

## МАЛЫЕ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ РНК – НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ РЕСПИРАТОРНО–СИНЦИТИАЛЬНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.В. Высочинская<sup>1</sup>, Е.В. Эсауленко<sup>2</sup>, А.А. Богданов<sup>2</sup>, Д.Н. Гораб<sup>2</sup>, Н.А. Князев<sup>2</sup>, М.В. Дубина<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт гриппа, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский академический университет – физико-технологический научно-образовательный центр нанотехнологий РАН, Санкт-Петербург

### The promise and progress of RNA-interference-based antiviral therapy for respiratory syncytial virus.

V.V. Vysochinskaya<sup>1</sup>, E.V. Esaulenko<sup>1</sup>, A.A. Bogdanov<sup>2</sup>, D.N. Ghorab<sup>2</sup>, N.A. Knyazev<sup>2</sup>, M.V. Dubina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Science Research Institute of Influenza, Saint-Petersburg

<sup>2</sup> Saint-Petersburg Academic University – Physics and Technology Research and Education Center of Nanotechnologies of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg

**Резюме.** Респираторно-синцициальный вирус (РСВ) является ведущей причиной смертности среди новорожденных, детей раннего возраста и пожилых людей во всем мире. Подходы в отношении терапии РСВ-инфекции недостаточно эффективны и базируются на применении симптоматических методов лечения в связи с отсутствием эффективной противовирусной терапии. Современный прогресс в исследованиях механизма РНК-интерференции позволяет говорить о становлении нового класса противовирусных лекарственных средств в терапии РСВ-инфекции.

**Ключевые слова:** респираторный синцициальный вирус, малые интерферирующие РНК, РНК-интерференция.

Респираторно-синцициальный вирус (РСВ) является одной из основных причин тяжелых заболеваний нижних дыхательных путей (бронхиолита и пневмонии) у новорожденных и детей раннего возраста. Наиболее высокие показатели заболеваемости обычно регистрируют у детей первого года жизни в возрасте от двух до четырех месяцев, когда титр протективных материнских антител начинает снижаться. В половине случаев РСВ-инфекция протекает тяжело, в форме обструктивного бронхита, бронхиолита или пневмонии. Ко второму году жизни число детей, перенесших данное заболевание, доходит до 90%. Частота инфекции, вызываемой РСВ после двух лет, крайне низкая. Следует отметить, что дети старшей возрастной группы и взрослые переносят РС-инфекцию в виде назофарингита. РС-инфекция не является самой частой в структуре острых респираторных вирусных инфекций у детей раннего возраста. Медико-социальная значимость данного заболевания определяется прежде всего тяжестью клинического течения, потребо-

**Abstract.** Respiratory syncytial virus (RSV) is a major cause of morbidity in infants, young children, and the elderly worldwide. Presently, there are no explicit recommendations for RSV treatment apart from supportive care. Recent progress in studies of the mechanism of RNA interference suggests the formation of a new class of antiviral drugs in the treatment of RSV infection and related respiratory diseases.

**Key words:** respiratory syncytial virus, small interfering RNA, RNA interference.

стью в госпитализации и высокой летальностью среди детей групп риска. К группе высокого риска тяжелого течения РС-инфекции относят недоношенных детей, детей с бронхолегочной дисплазией и врожденными пороками сердца. Очевидно, что бронхиолит, или обструктивный бронхит развивается не только у детей из групп риска, но и у исходно здоровых. Ежегодно в мире в результате заболеваний нижних дыхательных путей, ассоциированных с РСВ, умирают несколько миллионов детей младше 5 лет [1]. Значительная часть исследований в области РС-инфекции посвящена ее последствиям в отдаленном периоде. Известно, что острая респираторная вирусная инфекция, независимо от этиологии, может сопровождаться бронхообструктивным синдромом. Существуют данные, свидетельствующие о том, что перенесенный в детстве бронхиолит или бронхит является фактором риска формирования как гиперчувствительности дыхательных путей, приводящей к развитию бронхиальной астмы, так и атопии в целом [2].

