообразны. В связи с этим интерес к дсРНК как субстанциям новых лекарственных средств для профилактики и лечения заболеваний инфекционной и неинфекционной природы не ослабевает уже многие годы. В данном обзоре обобщены сведения о современных направлениях фармацевтических разработок препаратов, действующим началом которых являются высокополимерные дсРНК.

Следует отметить, что в отличие от положения дел в 60-70-х годах прошлого столетия, когда были получены и охарактеризованы первые препараты дсРНК, в настоящее время довольно многое известно о взаимодействии дсРНК с клеткой

и внутриклеточной передаче сигнала. Установлено, что распознавание экзогенной/экстраклеточной дсРНК во внутриклеточном пространстве может осуществляться с помощью двух основных сенсорных систем [4-7]. Одну из них составляют рецепторы хорошо изученного семейства Толл-подобных рецепторов 3 типа (Toll-like receptor 3, TLR3) [8, 9]. Ко второй группе можно отнести цитоплазматические сенсорные факторы RIG-I/MDA-5/LGP2 семейства RIG-подобных рецепторов (RLR) [10-11]. Оба типа детектирующих систем способны индуцировать продукцию интерферонов I типа и провоспалительных цитокинов, однако пути такой активации различаются.

1. TLR3-ЗАВИСИМЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАСПОЗНАВАНИЯ дсРНК И ИНДУКЦИИ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ

В настоящее время известно, что TLR3 человека представляет собой трансмембранный рецептор типа I с молекулярной массой 125 кДа, который имеет несколько структурных доменов: внеклеточный или эктодомен (ECD), трансмембранный домен и цитоплазматический сигнальный домен [12]. Структурной основой взаимодействия TLR3 с дсРНК является внеклеточный вариативный домен. Эктодомен TLR3 имеет форму подковы, содержащей на N- и C-концах специализированные структуры – домены с обогащёнными лейцином повторами (Leucine-Rich Repeat, LRR). Трансмембранный домен состоит из единственной альфа-спирали. Цитоплазматический сигнальный домен содержит высококонсервативную последовательность из примерно 200 аминокислотных остатков, гомологичную внутриклеточному домену

рецептора IL-1 β , в связи с чем получившую название “Толл-интерлейкин-1 рецепторный (TIR) домен”. Этот сигнальный домен участвует во взаимодействии активированного рецептора с адаптерными компонентами внутриклеточных сигнальных путей.

В неактивном состоянии TLR3 представляет собой мономер, его активация происходит в результате димеризации в процессе связывания с молекулой дсРНК [13]. Анализ кристаллической структуры комплекса, состоящего из двух ECD TLR3 и дсРНК, показал, что каждый эктодомен связывает молекулы дсРНК в двух негликозилированных сайтах, расположенных на противоположных концах подковы TLR3 [12]. Несмотря на то, что связывание эктодомена рецептора с дсРНК довольно слабое, димерный комплекс отличается высокой устойчивостью, что обеспечивается межмолекулярным контактом в С-концевых доменах ECD TLR3.

Установлено, что способностью вызывать димеризацию TLR3 и индукцию сигнала обладают дсРНК длиной не менее 45-50 пар оснований (п. о.), что соответствует минимально возможному по пространственным соображениям расстоянию между сайтами связывания дсРНК с эктодоменами мономеров рецептора [12, 13]. Эта особенность обеспечивает распознавание рецептором только длинных дсРНК, появляющихся в клетке в результате вирусной инфекции, поскольку более короткие полирибонуклеотиды (тРНК, рРНК, микроРНК) не способны образовывать стабильные комплексы с ECD TLR3. Второй отличительной особенностью TLR3 является то, что связывание рецептора с лигандом происходит за счёт поверхностных взаимодействий (водородные связи, электростатическое взаимодействие) с сахаро-фосфатным остовом РНК, а не с индивидуальными нуклеотидными основаниями, и зависит лишь от вторичной структуры РНК [12]. Это объясняет универсальность лиганд-рецепторного взаимодействия – способность одного и того же рецептора связывать дсРНК разной первичной структуры. С другой стороны, есть данные о том, что TLR3 распознает такие специфические характеристики лиганда, как наличие или отсутствие гидроксила в 2'-положении β -D-рибозы, что позволяет различать молекулы дсРНК и ДНК [3, 12].

TLR3 экспрессируются в основном специализированными клетками иммунной системы, такими как макрофаги и дендритные клетки [14], а также встречаются на соматических клетках [15, 16]. В большинстве типов клеток TLR3 расположены внутри клеточных компартментов – на мембранах эндосом и лизосом, хотя некоторые клетки, такие, например, как эпителиоциты и фибробласты, экспрессируют его и на внешней плазматической мембране [17, 18]. При эндоцитозе материала, содержащего дсРНК, внутриклеточные TLR3 способны перемещаться с помощью белка UNC-93В от эндоплазматического ретикула к эндосомам, где приобретают функциональную готовность к узнаванию лигандов [19].

Связывание TLR3 с дсРНК, независимо от места локализации рецептора, сопровождается

его фосфорилированием и взаимодействием с адаптерным белком TRIF, который обеспечивает дальнейшую передачу сигнала, образуя промежуточные комплексы с регуляторными белками TRAF-3 (первый сигнальный путь) или TRAF-6/RIP1 (второй сигнальный путь) (рис. 1) [20-22].

В случае первого сигнального пути TRAF3 связывается с TANK (или родственными пептидами NAP1 и SINTBAD), которые, в свою очередь, взаимодействуют с киназами TBK-1 и/или IKK ϵ , активированные формы которых способны фосфорилировать IFN-регулирующие факторы 3 и 7 (IRF-3, IRF-7). В ядре фосфорилированные IRF связываются в области промоторов IFN с факторами NF- κ B и ATF-2/c-jun, следствием чего является привлечение кофакторов, РНК-полимеразы II и инициация транскрипции генов интерферона.

Индукция (в результате взаимодействия дсРНК с TLR3) второго сигнального пути через регуляторные молекулы TRAF-6/RIP1 приводит к повышению активности факторов транскрипции NF- κ B и AP-1 (рис. 1). Это обуславливает продукцию IFN и ряда провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18) [20, 23], участвующих в запуске и регуляции широкого спектра иммунных реакций.

Интерфероны, в свою очередь, индуцируют экспрессию генов белков, принимающих участие в реализации противовирусного ответа. Среди IFN-стимулируемых генов следует выделить гены таких ферментов, как 2'-5'-олигоденилатсинтетаза/РНКазы L (OAS/RNase L), продукты действия которых вызывают деградацию вновь синтезируемой в клетке матричной РНК, в том числе вирусной [24], а также ген протеинкиназы R (PKR), ингибирующей белковые синтезы [25, 26]. Большинство клеток синтезируют 2'-5'-OAS и PKR конститутивно, однако воздействие интерферонов в несколько раз повышает транскрипционную активность их генов. Механизмы активации OAS/RNase L и PKR, также как их биологические эффекты, в настоящее время подробно изучены [24, 25].

1.1. дсРНК-зависимая протеинкиназа

Установлено, что PKR является дсРНК-зависимой IFN-индуцируемой Ser/Thr протеинкиназой [26]. PKR содержится в клетке в нефосфорилированном состоянии, связана с рибосомами; небольшая часть PKR присутствует в ядре. Ключевым этапом активации протеинкиназы является связывание дсРНК с двумя структурно сходными N-концевыми мотивами молекулы фермента, dsRBM1 и dsRBM2, с её последующим аутофосфорилированием. После активации PKR фосфорилирует ряд белков, в том числе, альфа-субъединицу фактора эукариотической инициации 2 (eIF-2 α), что имеет важные последствия для клеточного цикла. Фосфорилированный eIF-2 α связывается с eIF-2B, результатом чего является ингибирование катализируемой eIF-2B реакции и синтеза белка (рис. 2) [27]. Помимо этого, PKR, активированная дсРНК, ингибирует пролиферацию различных типов клеток, индуцирует апоптоз [25].

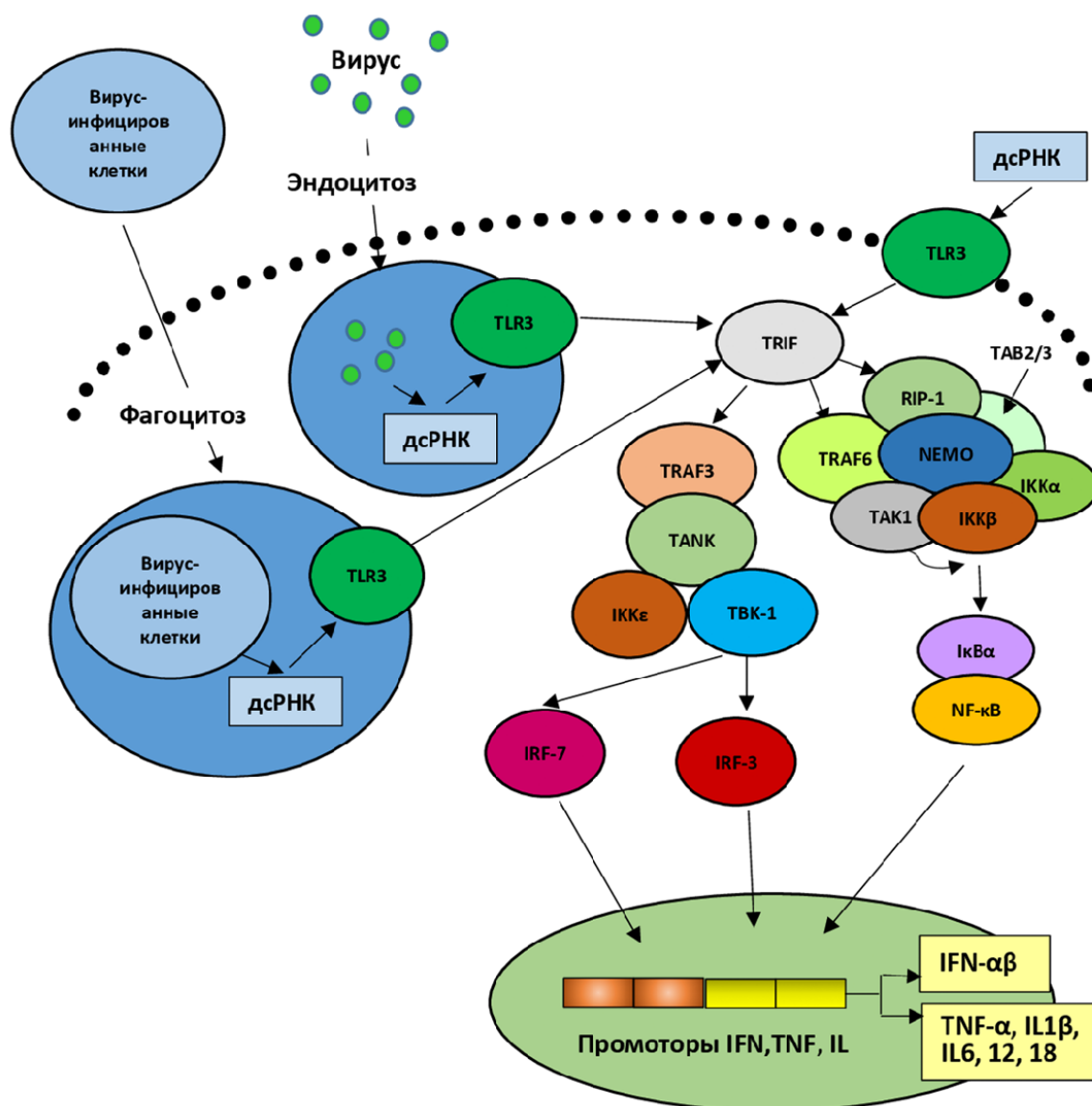


Рисунок 1. Индукция TLR3-зависимых сигнальных путей клетки в ответ на воздействие дсРНК. Связывание внеклеточной дсРНК либо дсРНК, поглощённой в процессе эндоцитоза или фагоцитоза, с рецептором TLR3 приводит к его фосфорилированию и связыванию с адаптерной молекулой TRIF, который, в свою очередь, служит платформой для сборки белков, участвующих в запуске сигнальных путей, приводящих к активации IRF-3 (7) либо NF-κB. В случае NF-κB сигнального пути активированный TRIF взаимодействует с молекулами TRAF6, который в результате олигомеризации приобретает убиквитин-Е3-лигазную активность, приводящую к убиквитинированию как самого TRAF6, так и белка RIP1. Последовательность полиубиквитина распознаётся TAK1-связывающими белками TAB2 и TAB3, которые способствуют присоединению к комплексу киназы TAK1. RIP1 с присоединенными молекулами убиквитина распознаётся NEMO, в результате чего комплекс IKK присоединяется к комплексу TRIF-RIP1-TRAF6-TAB-TAK1. TAK1 фосфорилирует субъединицу IKKβ комплекса IKK, способствуя её активации. Фосфорилированный IκBα связывается с убиквитином, и, как следствие, подвергается деградации в протеосомах с высвобождением фактора NF-κB, который мигрирует в ядро, где связывается с промотором IFN-β. Для активации IRF-3 (7) пути TRAF3 связывается с TANK (или пептидами NAP1 и SINTBAD), которые, в свою очередь, взаимодействуют с TBK-1 и/или IKKε, активированные формы которых способны фосфорилировать IRF-3. Аналогичным образом осуществляется активация фактора IRF-7. В ядре активированные IRF связываются в области промотора IFN-β с NF-κB и ATF-2/c-jun, следствием чего является привлечение кофакторов и РНК-полимеразы II, инициация транскрипции. TRIF-адаптор, содержащий Толл-интерлейкин-1-устойчивый домен, индуцирующий IFN-β (Toll-interleukin (IL)-1-resistance (TIR) domain-containing adaptor inducing IFN-β); IRF – регуляторный фактор интерферона (interferon regulatory factor); NF-κB – ядерный фактор κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells); TRAF6 – фактор 6, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей (TNF receptor-associated factor 6); RIP1 – киназа 1, взаимодействующая с рецепторами (receptor-interacting protein 1); NEMO – модификатор NF-κB (NF-κB essential modifier); IKK – киназа ингибитора ядерного фактора κB (inhibitor of nuclear factor κB kinase); TAK1 – активированная киназа 1 трансформирующего фактора роста β (transforming growth factor β-activated kinase 1). Адаптировано из [20].

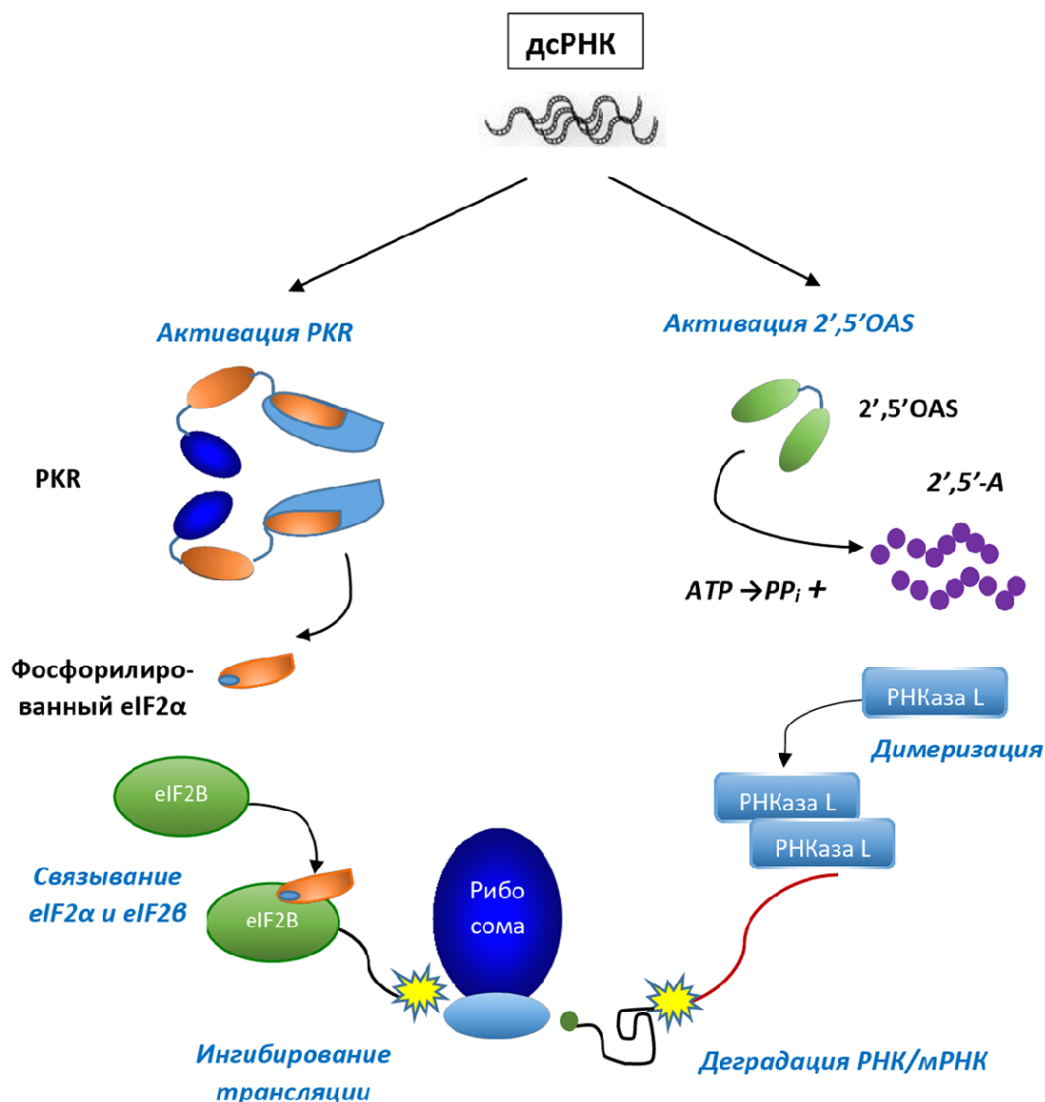


Рисунок 2. Биохимические механизмы индуцированной дсРНК ингибции трансляции и синтеза белков. Активированная дсРНК IFN-индуцированная протеинкиназа R (PKR) ингибирует трансляцию мРНК в результате фосфорилирования альфа-субъединицы эукариотического фактора инициации 2 (eukaryotic initiation factor 2, eIF-2α) и образования комплекса с eIF2B. Инициация активированной дсРНК 2'-5'-олигоаденилатсинтетазой (2'-5'OAS) синтеза из АТФ 2'-5'-олигоаденилатов приводит к димеризации РНКазы L и неспецифической дегградации РНК. Адаптировано из [27].

1.2. Каскад 2',5'-олигоаденилатсинтетазы/рибонуклеазы L (2',5'-OAS/RNase L)

OAS, подобно PKR, является IFN-индуцибельным ферментом, активность которого зависит от присутствия в клетке дсРНК. В отличие от PKR, OAS не имеет отдельного домена для связывания индуктора. дсРНК связывается в области положительно заряженной бороздки фермента, после изменения конформации которой активный центр OAS становится пространственно доступным. Активированный фермент катализирует полимеризацию АТФ с образованием ряда коротких моно-, ди-, три- и тетра-олигоаденилатов (2',5'-олигоА), которые взаимодействуют с RNase L, переводя её из неактивной мономерной формы в активный димер (рис. 2). RNase L, белок с молекулярной массой 83 кДа, состоит из трёх доменов: N-концевого регуляторного, содержащего девять анкирин-подобных

участков, протеинкиназоподобного и С-концевого РНКазного. Олигомеры 2'-5'А взаимодействуют с анкирин-подобными участками N-концевого домена RNase L. В результате комплексообразования молекула фермента претерпевает конформационные изменения, приводящие к её димеризации, а С-концевой рибонуклеазный домен приобретает каталитически активную форму. Разрушая мРНК на отдельные фрагменты, RNase L подавляет образование целостной РНК вирусов, что приводит к торможению как синтеза белков, так и сборки вирусных частиц [28, 29].

Таким образом, как 2',5'-олигоаденилатсинтетаза, так и PKR являются дсРНК-зависимыми ферментами и переходят в активное состояние лишь в присутствии дсРНК. Этот факт свидетельствует о важной роли дсРНК как маркеров вирусной инфекции и триггеров внутриклеточной противовирусной реакции.

2. СИСТЕМА ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ СЕНСОРНЫХ ФАКТОРОВ RIG-I/MDA-5/LGP2

Как уже упоминалось, в дополнение к TLR3 практически во всех типах клеток существует ещё одна система сенсоров дсРНК, которую относят к семейству RIG-подобных рецепторов [10, 30, 31]. RLR являются сложными белками с хорошо организованными сигнальными и функциональными доменами, с характерным механизмом аутоингибирования.

Белки RIG-I (ген 1, индуцируемый ретиноевой кислотой; *retinoic acid-inducible gene 1*) и MDA-5 (ген 5, ассоциированный с дифференцировкой меланомы; *melanoma differentiation-associated gene 5*) содержат на С-конце домен для распознавания РНК, в центральной части – DExD/H-геликазный домен и по два N-концевых CARD-домена (*caspase activation and recruitment domain*), которые способны связывать CARD-содержащие адаптеры, такие как Cardif/VISA/MAVS/IPS-1. Эти адаптерные белки, в свою очередь, служат платформой для сборки сигнальных белков, запускающих IRF-3- или NF-κB-сигнальные пути (рис. 1) [31-34].

Показано, что существует специфичность в распознавании дсРНК отдельными сенсорами этого семейства. Так, RIG-I распознаёт одноцепочечную РНК с двухцепочечным компонентом, содержащим концевой 5'-трифосфат, а также относительно короткие (в пределах от 21 до 27 нуклеотидов) дсРНК, образующиеся в результате действия активированной RNase L [6]. Поскольку частично комплементарные последовательности в 5' и 3' доменах, содержащие дсРНК с 5'-концевыми трифосфатами, характерны для структуры “panhandle” – двухцепочечного фрагмента генома РНК-вирусов с отрицательной цепью, этот механизм, по-видимому, обеспечивает специфичность узнавания вирусной дсРНК таких вирусов, как вирусы гриппа А, бешенства, кори, данной сенсорной молекулой [35-37].

В отличие от RIG-I, MDA-5 распознаёт относительно длинные (более 2 тыс. п.о.) дсРНК, в связи с чем является сенсором вирусов других типов, в частности, вируса энцефаломиокардита [35]. Предполагают, что MDA-5 является доминирующим цитоплазматическим рецептором для комплекса полиинозиновой и полицитидиловой кислот (PolyI:PolyC) [38].