Перенесенная РСВ-инфекция не формирует стойкий иммунитет, поэтому реинфицирование возможно в любом возрасте. Заболевание у детей старше 5 лет и взрослых может протекать латентно, поэтому достоверной регистрации заболеваемости в этих возрастных группах нет. Тяжелое течение заболевания встречается не только у детей первого года жизни, но и у пожилых людей, а также взрослых и детей с ослабленным иммунитетом. Уровень смертности от осложнений, ассоциированных с РСВ-инфекцией в вышеуказанных группах остается высоким [3, 4].

Терапевтические подходы в отношении РСВ-инфекции разработаны недостаточно. Лечение пациента в основном базируется на использовании симптоматических методов, так как эффективные противовирусные препараты отсутствуют. Известен опыт использования рибавирина (Virazole) в качестве средства этиотропной терапии РСВ-инфекции в период с 1980-х гг. до середины 1990-х гг. В конце прошлого века целесообразность использования рибавирина была поставлена под сомнение [5]. В настоящее время, учитывая токсичность рибавирина, возможность его использования с 18 лет и ограниченные данные о клинической эффективности, его используют редко. Назначение препарата обосновано только в случае положительных результатов серологических тестов, подтверждающих наличие РСВ-инфекции и тяжелого течения заболевания.

РСВ-инфекция является неуправляемой в связи с отсутствием средств специфической профилактики. Все попытки разработки эффективной и безопасной вакцины против РСВ закончились неудачно [6]. Однако в группах высокого риска возможно проведение пассивной иммунизации. Для этих целей используют препарат Palivizumab (Synagis) – нейтрализующие моноклональные антитела, направленные против структурного белка F-вируса. Эффективность и безопасность данного препарата доказана в клинических исследованиях. Использование препарата Palivizumab у детей младше двух лет с бронхо-легочной дисплазией позволило снизить частоту госпитализации на 39%, у недоношенных детей (менее 35 недель гестации) – на 78% [7] и у детей с пороками сердца – на 45% [8]. Однако доказательств о снижении смертности в вышеуказанных группах получено не было [9, 10]. Основным фактором, ограничивающим широкое использование данного препарата, является экономический. Стоимость курса иммунизации одного ребенка в течение сезонного подъема заболеваемости составляет более 10 000 долларов США [11]. В последних рекомендациях Американского Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration FDA) от 2009 г. приведены группы, подлежащие иммунизации и схемы использования препарата Palivizumab [12] (табл.).

Таблица

**Рекомендации Комитета по инфекционным заболеваниям Американской академии педиатрии по применению Palivizumab (2006 г., 2009 г.) [12]**

Дети	Клинические рекомендации 2006 г.	Клинические рекомендации 2009 г.
С хроническими заболеваниями легких, получающие медикаментозную терапию	5 инъекций препарата в течение сезонного подъема заболеваемости детям младше двух лет	Не изменились
С врожденными пороками сердца	до 5 инъекций препарата в течение сезонного подъема заболеваемости детям младше двух лет с гемодинамически значимыми пороками сердца	Не изменились
Гестационный возраст менее 28 недель	5 инъекций препарата в течение сезонного подъема заболеваемости в первые 12 месяцев жизни	Не изменились
Гестационный возраст 29 – 32 недели	5 инъекций препарата в течение сезонного подъема заболеваемости, начиная с 6-месячного возраста	Не изменились
Гестационный возраст 32 – 35 недель	5 инъекций препарата в течение сезонного подъема заболеваемости, начиная с 6-месячного возраста, при этом пациент имеет от 2 до 5 факторов риска	Максимальное количество инъекций препарата – 3, детям в возрасте до 90 дней, при условии, что сезон подъема заболеваемости приходится на первые 3 месяца жизни и пациент имеет 1 из 2 факторов риска: уход за ребенком, осуществляемый персоналом, один или два других ребенка в семье младше 5 лет
Имеющие факторы риска	Уход за ребенком, осуществляемый персоналом, школьный возраст других детей в семье, воздействие загрязненного атмосферного воздуха, врожденные аномалии дыхательных путей или тяжелые нервно-мышечные заболевания	
Врожденные аномалии дыхательных путей или нервно-мышечные заболевания, приводящие к нарушению мукоцилиарного транспорта	Рассмотрены в факторах риска	Рассматриваются индивидуально с возможностью введения до 5 инъекций в течение первого года жизни