До недавнего времени геликаза LGP2 (*laboratory of genetics and physiology 2*) считалась исключительно ингибирующим фактором этого семейства, препятствующим связыванию и активации RIG-I и MDA-5. Однако, не так давно несколькими исследовательскими группами было показано, что LGP2 может быть положительным регулятором RLR-индуцированного сигнала [39], который повышает эффективность распознавания вирусных дсРНК MDA-5 [40].

В последние годы появились сведения о том, что помимо описанных рецепторных систем, в клетках существуют и другие системы внутриклеточных сенсоров и сигнальных молекул, взаимодействующих с дсРНК, особенности связывания с лигандами

и биологическая роль которых пока до конца не выяснены. К ним можно отнести:

- семейство NLRs (*NOD-like receptor, nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors*). NLR локализованы внутриклеточно и экспрессируются многими типами клеток – от иммунцитов до эпителиоцитов. С рецептором NOD связывают индукцию апоптоза при гриппозной инфекции [41];
- рецепторы внеклеточных дсРНК – SR-as (скэвенджер рецепторы класса А), обеспечивающие проникновение дсРНК в клетку, взаимодействие с внутриклеточными сенсорами и синтез IFN I типа [42, 43].

Таким образом, действие дсРНК на клетку реализуется с участием нескольких рецепторных систем, специфичных в части распознавания дсРНК. Многообразие рецепторов обеспечивает надежность идентификации чужеродных двуспиральных структур и их дифференцирование от собственных РНК клетки. В конечном итоге, индукция внутриклеточных сигнальных путей приводит к экспрессии генов цитокинов, прежде всего, IFN, и активации дсРНК-связывающих белков-ферментов, ключевых элементов противовирусной реакции.

Способность дсРНК индуцировать синтез IFN и других цитокинов лежит в основе многообразия их иммуномодулирующих свойств. Показано, что дсРНК вызывают повышение поглотительной, метаболической и бактерицидной активности клеток-фагоцитов (макрофаги, нейтрофилы), активности натуральных киллеров, а также созревание и активацию дендритных клеток, что, в свою очередь, приводит к активации CD8+ и CD4+ Т-клеток [44]. Таким образом, дсРНК играют роль своеобразных функциональных линкеров между системами врожденного и приобретенного иммунитета, обеспечивающими быструю и продуктивную защитную реакцию на инфекционное воздействие.

Другим важным аспектом воздействия дсРНК на клетку является регуляция процессов клеточной пролиферации и апоптоза. В настоящее время известно, что апоптоз инфицированных клеток происходит при активации различных дсРНК-зависимых путей [45], при этом основным механизмом его реализации является активация каспаз [46].

Описанные эффекты дсРНК реализуются не только в инфицированных клетках, но и в клетках, подвергшихся злокачественной трансформации. Как было показано на нескольких клеточных линиях мыши и человека, агонисты TLR3 ингибируют рост опухолевых клеток через два основных механизма: подавление пролиферации и индукцию апоптотической гибели [45]. Помимо этого, дсРНК способны оказывать влияние на клетки иммунной системы, индуцируя противоопухолевые иммунные реакции. Стимуляция антигенпредставляющих дендритных клеток под действием дсРНК приводит к активации натуральных киллеров и цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов и, как следствие, гибели опухолевых клеток [47, 48]. Помимо этого, описана трансформация под действием

дсРНК фенотипа миелоидных супрессорных клеток и опухоль-ассоциированных макрофагов, приводящая к повышению их противоопухолевой активности [45, 49].

Таким образом, дсРНК в силу того, что являются агонистами нескольких типов внутриклеточных рецепторов и сенсоров, ответственных за систему “экстренного реагирования”, выполняют важную функцию её активации. Клиническое применение экзогенных дсРНК направлено на использование этих эволюционно сформированных механизмов индукции и активации цитокинов, ферментов и ряда других клеточных белков, принимающих участие в развитии противовирусной и противоопухолевой реакции, в терапевтических целях.

3. дсРНК КАК СУБСТАНЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Высокополимерные дсРНК, привлекательные с точки зрения их терапевтического потенциала, можно разделить на два типа: природные и синтетические.

Источниками природных дсРНК, помимо РНК-содержащих вирусов, вызывающих заболевания человека и животных, могут быть вирусы насекомых [50], растений и микроорганизмов [51], элементы дсРНК содержат некоторые грибы [52]. На основе дсРНК данного типа разработаны и разрешены к применению в клинической практике препараты Ридостин и Ларифан.

Ридостин – препарат дсРНК, выделенной из вирусоподобных частиц киллерного штамма *Saccharomyces cerevisiae* в виде двух индивидуальных форм, L и M (4,6 тыс. п.о. и 1,8-1,6 тыс. п.о., соответственно) [52]. Он разработан в Государственном научном центре вирусологии и биотехнологии (ГНЦ ВБ) “Вектор” (Россия). Высокоэффективное противовирусное средство, индуктор IFN и иммуномодулятор, применяется для лечения гриппа, герпеса, хламидиоза. Имеются данные о способности Ридостина повышать эффективность противоопухолевой терапии [53].

Ларифан (“Ларифан”, Латвия) – препарат, содержащий репликативную форму дсРНК бактериофага f2, полученную из культуры *Escherichia coli*, инфицированной фагом. На основе фаговой дсРНК разработано несколько лекарственных форм: инъекционная форма Ларифана, противовирусный и иммуностимулирующий препарат, обладающий противоопухолевой активностью; мазь и суппозитории Ларифана [54].

Сведения о разработке препаратов на основе других природных дсРНК немногочисленны. В качестве примера можно упомянуть дсРНК бактериофага ф6, выделенную из инфицированной культуры *Pseudomonas phaseolicola* и представляющую собой смесь дсРНК разной длины: 6,3 тыс. п.о.; 4,0 тыс. п.о. и 2,9 тыс. п.о. (L-, M- и S-формы, соответственно). В серии экспериментальных работ было показано, что фаговая дсРНК проявляет высокую IFN-индуцирующую и противовирусную активность в отношении вирусов омской геморрагической

лихорадки и гриппа A/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) [55-57].

Другим типом высокополимерных дсРНК, которые широко используются в фармацевтических разработках, являются синтетические дсРНК. История синтетических двуспиральных полирибонуклеотидных комплексов началась в 1955 г., когда Grunberg-Manago и Ochoa показали, что фермент полинуклеотидфосфорилаза (PNPase; КФ 2.7.7.8) из *Azotobacter vinelandii* в присутствии Mg^{2+} способна катализировать реакцию синтеза полинуклеотидов определённой структуры длиной до 2-2,7 тыс. п.о. из рибонуклеозиддифосфатов с высвобождением стехиометрических количеств ортофосфата [58]. В дальнейшем из комплементарных полирибонуклеотидов отжигом были получены двухцепочечные комплексы. Разработка простых методов синтеза высокополимерных дсРНК открыла возможность наработки их в достаточных количествах для исследования и создания на их основе лекарственных препаратов.

В серии работ Вильнера с соавт. [59, 60] было показано, что противовирусная активность синтетических полирибонуклеотидов существенным образом зависела от длины полимера, что, как теперь понятно, определяется спецификой рецепторного связывания. На основании результатов биологического тестирования среди двуспиральных полирибонуклеотидных комплексов разной структуры для дальнейших работ были выбраны три – PolyA:PolyU, PolyG:PolyC и PolyI:PolyC, – отличающиеся наиболее выраженной IFN-индуцирующей и противовирусной активностью.

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что PolyA:PolyU подавляет репродукцию вирусов герпеса, репродуктивно-респираторного синдрома, трансмиссивного гастроэнтерита и африканской чумы свиней [61, 62], является активным индуктором IFN, хотя его способность усиливать интерферогенез и повышать выживаемость мышей при экспериментальных вирусных инфекциях несколько уступает препаратам PolyG:PolyC и PolyI:PolyC [61].

В настоящее время на основе PolyA:PolyU создан и зарегистрирован в качестве лекарственного средства препарат Полудан (“Лэнс-Фарм”, Россия). Препарат применяется в виде глазных и назальных капель при вирусных заболеваниях глаз (аденовирусные и герпетические кератоконъюнктивиты, кератиты, кератоиридоциклиты и др.), в комплексной терапии гриппа и других острых респираторных инфекций.

Есть данные о клинических испытаниях зарубежного аналога препарата Полудан Polyadenur (PolyA:PolyU с мол. массой от 250 до 1500 кДа), разработанного фирмой “Beaufour Ipsen” (Франция) совместно с “Hemispherx Biopharma” (США), в качестве компонента комплексной терапии (совместно с IFN-α) гепатитов В и С, лечения рака молочной железы [63-65].

По классификации, предложенной Ершовым с соавт., препараты PolyG:PolyC и PolyI:PolyC относятся к высокоактивным индукторам IFN (титры IFN на пике ответа более 1000 ед./мл) с выраженной противовирусной активностью [61].

Исследования двуспирального комплекса полирибогуаниловой и полирибocитидиловой кислот (PolyG:PolyC, Полигуацил), проведённые в 70-80-х гг., показали, что препарат обладает широким спектром противовирусной активности и может быть эффективен в острой фазе вирусных гепатитов и энцефалитов, для лечения гриппа, бешенства [61, 66]. Однако ряд существенных недостатков, таких как неопределённость химической структуры, недостаточная гомогенность и, как следствие, непредсказуемая фармакокинетика и токсичность Полигуацила стали препятствием для его клинического применения [46, 67].

В 2013 г. группой исследователей из фирмы “Riboxx GmbH” (Германия) для преодоления этих недостатков был разработан модифицированный метод получения PolyG:PolyC. Новый препарат RGC100 отличался строго определённой длиной (100 п.о.) и химической структурой, хорошей растворимостью и выраженной иммуномодулирующей активностью, в частности, способностью вызывать активацию дендритных клеток и пролиферацию Т-клеток [46].

Дальнейшее усовершенствование RGC100 привело к появлению препарата RGIC100 – Poly(GI):PolyC, одна цепь которого представляет собой PolyC, а комплементарная цепь содержит G и I в случайных сочетаниях в количествах от 1 до n-1, где n – общее количество нуклеотидов в комплементарной цепи. Фармацевтическая композиция содержит в виде активного компонента Poly(GI):PolyC длиной не менее 45 п.о. в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителями, наполнителями и/или растворителями. Как полагают авторы патента [68], Poly(GI):PolyC может применяться для активации врождённого иммунитета, профилактики и терапии инфекционных и опухолевых заболеваний.

Интересно отметить, что, несмотря на сравнимый уровень противовирусной активности и менее выраженные токсические свойства комплекса PolyG:PolyC [61, 69], до недавнего времени более интенсивно в мировой фармацевтической практике развивалось направление по созданию лекарственных препаратов на основе комплекса полирибоинозиновой и полирибocитидиловой кислот PolyI:PolyC. Одна из причин такого выбора, скорее всего, заключается в технологических проблемах получения PolyG [58, 70], хотя возможны и другие причины, в частности, различия в широте и выраженности иммуномодулирующего действия этих комплексов.

Исследования биологических свойств PolyI:PolyC, начатые еще в 70-х годах прошлого века, показали, что препарат является мощным активатором врождённого иммунитета, индуктором апоптоза опухолевых клеток [44]. Многообещающие результаты были получены в ходе клинических исследований PolyI:PolyC как средства терапии сезонного гриппа [71], а также лечения злокачественных опухолей разных локализаций у взрослых и детей [72-74].

В настоящее время на стадии клинических испытаний находится улучшенная форма PolyI:PolyC, препарат Ampligen. Ampligen (PolyI:PolyC12U) – двуспиральный комплекс полирибоинозиновой кислоты и сополимера цитидиловой и уридиловой кислот (с соотношением C:U, равным 12:1) и длиной от 500 п.о. до 2000 п.о. (“Hemispherx Biopharma, Inc.”, США) [75]. Он является индуктором IFN с заметно сниженной частотой неблагоприятных эффектов по сравнению с исходным соединением. В базе данных ClinicalTrials.gov зарегистрировано 16 видов клинических испытаний данного препарата. Эффективность препарата Ampligen продемонстрирована в рамках комбинированной терапии синдромов хронической усталости и приобретённого иммунодефицита (СПИДа). В настоящее время препарат одобрен в Аргентине для лечения тяжёлых случаев миалгического энцефаломиелита/синдрома хронической усталости [76].

В 2014 году авторы препарата Ampligen создали его усовершенствованную форму PolyI:PolyC30U [75, 77]. В отличие от Ampligen, новый препарат характеризуется более высоким содержанием C по отношению к U (30:1), в связи с чем обладает сниженной способностью к образованию разветвлённой дсРНК и, как следствие, более активно связывается с TLR3.

Одной из актуальных проблем при разработке и производстве синтетических полирибонуклеотидов является стандартизация их структуры. В связи с этим Nakano с соавт. в 2018 году был разработан новый метод получения PolyI:PolyC строго определённой длины в промышленном масштабе [78]. Предотвращение неконтролируемого увеличения длины полирибонуклеотида в процессе отжига, по предложению авторов работы, достигалось смешиванием нескольких коротких молекул PolyI (0,1 тыс. п.о.) с одной длинной молекулой PolyC (0,4 тыс. п.о.) (рис. 3). Использование этого

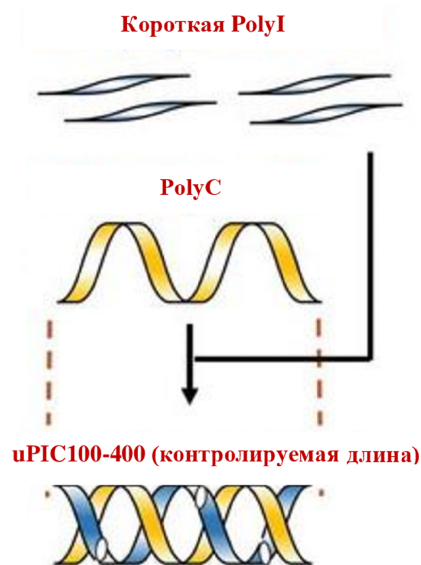


Рисунок 3. Схема получения двухцепочечного комплекса PolyI:PolyC - uPIC100-400 с контролируемой нуклеотидной длиной. Адаптировано из [78].

метода позволило получить препарат uPIC100-400 заданной длины, который отличался более высокой стабильностью при хранении по сравнению с исходной PolyI:PolyC [78].

Иными словами, препараты природных и синтетических дсРНК уже нашли свое место в клинической практике в качестве противовирусных и противоопухолевых терапевтических средств. Среди современных направлений фармацевтических разработок можно выделить два наиболее активно развивающихся: совершенствование лекарственных форм дсРНК для повышения эффективности действующего начала и расширение сферы применения препаратов.

4. СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В ОБЛАСТИ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ дсРНК

Широкому клиническому применению препаратов дсРНК нередко препятствуют их нестабильность в биологических средах, высокий уровень эффективных доз и побочные эффекты. В литературных источниках представлен обширный материал, касающийся исследований, направленных на повышение эффективности дсРНК, таких как получение композиций с препаратами, способными усилить действие основного вещества или ослабить побочные эффекты; препаратов на полимерных носителях и в средствах адресной доставки [79-81].

Для улучшения проникновения нуклеиновых кислот в клетку нередко используют катионные полимеры. Как известно, отрицательные заряды нуклеиновых кислот препятствуют их взаимодействию с отрицательно заряженной клеточной поверхностью. При связывании нуклеиновых кислот с поликатионами происходит нейтрализация заряда и уменьшение размера молекул, что способствует их трансфекции в клетки. Наиболее известным из препаратов дсРНК, стабилизированных полимерами, является препарат Hiltonol.

Hiltonol (PolyI:PolyC, стабилизированная поли L-лизином и карбоксиметилцеллюлозой – Poly ICLC), разработан компанией “Oncovir” (США) [82]. Poly ICLC характеризуется повышенной устойчивостью к гидролизу. Индуцирует синтез IFN, оказывает модулирующее действие на клетки иммунной системы, включая активацию Т-клеток, натуральных киллеров и дендритных клеток, синтез цитокинов (интерлейкинов, TNF- α) и кортикостероидов, отличается сниженной по сравнению с аналогами, токсичностью, что позволяет использовать более высокие дозы препарата для лечения запущенных неоперабельных случаев рака [83]. В Базе данных ClinicalTrials.gov зарегистрировано 97 клинических испытаний препарата Hiltonol для лечения онкологических заболеваний различной локализации, гриппа, тяжёлого острого респираторного синдрома (SARS) и других вирусных заболеваний [76]. Hiltonol является привлекательным потенциальным средством лечения геморрагической лихорадки Эбола [84].

Другим вариантом катионного средства доставки являются липосомы. Wong с соавт. показали, что препарат PolyICLC, инкапсулированный в катионные липосомы, при интраназальном введении мышам до заражения летальной дозой вируса гриппа типа А обеспечивал более высокий уровень защиты по сравнению с неинкапсулированным [85]. На мышах, инфицированных вирусом Денге, установлено, что препарат PolyICLC в составе липосом усиливал противовирусные реакции, главным образом, путём повышения экспрессии цитокинов, в частности, IFN- α [86]. Липосомы, как известно, могут быть конъюгированы с антителами, белками и другими лигандами, что обеспечивает возможность их целевой доставки. Например, были получены липосомы, содержащие PolyI:PolyC и фузогенный белок F вируса Sendai в липидном бислое, которые “нацеливались” на клетки-мишени с помощью моноклональных антител, связанных с липосомами через белок А из *Staphylococcus aureus* [87]. Было показано, что иммунолипосомы обеспечивали достаточный уровень интернализации PolyI:PolyC для индукции противовирусной реакции.

Композиция, содержащая дрожжевую дсРНК (активный компонент препарата Ридостин) и полимер поливинилпирролидон, обладала более продолжительным, по сравнению с исходным препаратом, активирующим действием на систему неспецифической резистентности и сниженной токсичностью [81].

В последние годы для доставки нуклеиновых кислот активно разрабатываются транспортные системы на основе полиэтиленимина (PEI). PEI-полиплексы обеспечивают более высокий уровень трансфекции и защиту РНК от действия нуклеаз по сравнению с другими поликатионами, что связано с высокой плотностью зарядов на PEI, способствующей конденсации нуклеиновых кислот в более компактные комплексы. Для снижения токсических свойств PEI в составе полиплексов модифицируют PEG. Исследование таких конструкций, содержащих PolyI:PolyC и эпидермальный фактор роста, показало, что иммобилизованные дсРНК в высоких концентрациях накапливались в ткани опухоли и вызвали регрессию глиобластомы U87MGwetEGFR, аденокарциномы A431 и рака молочной железы MDA-MB-468 [88].

Полисахариды издавна находят широкое применение в фармакологии, в частности, как вспомогательные вещества при приготовлении лекарственных форм [89]. На основе дрожжевых дсРНК и полиглобулина (декстран с мол. массой 50-60 кДа) был создан препарат Ридостин Форте, индуктор IFN раннего типа, отличающийся высокой IFN-индуцирующей и противовирусной активностью [90]. Благодаря своей низкой токсичности, высокой сорбционной способности, бактерицидности, биосовместимости и биodeградируемости широко используется при создании лекарств и другой полисахарид – хитозан [91].

Интересным аспектом разработки способов доставки лекарственных препаратов в кость является

использование бисфосфонатов, синтетических аналогов природных пирофосфатов. Бисфосфонаты отличаются высокой аффинностью к апатитовым структурам костей и противоопухолевым действием. Для обеспечения внутриклеточной доставки PolyI:PolyC и бисфосфоната золедроновой кислоты (ZOL) Chen с соавт. [92] были получены наночастицы фосфата кальция, покрытые катионным липидом (LCP), и показано, что LCP, нагруженные PolyI:PolyC и ZOL, проявляли значительно более высокую противоопухолевую активность в отношении клеток меланомы B16BL6, чем препараты PolyI:PolyC и ZOL, не связанные с носителем. Синергизм противоопухолевого действия PolyI:PolyC и ZOL в составе LCP был продемонстрирован также *in vivo* на мышах с перевиваемой меланомой B16BL6.

В настоящее время разрабатываются и системы доставки дсРНК на основе неорганических молекул. Так, наночастицы оксида железа, использованные авторами работы [93] для доставки PolyI:PolyC в лимфоузлы, приводили к значительному повышению иммунного ответа. Иммунизация мышей кальций-фосфатными частицами, содержащими PolyI:PolyC и динуклеотид CpG, способствовала их интенсивному захвату дендритными клетками, что сопровождалось экспансией патоген-специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов [94].

Ещё одним способом улучшения терапевтических свойств дсРНК является разработка лекарственных форм для непарентерального применения, что особенно привлекательно в случае лечения инфекционных заболеваний, для которых слизистые являются так называемыми “воротами инфекции”. McNally с соавт. [95] показано, что однократное интраназальное введение PolyI:PolyC мышам индуцирует локальную продукцию Th1-хемокинов в лёгких и верхних дыхательных путях, генерирует устойчивую миграцию в дыхательные пути Т-лимфоцитов. Наблюдаемые эффекты зависели от длины дсРНК. Авторами другого исследования [96] было установлено, что введение липосом с PolyICLC интраназально до или вскоре после заражения мышей вирусом гриппа А/Н5N1 позволяет ингибировать репликацию вируса, что приводит к снижению его титров в лёгких, повышению уровня специфического гуморального и клеточного иммунного ответов и выживаемости инфицированных животных. Помимо этого, липосомальная PolyICLC препятствовала развитию лёгочного фиброза, серьёзного осложнения инфекции.

5. ПРЕПАРАТЫ дсРНК КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АДЬЮВАНТЫ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН

Серией экспериментальных и клинических исследований установлено, что дсРНК может быть использована в качестве адъюванта для модуляции и оптимизации антиген-специфического иммунного ответа. Оценка параметров врожденного иммунного ответа после введения добровольцам PolyI:PolyC, стабилизированной поли L-лизинном и карбоксиметилцеллюлозой (PolyICLC), показала,

что введение препарата вызывает формирование иммунных реакций, аналогичных тем, которые наблюдаются после иммунизации вакциной против жёлтой лихорадки, и, следовательно, препарат может быть использован для усиления иммуногенности вакцины [97].

Martins с соавт. [98] исследовали влияние PolyICLC на эффективность вакцинации мышей, морских свинок и приматов вирусоподобной (virus-like, VLP) вакциной против филовирюсов. В ходе этих работ было показано, что введение PolyICLC приводило к повышению уровня TNF- α , IL-6 и хемокинов, активации дендритных клеток (DC), натуральных киллеров и В-клеток. Препарат вызывал усиление антиген-специфического CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеточного ответа, увеличение продукции антител и повышение уровня защиты при вирусном заражении.

Совместное введение PolyI:PolyC, липотейхоевой кислоты и CL097 (лиганд к TLR7/8, имидазохинолиновое соединение с высокой антивирусной активностью) с инактивированной вакциной против вируса репродуктивного и респираторного синдрома свиней обеспечивало высокий уровень защиты против инфекции [99]. Повышение клеточного иммунного ответа обнаружено у морских свинок, иммунизированных VLP – вакциной против вируса ящура в сочетании с PolyI:PolyC [100].

Достоверная защита мышей от вируса клещевого энцефалита отмечена после вакцинации специфической инактивированной вакциной против клещевого энцефалита Энцевир в сочетании с препаратом Ридостин [101]. Ридостин повышал и протективные свойства слабоиммуногенных вакцин против туберкулеза и мыта лошадей [102].

Одним из активно развивающихся направлений в процессе конструирования современных вакцин является разработка дизайна микроносителей для доставки антигенов в комплексе с иммуноадьювантами к антиген-представляющим клеткам (АПК). В качестве кандидатных адьювантов в этих системах используются и TLR3-лиганды, в частности, PolyI:PolyC. Особенностью адьювантов такого типа является их способность активировать не только “профессиональные” АПК (дендритные клетки, макрофаги), но и неиммунные клетки (эпителиальные клетки, клетки эндотелия, фибробласты), результатом чего может быть развитие аутоиммунных реакций или хронического воспаления. Для того, чтобы избежать подобных нежелательных реакций, Hafner с соавт. была предложена оригинальная система доставки PolyI:PolyC [103]. Микроноситель представляет собой отрицательно заряженные полистирольные микросферы, оснащённые “коронай” из полиэтиленгликоля (PEG), которую формировали с помощью электростатического покрытия поликатионными сополимерами на основе poly(L-lysine)-graft-poly(ethylene glycol). В экспериментах на первичной культуре моноцитов периферической крови было показано, что PolyI:PolyC, адсорбированная на поверхности микросфер, вызывала активацию моноцитарных

дендритных клеток [103]. При этом препарат не оказывал влияния на экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости I типа или секрецию IL-6 фибробластами кожи человека и ослаблял их фагоцитарную активность, что свидетельствует об отсутствии у адсорбированной PolyI:PolyC способности индуцировать побочные воспалительные реакции [104].

Особый интерес, как и в случае терапевтических лекарственных средств, представляет использование непарентеральных способов введения дсРНК в качестве адъюванта. Так, в работе [105] установлено, что обработка слизистой носовой полости мышей PolyI:PolyC вскоре после вакцинации живыми аттенуированными вакцинами против гриппа усиливает функциональную активность дендритных клеток респираторного тракта, формирование CD8⁺ Т-клеток и продукцию нейтрализующих антител.

Kim с соавт. [106] обнаружили увеличение продукции антигенспецифических сывороточных IgG и мукозальных IgA в ответ на трёхвалентную гемагглютинин-субъединичную вакцину или расщеплённый H1N1 вакцинный антиген после введения с PolyI:PolyC в составе глазных капель мышам. При этом в месте введения не наблюдалось увеличения экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и инфильтрации мононуклеарными клетками, что свидетельствует об отсутствии у препарата побочного эффекта в виде локальной воспалительной реакции.

Оригинальная платформа для улучшения созданных на основе мРНК вакцин была разработана авторами работы [107]. Суть разработки заключается в следующем. Эукариотическую мРНК с polyA-хвостом, который образуется в результате процессинга мРНК, гибридизовали с PolyU. При этом гибридизация не отражалась на эффективности трансляции мРНК, а двуспиральный участок mRNA:PolyU обладал иммуностимулирующим действием. Активация дендритных клеток мыши и человека под действием mRNA:PolyU была в 10-100 раз более эффективной, чем в случае одноцепочечной мРНК [107]. Исследование механизмов иммуностимуляции, проведённое на клеточной культуре HEK293, отличающейся высоким уровнем экспрессии TLR3, и RAW264.7, нокаутной по рецепторам MDA-5 и RIG-I, показало, что иммунный ответ на мРНК, гибридизованные с PolyU, был опосредован TLR3 и RIG-I [107].

Таким образом, использование препаратов дсРНК в качестве адъювантов вакцин позволяет повысить их протективность. В основе адъювантной активности дсРНК, по-видимому, лежит способность изменять баланс цитокинов и модулировать активность клеток, опосредующих специфический и неспецифический иммунный ответ.

6. ПРЕПАРАТЫ дсРНК КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СРЕДСТВА

Несмотря на то, что TLR3 был впервые идентифицирован в клетках иммунной системы,

более поздними исследованиями было показано, что он экспрессируется и малигнизированными клетками. Противоопухолевые эффекты агониста TLR3 PolyI:PolyC продемонстрированы на широком спектре клеточных линий опухолевых клеток мыши и человека. Например, есть сведения о том, что внутриклеточная доставка липосомального PolyI:PolyC в клетки аденокарциномы желудка человека AGS вызывала индукцию апоптоза опухолевых клеток *in vitro* и значительно ингибировала рост ксенотрансплантата у мышей *nude* [108].

Аналогичные результаты были получены Chen с соавт. [109], которые показали, что трансфекция PolyI:PolyC в клетки рака шейки матки HeLa вызывала индукцию синтеза IFN- β , образование активных радикалов кислорода, приводила к повреждению ДНК, активации каспаз 3 и 9, и, как следствие – к апоптозу.

Антипролиферативный, цитотоксический и апоптогенный эффекты PolyI:PolyC наблюдали в экспериментах на низкодифференцированных клеточных линиях рака мочевого пузыря человека MGH-U3 и RT4 [110]. Препарат провоцировал остановку клеточного цикла клетками MGH-U3 на стадии перехода от G1 к S-фазе и усиливал иммуногенность обеих клеточных линий, повышая экспрессию на их поверхности молекул МНС I и секрецию провоспалительных цитокинов IL-8 и IL-6 [110]. Способность PolyI:PolyC индуцировать апоптоз клеток рака предстательной железы была продемонстрирована на клеточных линиях, полученных на основе костных и внутримозговых метастазов опухоли человека, при этом эффект был более выраженным в отношении андроген-зависимой линии LNCaP [111]. Есть немало сообщений об апоптогенных эффектах PolyI:PolyC в отношении опухолей и других гистотипов, таких, как опухоли молочной железы, головы и шеи, почек, толстой кишки, лёгких [112].

Исследования, проведённые на клетках секционного материала меланомы человека, показали, что апоптогенные эффекты дсРНК могут усиливаться при сочетанном применении с цитокинами, такими как IFN- α или IL-27 [113, 114].

Несмотря на наличие у препаратов дсРНК собственной противоопухолевой активности, они чаще исследуются в качестве синергистов и адъювантов для усиления действия специфических терапевтических агентов и вакцин. Так, в работе Ayarí с соавт. [110] было показано, что комбинация PolyI:PolyC с вакциной против туберкулёза на основе *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) усиливала противоопухолевый эффект BCG в отношении трансплантатов опухоли рака мочевого пузыря у мышей MBT-2. Аналогичные результаты были получены авторами работы [115], которые считают, что совместное применение BCG с PolyI:PolyC и IFN- α может быть новым методом повышения эффективности иммунотерапии рака мочевого пузыря.

Группой исследователей [116] разработана система доставки PolyI:PolyC для усиления противоопухолевого иммунного ответа на пептид P5, содержащий множественные эпитопы гликопептида HER2/Neu, характерного для опухолевых клеток. Пептид P5 был инкапсулирован в катионные нанолипосомы, состоящие из модифицированного холестерина (1,2-dioleoyl-3-trimethylammoniumpropane-cholesterol), которые содержали либо не содержали PolyI:PolyC. В группах мышей, иммунизированных липосомами, несущими белок P5 и PolyI:PolyC, также как липосомами, содержащими только PolyI:PolyC, наблюдали более значительный уровень секреции спленоцитами IFN- γ и увеличение числа CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ Т-клеток в сравнении с другими группами. Наиболее выраженное ингибирование роста экспериментальной опухоли TUBO с высоким уровнем экспрессии rHER2/neu в течение всего эксперимента (90 дней) было отмечено при воздействии липосом, содержащих P5 и PolyI:PolyC. Это свидетельствует о том, что комбинация PolyI:PolyC и липосом с опухолевым антигеном способна индуцировать противоопухолевый иммунный ответ и без применения дополнительных Т-хелперных эпитопов.

Внутриопухолевое введение плазмиды, несущей ген белка апоптоина, с PolyI:PolyC не только значительно ингибировало рост опухоли молочной железы мыши 4T1, но и индуцировало мощный противоопухолевый иммунный ответ, о чём свидетельствует увеличение количества CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ Т-лимфоцитов, повышенная секреция в кровь цитокинов (IFN- γ , IL-2) и инфильтрация иммунными клетками опухолевой ткани [117, 118]. Аналогичные данные были получены теми же авторами при использовании PolyI:PolyC совместно с белком собачьего парвовируса NS1 (CPV2.NS1) [117, 118].

Известно, что более 90% распространённых солидных опухолей и многие гемобластозы, такие как лимфома, лейкемия и множественная миелома, экспрессируют гликопептид муцин 1 (MUC1). Однако полностью синтетические гликопептидные противоопухолевые вакцины, созданные на основе этого гликопептида, отличаются низкой иммуногенностью. В работе Glaftig с соавт. [119] установлено, что использование в качестве адьюванта PolyI:PolyC приводило к значительному повышению в ответ на вакцинацию продукции специфических IgG, которые активно взаимодействовали с клетками опухоли молочной железы человека, экспрессирующими MUC1, и индукции клеточного иммунного ответа.

Kano с соавт. [120] исследовали потенциал PolyI:PolyC и рекомбинантного белка, кодируемого геном активации лимфоцитов 3 (LAG-3), слитого с Fc IgG человека (LAG-3-Ig), в качестве адьювантов пептидной вакцины против опухолевого антигена P1A. LAG-3 (CD223) представляет собой белок, который экспрессируется на мембране активированных Т-, В-клеток, натуральных киллеров, плазматоцитодных дендритных клеток и играет важную роль в их функционировании. Как было показано на мышах с опухолью

мастоцитомы P815 PolyI:PolyC в сочетании с LAG-3-Ig вызывал отторжение привитой опухоли и повышение продолжительности жизни животных. Противоопухолевый эффект был обусловлен усиленной пролиферацией и инфильтрацией опухолевых тканей Т-клетками и продукцией ими цитокинов Th1-типа. Комбинация PolyI:PolyC с LAG-3-Ig подавляла экспрессию ряда белков и рецепторов на Т-клетках, предотвращая их "истощение", что важно для реализации глубокого и длительного противоопухолевого иммунного ответа [120].

Серьёзным препятствием при разработке эффективных противоопухолевых вакцин является дисфункция дендритных клеток (DC), которые используются для их получения. Как выяснилось, ассоциированные с опухолью дендритные клетки (tumor associated dendritic cells, TADC) являются менее зрелыми, чем нормальные клетки, и слабо отвечают на стимуляцию агонистами TLR, что связывают с гиперактивностью внутриклеточного STAT3. Для преодоления дисфункции Luo с соавт. [121] разработали PMP/OVA/siRNA нановакцину, представляющую собой полипептидные мицеллы, образованные poly(ethyleneglycol)-b-poly(L-lysine)-b-poly(L-leucine)-гибридными полипептидами (PEG-PLL-PLLeu), в которые были инкапсулированы антиген OVA, STAT3-siRNA и PolyI:PolyC. В экспериментах было продемонстрировано значительное (до 200 раз) усиление поглощения клетками TADC антигена OVA и siRNA после введения вакцины и снижение экспрессии STAT3 в клетках более чем на 50%. Вакцина PMP/OVA/siRNA вызывала повышение экспрессии маркеров CD86 и CD40 и продукции IL-12 дендритными клетками, увеличение числа зрелых DC и уменьшение числа иммуносупрессивных клеток в лимфоузлах, что в конечном итоге способствовало ослаблению иммуносупрессии в микроокружении опухоли, развитию противоопухолевых иммунных реакций и регрессии опухоли. То есть, сочетание иммуномодулятора PolyI:PolyC и STAT3-siRNA с нановакцинами может быть многообещающей стратегией повышения их терапевтической эффективности [121].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные литературные данные свидетельствуют о том, что дсРНК являются компонентами эволюционно сформированной системы неспецифической защиты и играют роль своеобразных функциональных линкеров между системами врожденного и приобретенного иммунитета. Препараты дсРНК, как синтетические, так и природного происхождения, используются в клинической практике в качестве фармацевтических субстанций для получения лечебно-профилактических противовирусных и иммуномодулирующих средств, но интерес к расширению сферы их применения и способам улучшения терапевтических свойств по-прежнему не угасает (таблица).

ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ВЫСОКОПОЛИМЕРНЫХ дсРНК

Таблица. Лекарственные препараты на основе двуспиральных РНК: современные тенденции фармацевтической разработки

Наименование	Структура	Разработчик	Статус	Показания к применению	Литература [№ ссылки]
Природные дсРНК					
Ридостин	Смесь двуспиральных и одноцепочечных РНК из <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия)	Разрешён для медицинского применения	Грипп, герпес, хламидиоз, клещевой энцефалит	53, 91, 101
Ридостин Про	Смесь двуспиральных и одноцепочечных РНК из <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , стабилизированных поливинилпирролидоном	ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия)	Стадия регистрации	Грипп, ОРВИ	81
Ларифан	Двуспиральные РНК фага f2	ООО «Ларифан» (Латвия)	Разрешён для медицинского применения	Арбовирусные и рабовирусные инфекции, герпетические заболевания	54, 56
Рифастин	Двуспиральные РНК фага ф6	ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия)	Лабораторные исследования	Вирусные инфекции (омская геморрагическая лихорадка, грипп)	55, 56, 57
Двуспиральные комплексы комплементарных гомополирибонуклеотидов					
PolyA:PolyU					
Полудан	Двуспиральный комплекс полирибодениловой и полирибоуридиловой кислот	ООО «Лэнс-Фарм» (Россия)	Разрешён для медицинского применения	Вирусные заболевания глаз (аденовирусные и герпетические инфекции), грипп и ОРВИ	61, 62, 122, 123
Polyadenur	Двуспиральный комплекс полирибодениловой и полирибоуридиловой кислот	Beaufour Ipsen (Франция), Hemispherx Biopharma (США)	Клинические исследования	Гепатиты В и С (в составе комплексной терапии с IFN-α), рак молочной железы	63, 64, 65
PolyG:PolyC					
Полигуацил	Двуспиральный комплекс полирибогуаниловой и полирибоцитидиловой кислот	ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия)	Лабораторные исследования	Вирусные инфекции (вирусы энцефаломиокардита, клещевого энцефалита, везикулярного стоматита)	46, 61, 66, 67
RGC100	Двуспиральный комплекс полирибогуаниловой и полирибоцитидиловой кислот (100 пар нуклеотидов)	Riboxx GmbH (Германия)	Лабораторные исследования	Для повышения эффективности вакцинации (активация дендритных клеток, пролиферация Т-клеток)	46
PolyI:PolyC					
PolyI:PolyC	Двуспиральный комплекс полирибоинозиновой и полирибоцитидиловой кислот	University of Alabama at Birmingham, Hemispherx Biopharma, Inc. (США); Medical University of South Carolina, Gibbs Cancer Center and Research Institute, Eli Lilly and Company (США) etc.	Клинические исследования	Гепатоцеллюлярная карцинома, гепатит В, грипп	71, 72, 73, 74, 76

Таблица. Лекарственные препараты на основе двуспиральных РНК: современные тенденции фармацевтической разработки (продолжение)

Наименование	Структура	Разработчик	Статус	Показания к применению	Литература [№ ссылки]
PolyI:PolyC	Двуспиральный комплекс полирибозинозойной и полирибонуклеотидовой кислот	Institute of Pharmaceutical Sciences, Institute of Molecular Biology and Biophysics (Швейцария); Nanjing Agricultural University (Китай); Icahn School of Medicine at Mount Sinai (США); Yonsei University (Корея); The University of Tokyo (Япония) etc.	Лабораторные исследования	Для противоопухолевой терапии злокачественных новообразований разной локализации, усиления иммуногенности противоопухолевых вакцин	104, 88, 99, 100, 105, 106, 109, 110, 111, 112, 115, 117, 118, 119, 120, 121
uPIC100-400	Двуспиральный комплекс полирибозинозойной и полирибонуклеотидовой кислот (100-400 пар оснований)	Kuowa Hakko Bio Co., Ltd. (Япония); Hokkaido University, Sapporo (Япония)	Лабораторные исследования	Для профилактики и терапии инфекционных и онкологических заболеваний	78
PolyI:PolyC, модифицированные	Двуспиральный комплекс полирибозинозойной и полирибонуклеотидовой кислот, модифицированный полимерами и/или инкапсулированный в частицы	Научно-исследовательские лаборатории Германии, Китая, Италии, Нидерландов, Канады, Бельгии, Австралии, США	Лабораторные исследования	Онкологические заболевания различной локализации (глиобластома, аденокарцинома, рак молочной железы, меланома)	74, 79, 80, 81, 92, 93, 94, 95, 96, 108, 116
Hiltonol PolyICLC	Двуспиральный комплекс полирибозинозойной и полирибонуклеотидовой кислот с нековалентным аддуктом полимерных цепей поли-L-лизина и карбоксиметилцеллюлозы	Oncovir, Inc. (США)	Клинические и лабораторные исследования	Онкологические заболевания различной локализации, в том числе неоперабельные случаи рака, вирусные инфекции, усиление иммуногенности вакцин	74, 76, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 97, 98
Двуспиральные комплексы гомополирибонуклеотида и сополимера полирибонуклеотида					
Ampligen Atvogen Rintatolimod Rintamod® PolyI:PolyC₁₂U	Двуспиральный комплекс полирибозинозойной кислоты и сополимера полицитидиловой и уридиловой кислот (с соотношением 12:1)	Hemispherx Biopharma, Inc. (США)	Клинические исследования Разрешён для медицинского применения (Аргентина)	Синдромы хронической усталости и приобретенного иммунодефицита (СПИДа) в составе комплексной терапии, рак молочной железы, печени, простаты, яичников, колоректальный рак, мезотелиома Тяжелые случаи миалгического энцефаломиелита/синдрома хронической усталости	75, 76
PolyI:PolyC₃₀U	Двуспиральный комплекс полирибозинозойной кислоты и сополимера полицитидиловой и уридиловой кислот (с соотношением 30:1)	Hemispherx Biopharma, Inc. (США)	Лабораторные исследования	Для профилактики и терапии инфекционных и онкологических заболеваний	75, 77
RGIC100 PolyGI:PolyC	Двуспиральный комплекс полирибонуклеотидовой кислоты и сополимера полигуаниловой и полиинозиновой кислот (100 пар нуклеотидов)	Ribxxx GmbH (Германия)	Лабораторные исследования	Для профилактики и терапии инфекционных и онкологических заболеваний	68

Результаты доклинических и клинических испытаний, экспериментальных исследований свидетельствуют о наличии у дсРНК ингибирующего действия против широкого спектра вирусов, а также адьювантных свойств, продемонстрированных в отношении вакцин против разных вирусных инфекций. Современным направлением фармацевтических разработок является совершенствование лекарственных форм дсРНК, разработка средств адресной доставки для повышения противовирусной эффективности и улучшения терапевтических свойств препаратов.

Относительно новое направление исследований касается использования дсРНК в качестве противоопухолевых средств и адьювантов противоопухолевых вакцин. Установлено, что эти препараты ингибируют рост опухолевых клеток через подавление пролиферации и индукцию апоптотической гибели клеток, усиливают противоопухолевый иммунный ответ. В настоящее время в рамках клинических испытаний исследуются противоопухолевые свойства дсРНК как препаратов для моно- и комплексной терапии в сочетании с противоопухолевыми средствами, включая вакцины. Дальнейшее изучение механизмов действия, роли дсРНК в коррекции патологических процессов различного происхождения, по-видимому, будет способствовать оптимизации способов применения препаратов для повышения их эффективности и безопасности.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Обзор выполнен в рамках работ по выполнению государственного задания ГНЦ ВБ “Вектор”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА

- Kawai T., Akira S. (2011) *Immunity*, **34**(5), 637-650.
- Yoneyama M., Fujita T. (2010) *Rev. Med. Virol.*, **20**(1), 4-22.
- de Faria I.J., Olmo R.P., Silva E.G., Marques J.T. (2013) *J. Interferon Cytokine Res.*, **33**(5), 239-253.
- Lee M.S., Kim Y.J. (2007) *Annu. Rev. Biochem.*, **76**, 447-480.
- Chow K.T., Gale M. Jr., Loo Y.M. (2018) *Annu. Rev. Immunol.*, **36**, 667-694.
- Yu M., Levine S.J. (2011) *Cytokine Growth Factor Rev.*, **22**(2), 63-72.
- Baum A., García-Sastre A. (2010) *Amino Acids*, **38**(5), 1283-1299.
- Sen G.C., Sarkar S.N. (2005) *Cytokine Growth Factor Rev.*, **16**(1), 1-14.
- Matsumoto M., Funami K., Oshiumi H., Seya T. (2004) *Microbiol. Immunol.*, **48**(3), 147-154.
- Meylan E., Tschopp J., Karin M. (2006) *Nature*, **442**(7098), 39-44.
- Yoneyama M., Fujita T. (2009) *Immunol. Rev.*, **227**(1), 54-65.
- Liu L., Botos I., Wang Y., Leonard J.N., Shiloach J., Segal D.M., Davies D.R. (2008) *Science*, **320**(5874), 379-381.
- Wang Y., Liu L., Davies D.R., Segal D.M. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 36836-36841.
- Iwasaki A., Medzhitov R. (2010) *Science*, **327**(5963), 291-295.
- Shang T., Zhang Z., Wang T., Sun B., Deng T., Han D. (2011) *Endocrinology*, **152**, 2827-2836.
- Agarwal S., Wu M., Livingston C., Parks D., Mayes M., Arnett F., Tan F. (2011) *Arthritis Research & Therapy*. <http://arthritis-research.com/content/13/1/R3>.
- Zhang S., Herman M., Ciancanelli M., Perez de Diego R., Sancho-Shimizu V., Abel L., Casanova J.L. (2013) *Curr. Opin. Immunol.*, **25**, 19-33.
- Lester S.N., Li K. (2014) *J. Mol. Biol.*, **426**(6), 1246-1264.
- Lee B.L., Moon J.E., Shu J.H., Yuan L., Newman Z.R., Schekman R., Barton G.M. (2013) *Elife*, **2**, e00291.
- Randall R.E., Goodbourn S. (2008) *J. Gen. Virol.*, **89**(Pt 1), 1-47.
- Yamamoto M., Sato S., Mori K., Hoshino K., Takeuchi O., Takeda K., Akira S. (2002) *J. Immunol.*, **169**(12), 6668-6672.
- Oshiumi H., Matsumoto M., Funami K., Akazawa T., Seya T. (2003) *Nat. Immun.*, **4**(2), 161-167.
- Matsumoto M., Seya T. (2008) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**(7), 805-812.
- Silverman R.H. (2007) *J. Virol.*, **81**(23), 12720-12729.
- García M.A., Gil J., Ventoso I., Guerra S., Domingo E., Rivas C., Esteban M. (2006) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **70**, 1032-1060.
- Cole J.L. (2007) *Trends Biochem. Sci.*, **32**(2), 57-62.
- Gantier M.P., Williams B.R. (2007) *Cytokine Growth Factor Rev.*, **18**(5-6), 363-371.
- Koul A., Deo S., Booy E.P., Orriss G., Genung M., McKenna S.A. (2019) *Biochem. Cell Biol.*, Apr 9. DOI: 10.1139/bcb-2019-0060. [Epub ahead of print].
- Calderon B.M., Conn G.L. (2018) *J. Biol. Chem.*, **293**(41), 16115-16124.
- Kato H., Takeuchi O., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Matsui K., Uematsu S., Jung A., Kawai T., Ishii K.J., Yamaguchi O., Otsu K., Tsujimura T., Koh C.S., Reis e Sousa C., Matsuura Y., Fujita T., Akira S. (2006) *Nature*, **441**, 101-105.
- Yoneyama M., Kikuchi M., Matsumoto K., Imaizumi T., Miyagishi M., Taira K., Foy E., Loo Y.M., Gale M. Jr., Akira S., Yonehara S., Kato A., Fujita T. (2005) *J. Immunol.*, **175**(5), 2851-2858.
- Yoneyama M., Fujita T. (2004) *Uirusu.*, **54**(2), 161-167.
- Kato H., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Uematsu S., Matsui K., Tsujimura T., Takeda K., Fujita T., Takeuchi O., Akira S. (2005) *Immunity*, **23**(1), 19-28.
- Xu L.G., Wang Y.Y., Han K.J., Li L.Y., Zhai Z., Shu H.B. (2005) *Mol. Cell*, **19**(6), 727-740.
- Saito T., Gale M. Jr. (2008) *J. Exp. Med.*, **205**, 1523-1527.
- Cui S., Eisenächer K., Kirchhofer A., Brzózka K., Lammens A., Lammens K., Fujita T., Conzelmann K.K., Krug A., Hopfner K.P. (2008) *Mol. Cell*, **29**, 169-179.
- Fujita T. (2006) *Science*, **314**(5801), 935-936.
- DeWitte-Orr S.J., Mehta D.R., Collins S.E., Suthar M.S., Gale M. Jr., Mossman K.L. (2009) *J. Immunol.*, **183**(10), 6545-6553.
- Satoh T., Kato H., Kumagai Y., Yoneyama M., Sato S., Matsushita K., Tsujimura T., Fujita T., Akira S., Takeuchi O. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**(4), 1512-1517.

40. Bruns A.M., Horvath C.M. (2015) Cytokine, **74**(2), 198-206.
41. Martínez I., Oliveros J.C., Cuesta I., de la Barrera J., Ausina V., Casals C., de Lorenzo A., García E., García-Fojeda B., Garmendia J. et al. (2017) Front. Microbiol., **8**, 276.
42. Nellimarla S., Baid K., Loo Y.M., Gale M. Jr., Bowdish D.M., Mossman K.L. (2015) J. Immunol., **195**(8), 3858-3865.
43. Semple S.L., Vo N.T.K., Poynter S.J., Li M., Heath D.D., DeWitte-Orr S.J., Dixon B. (2018) Dev. Comp. Immunol., **89**, 93-101.
44. Bianchi F., Pretto S., Tagliabue E., Balsari A., Sfondrini L. (2017) Cancer Biol. Ther., **18**(10), 747-756.
45. Iordanov M.S., Kirsch J.D., Ryabinina O.P., Wong J., Spitz P.N., Korcheva V.B., Thorburn A., Magun B.E. (2005) Apoptosis, **10**, 167-176.
46. Naumann K., Wehner R., Schwarze A., Petzold C., Schmitz M., Rohayem J. (2013) Clin. Dev. Immunol., **2013**, 283649. DOI: 10.1155/2013/283649.
47. Salem M.L., Diaz-Montero C.M., El-Naggar S.A., Chen Y., Moussa O., Cole D.J. (2009) Vaccine, **27**, 549-557.
48. Щебляков Д.В., Логунов Д.Ю., Тухватулин А.И., Шмаров М.М., Народицкий Б.С., Гинцбург А.Л. (2010) Acta Naturae, **2**(3), 28-37. [Shcheblyakov D.V., Logunov D.Yu., Tuxhvatulin A.I., Shmarov M.M., Naroditskiy B.S., Gintzburg A.L. (2010) Acta Naturae, **2**(3), 28-37.]
49. Shime H., Matsumoto M., Oshiumi H., Tanaka S., Nakane A., Iwakura Y., Tahara H., Inoue N., Seya T. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **109**(6), 2066-2071.
50. Aliyari R., Wu Q., Li H.W., Wang X.H., Li F., Green L.D., Han C.S., Li W.X., Ding S.W. (2008) Cell Host. Microbe., **4**(4), 387-397.
51. Tzanetakis I.E., Martin R.R. (2008) J. Virol. Methods, **149**(1), 167-170.
52. Wickner R.B. (1996) Microbiol. Rev., **60**(1), 250-265.
53. Баринский И.Ф., Косякова Н.П., Лаврухина Л.А., Посева Т.А. (1994) Вopr. вирусол., **39**(4), 179-182. [Barinskiy I.F., Kosyakova N.P., Lavrukhina L.A., Posevaya T.A. (1994) Vopr. virusol., **39**(4), 179-182.]
54. <http://www.larifans.lv/index.php/ru/2016-03-23-14-48-05>. Дата обращения 29.03.2018.
55. Носик Н.Н., Пугачев В.Г., Ершов Ф.И. (1990) Антибиот. химиотер., **35**(3), 25-27. [Nosik N.N., Pugachev V.G., Yershov F.I. (1990) Antibiot. khimioter., **35**(3), 25-27.]
56. Логинова С.Я., Ефанова Т.Н., Ковальчук А.В., Фалдина В.Н., Андросчук И.А., Писцов М.Н., Борисевич С.В., Копылова Н.К., Пащенко Ю.И., Хамитов Р.А., Максимов В.А., Васильев Н.Т. (2002) Вopr. вирусол., **47**(6), 27-30. [Loginova S.Ya., Yefanova T.N., Kovaltchuk A.V., Faldina V.N., Androshchuk I.A., Pistzov M.N., Borisevich S.V., Kopylova N.K., Pashchenko Yu.I., Khamitov R.A., Maksimov V.A., Vasilyev N.T. (2002) Vopr. virusol., **47**(6), 27-30.]
57. Батенева А.В., Сысоева Г.М., Гамалей С.Г., Скарнович М.О., Скарнович М.А., Шишкина Л.Н., Лебедев Л.Р., Даниленко Е.Д. (2018) Биофармацевт. журнал, **10**(6), 21-27. [Bateneva A.V., Sysoeva G.M., Gamaley S.G., Skarnovitch M.O., Skarnovitch M.A., Shishkina L.N., Lebedev L.R., Danilenko E.D. (2018) Biopharmatzevt. zhurnal, **10**(6), 21-27.]
58. Grunberg-Manago M., Oritz P.J., Ochoa S. (1955) Science, **122**(3176), 907-910.
59. Вильнер Л.М., Платонова Г.А., Сидорова Н.С., Тимковский А.Л. (1985) Вopr. вирусол., **3**, 337-339. [Vilner L.M., Platonova G.A., Sidorova N.S., Timkovskiy A.L. (1985) Vopr. virusol., **3**, 337-339.]
60. Вильнер Л.М., Коган Э.М., Платонова Г.А. (1982) Антибиотики, **1**, 54-56. [Vilner L.M., Kogan E.M., Platonova G.A. (1982) Antibiotiki, **1**, 54-56.]
61. Ершов Ф.И., Жданов В.М. (1982) Индукторы интерферона. М., С. 7-18. [Yershov F.I., Zhdanov V.M. (1982) Induktory interpherona, M., pp. 7-18.]
62. Шарыпова Д.В., Жуков И.Ю., Али Мазлум, Власова Н.Н., Пузанкова О.С., Гаврилова В.Л., Иголкин А.С. (2018) Ветеринария сегодня, **1**(24), 37-41. [Sharypova D.V., Zhukov I.Yu., Ali Mazlum, Vlasova N.N., Puzankova O.S., Gavrilova V.L., Igolkin A.S. (2018) Veterinariya segodnya, **1**(24), 37-41.]
63. de Paillette E. (2003) Patent No.: US 6,509,154 B1. Appl. No 09/485,086, Date of Patent 21.01.2003.
64. Fabrice A., Sabourin J.-Ch. (2006) Int. Pub. No.: WO 2006/054129 A1. International Appl. No: PCT/IB2004/004093, Publication Date 26.05.2006.
65. <https://www.thefreelibrary.com/Hemispherx+initiates+legal+action+against+Beaufour+Ipsen+for+...+a063275880>. Дата обращения 10.01.2019
66. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. (2015) Вopr. вирусол., **60**(2), 5-10. [Yershov F.I., Narovlyanskiy A.N. (2015) Vopr. virusol., **60**(2), 5-10.]
67. Robinson R.A., DeVita V.T., Levy H.B., Baron S., Hubbard S.P., Levine A.S. (1976) J. Natl. Cancer. Inst., **57**(3), 599-602.
68. Rohayem J. (2018) Patent No.: US 10,023,871 B2. Appl. No 15/105,467, Date of Patent: 17.07.2018.
69. Масычева В.И., Надолинная И.Г. (1981) Фармакол. токсикол., **44**(3), 353-357. [Masytcheva V.I., Nadolinnaya I.G. (1981) Farmakol. toksikol., **44**(3), 353-357.]
70. chem21.info/info/166822/ Справочник химика 21, С.341. Дата обращения 10.04.2019
71. Overton E.T., Goepfert P.A., Cunningham P., Carter W.A., Horvath J., Young D., Strayer D.R. (2014) Vaccine, **32**(42), 5490-5495.
72. Mehrotra S., Britten C.D., Chin S., Garrett-Mayer E., Cloud C.A., Li M., Scurti G., Salem M.L., Nelson M.H., Thomas M.B., Paulos C.M., Salazar A.M., Nishimura M.I., Rubinstein M.P., Li Z., Cole D.J. (2017) J. Hematol. Oncol., **10**(1), 82.
73. Okada H., Weller M., Huang R., Finocchiaro G., Gilbert M.R., Wick W., Ellingson B.M., Hashimoto N., Pollack I.F., Brandes A.A. et al. (2015) Lancet Oncol., **16**(15), e534-e542.
74. Smith M., Garcia-Martinez E., Pitter M.R., Fucikova J., Spisek R., Zitvogel L., Kroemer G., Galluzzi L. (2018) Oncoimmunology, **7**(12), e1526250.
75. Carter W.A., Strayer D.R. (2014) Pub. No.: US 2014/0335112 A1. Appl. No 14/275,754, Publication Date 13.11.2014.
76. <http://clinicaltrials.gov/>. Дата обращения 09.04.2019.
77. Carter W.A., Strayer D.R. (2011) Int. Pub. No.: WO 2011/059505 A2. International Appl. No: PCT/US20 10/002970, International Publication Date 19.05.2011.
78. Nakano T., Yamamura E.T., Fujita H., Sone T., Asano K. (2018) Biosci. Biotechnol. Biochem., **82**(11), 1889-1901.
79. Torchilin V.P. (2013) Ther. Deliv., **4**(5), 537-538.
80. Ghosh S.K., Chowdhury R.R. (2013) Expert Opin. Drug Deliv., **10**(4), 437-450.
81. Левагина Г.М., Аликин Ю.С., Масычева В.И., Даниленко Е.Д., Фадинова В.А., Игнатьев Г.М. (2001) Патент РФ №2172631. Заявка 99121277 от 08.10.1999; опубл. 27.08.2001 в БИ №24. [Levagina G.M., Alikin Yu.S., Masytcheva V.I., Danilenko E.D., Fadina V.A., Ignatyev G.M. (2001) Patent RF #2172631. Appl. 99121277 from 08.10.1999; publ. 27.08.2001 in BI #24.]

82. Levy H.B. (1982) Patent No.: US 4,349,538. Appl. No: 208,029, Publication Date: 14.09.1982.
83. Salazar A.M., Oncovir Inc. <http://www.oncovir.com/id2.html>. Дата обращения 11.01.2018.
84. Mitchell W.M., Carter W.A. (2014) Emerg. Microbes Infect., **3**(10), e77. DOI: 0.1038/emi.2014.77.
85. Wong J.P., Yang H., Nagata L., Kende M., Levy H., Schnell G., Blasetti K. (1999) Vaccine, **17**(13-14), 1788-1795.
86. Hu Y., Hu Y., Sun L., Wong J., Wang M. (2016) Biochem. Biophys. Res. Commun., **478**(2), 913-918.
87. Compagnon B., Milhaud P., Bienvenue A., Philippot J.R. (1992) Exp. Cell Res., **200**(2), 333-338.
88. Shir A., Ogris M., Wagner E., Levitzki A. (2006) PLoS Med., **3**(1), e6.
89. Масычева В.И., Лебедев Л.Р., Даниленко Е.Д., Сысоева Г.М., Гамалей С.Г. (2010) Патент РФ на изобретение №2386447. Оpubл. 20.04.2010 в БИ №11. [Masytcheva V.I., Lebedev L.R., Danilenko E.D., Sysoeva G.M., Gamaley S.G. (2001) Patent RF na izobretenie #2386447. Publ. 20.04.2010 in BI #11.]
90. Даниленко Е.Д., Гамалей С.Г., Батенёва А.В., Сысоева Г.М., Левагина Г.М., Масычева В.И. (2011) Журнал микробиол., эпидемиол. иммунобиол., №3, 57-61. [Danilenko E.D., Gamaley S.G., Batenyova A.V., Sysoeva G.M., Levagina G.M., Masytcheva V.I. (2011) Zhurnal mikrobiol., epidemiol., immunobiol., №3, 57-61.]
91. Howard K.A., Rahbek U.L., Liu X., Damgaard C.K., Glud S.Z., Andersen M.O., Hovgaard M.B., Schmitz A., Nyengaard J.R., Besenbacher F., Kjems J. (2006) Mol. Ther., **14**(4), 476-484.
92. Chen L., Ding Y., Wang Y., Liu X., Babu R., Ravis W., Yan W. (2013) Int. J. Nanomedicine, **8**, 137-145.
93. Coboleda-Siles M., Henriksen-Lacey M., Ruiz de Angulo A., Bernecker A., Gómez-Vallejo V., Szczupak B., Llop J., Pastor G., Plaza-Garcia S., Jauregui-Osoro M., Meszaros L.K., Mareque-Rivas J.C. (2014) Small, **10**(24), 5054-5067.
94. Knuschke T., Epple M., Westendorf A.M. (2014) Hum. Vaccin. Immunother., **10**(1), 164-169.
95. McNally B., Willette M., Ye F., Partida-Sanchez S., Flaño E. (2012) PLoS One, **7**(12), e51351.
96. Li Y., Hu Y., Jin Y., Zhang G., Wong J., Sun L.Q., Wang M. (2011) J. Gene Med., **13**(1), 60-72.
97. Caskey M., Lefebvre F., Filali-Mouhim A., Cameron M.J., Goulet J.P., Haddad E.K., Breton G., Trumpfheller C., Pollak S., Shimeliovich I. et al. (2011) J. Exp. Med., **208**(12), 2357-2366.
98. Martins K.A., Steffens J.T., van Tongeren S.A., Wells J.B., Bergeron A.A., Dickson S.P., Dye J.M., Salazar A.M., Bavari S. (2014) PLoS One, **9**(2), e89735.
99. Zhang L., Bai J., Liu J., Wang X., Li Y., Jiang P. (2013) Vet. Microbiol., **164**(3-4), 253-260.
100. Terhuja M., Saravanan P., Tamilselvan R.P. (2015) Biologicals, **43**(6), 437-443.
101. Баринский И.Ф., Алимбарова Л.М., Лазаренко А.А., Махмудов Ф.Р., Мордвинцева Э.Ю., Сергеев О.В. (2015) Иммунология, **36**(2), 95-98. [Barinskiy I.F., Alimbarova L.M., Lazarenko A.A., Makhmudov F.R., Mordvintzeva E.Yu., Sergeev O.V. (2015) Immunologiya, **36**(2), 95-98.]
102. <http://lib.fedpress.ru/person/donchenko-aleksandr-semenovich> Дата обращения 29.03.2018.
103. Hafner A.M., Corthésy B., Textor M., Merkle H.P. (2011) Biomaterials, **32**(10), 2651-2661.
104. Hafner A.M., Burschowsky D., Corthésy B., Textor M., Merkle H.P. (2012) J. Control Release, **159**(2), 204-214.
105. Pérez-Girón J.V., Belicha-Villanueva A., Hassan E., Gómez-Medina S., Cruz J.L., Lüdtke A., Ruibal P., Albrecht R.A., García-Sastre A., Muñoz-Fontela C. (2014) J. Immunol., **193**(3), 1324-1332.
106. Kim E.D., Han S.J., Byun Y.H., Yoon S.C., Choi K.S., Seong B.L., Seo K.Y. (2015) PLoS One, **10**(9), e0137608.
107. Uchida S., Yoshinaga N., Yanagihara K., Yuba E., Kataoka K., Itaka K. (2018) Biomaterials, **150**, 162-170.
108. Qu J., Hou Z., Han Q., Zhang C., Tian Z., Zhang J. (2013) Int. Immunopharmacol., **17**(3), 814-820.
109. Chen H., Wang D.L., Liu Y.L. (2016) Mol. Med. Rep., **13**(3), 2689-2695.
110. Ayari C., Besançon M., Bergeron A., LaRue H., Bussiès V., Fradet Y. (2016) Cancer Immunol. Immunother., **65**(2), 223-234.
111. Palchetti S., Starace D., De Cesaris P., Filippini A., Ziparo E., Riccioli A. (2015) J. Biol. Chem., **290**(9), 5470-5483.
112. Salaun B., Lebecque S., Matikainen S., Rimoldi D., Romero P. (2007) Clin. Cancer Res., **13**(15 Pt1), 4565-4574.
113. Chiba Y., Mizoguchi I., Mitobe K., Higuchi K., Nagai H., Nishigori C., Mizuguchi J., Yoshimoto T. (2013) PLoS One, **8**(10), e76159.
114. Estornes Y., Micheau O., Renno T., Lebecque S. (2013) in: Oncogene and Cancer – from Bench to Clinic (Siregar Y., ed.). Novi Sad, INTECH. pp. 247-270.
115. Muthuswamy R., Wang L., Pitteroff J., Gingrich J.R., Kalinski P. (2015) J. Immunother. Cancer, **3**, 6.
116. Alipour Talesh G., Ebrahimi Z., Badiie A., Mansourian M., Attar H., Arabi L., Jalali S.A., Jaafari M.R. (2016) Immunol. Lett., **176**, 57-64.
117. Gupta S.K., Tiwari A.K., Gandham R.K., Sahoo A.P. (2016) Int. Immunopharmacol., **35**, 163-173.
118. Gupta S.K., Yadav P.K., Tiwari A.K., Gandham R.K., Sahoo A.P. (2016) Tumour Biol., **37**(9), 12089-12102.
119. Glaffig M., Stergiou N., Schmitt E., Kunz H. (2017) ChemMedChem., **12**(10), 722-727.
120. Kano Y., Iguchi T., Matsui H., Adachi K., Sakoda Y., Miyakawa T., Doi S., Hazama S., Nagano H., Ueyama Y., Tamada K. (2016) Cancer Sci., **107**(4), 398-406.
121. Luo Z., Wang C., Yi H., Li P., Pan H., Liu L., Cai L., Ma Y. (2015) Biomaterials, **38**, 50-60.
122. <https://products.veropharm.ru/products/cold/poludanum/> Дата обращения 26.05.2019.
123. Шумилов В.И., Иванников Ю.Г., Огарков П.И., Лобастов С.П., Олонцев В.В. (2002) Военно-мед. журнал, **323**(1), 45-47. [Shumilov V.I., Ivannikov Yu.G., Ogarkov P.I., Lobastov S.P., Olontzev V.V. (2002) Voenno-med. zhurnal, **323**(1), 45-47.]

Поступила в редакцию: 01. 11. 2018.
После доработки: 14. 05. 2019.
Принята к печати: 16. 05. 2019.

**DEVELOPMENT OF DRUGS ON THE BASIS OF HIGH-POLYMERIC DOUBLE-STRANDED RNA
FOR ANTIVIRAL AND ANTITUMOR THERAPY**

E.D. Danilenko, A.O. Belkina, G.M. Sysoeva*

Institute of Medical Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”,
9 Khimzavodskaya str., Berdsk, Novosibirsk region, 633010 Russia; *e-mail: danilenko_ed@vector.nsc.ru

The review summarizes literature data on the development of drugs based on natural and synthetic high-polymeric double-stranded RNA, and their antiviral, immunoadjuvant and antitumor properties. Special attention is paid to cell receptors responding to exogenous dsRNA, the paths of dsRNA-dependent antiviral reaction, ability of dsRNA to inhibit growth and induce apoptosis of malignant cells. It has been shown that enhancing the innate immune response with dsRNA can be an effective component in improving methods for treating and preventing infectious and cancer diseases. The further use of dsRNA for the correction of pathological processes of different origin is discussed

Key words: double-stranded RNA; interferon inducers; immunomodulators; antitumor and antiviral properties

Funding. The review was performed within the framework of the State task for SRC VB “Vector”.

Received: 01.11.2018, revised: 14.05.2019, accepted: 16.05.2019.