Несмотря на то, что Palivizumab остается единственным препаратом, применяемым в качестве средства иммунопрофилактики среди детей с высоким риском развития тяжелой РСВ-инфекции за рубежом, на территории Российской Федерации он не зарегистрирован. Кроме того, данный препарат не имеет показаний к использованию в других группах риска: у детей с муковисцидозом [13, 14], синдромом Дауна и нейромышечными заболеваниями [15].

Роль участия РСВ-инфекции в механизмах формирования бронхиальной астмы, а также персистенции воспаления и развития тяжелого течения БА доказана [4]. Следовательно, можно предположить, что именно эффективная профилактика РС-инфекции является одновременно и профилактикой инфекционно-зависимой бронхиальной астмы. Тем не менее, данные клинических исследований по использованию Palivizumab для предупреждения развития БА в будущем оказались неоднозначными. Препарат не продемонстрировал эффективность у детей с семейным анамнезом атопии [17].

Таким образом, средства для эффективной активной иммунизации и этиотропной терапии РСВ-инфекции и связанных с ней заболеваний дыхательных путей на данный момент отсутствуют. Использование Palivizumab — препарата для пассивной иммунопрофилактики, ограничено экономическими причинами и отсутствием официальной регистрации в России. В связи с вышеуказанным разработка препаратов с прямым противовирусным действием остается приоритетной и позволит принципиально изменить существующие подходы к терапии РСВ-инфекции.

В последнее время предложен новый подход к терапии РСВ-инфекции — использование малых интерферирующих РНК. Интерференция РНК — это недавно выявленный механизм защиты клетки от чужеродного генетического материала, прежде всего от вирусов, обнаруженных у большинства эукариот. Широко известно, что в их клетках существует механизм, препятствующий распространению вирусной инфекции — интерфероновый ответ, который заключается в индукции синтеза интерферона в ответ на введение в клетки фрагментов нуклеиновой кислоты длиной более тридцати нуклеотидов. Интерфероны действуют не избирательно, блокируя синтез не только вирусных, но и клеточных РНК и белков, что, вероятно, и приводит к гибели зараженной клетки. Таким образом, запуск интерферонового ответа блокирует весь белковый синтез, реализуя неспецифический иммунный ответ на вирусную инфекцию.

Недавно открыт совершенно новый способ регуляции работы генов в клетках — механизм, способный деградировать строго определенные РНК и представляющий собой своеобразный внутриклеточный иммунитет — РНК-интерференция (РНКи). Знание принципов РНКи теоретически позволяет остановить репродукцию вируса при помощи избирательного отключения используемых им генов [18]. В последнее время различные вирусы стали широко использоваться в качестве мишеней для терапевтического воздействия при помощи механизма РНКи. Широкое распространение получила разработка новых терапевтических средств на основе малых интерферирующих РНК (small interfering RNA, siRNA, миРНК) для терапии ВИЧ-инфекции. Данный подход несет в себе потенциал как полного излечения больных ВИЧ-инфекцией, так и создания популяции, устойчивой к ВИЧ [19]. Не менее актуально использование механизма РНКи в экспериментах по подавлению репродукции вирусов гепатитов В и С [20]. Применение миРНК также продемонстрировало свою эффективность при острых респираторных вирусных инфекциях, вызываемых вирусом гриппа и парагриппа как *in vitro*, так и *in vivo* [21, 22]. Стало очевидным, что миРНК несут в себе огромный терапевтический потенциал в качестве противовирусных препаратов, способных специфически воздействовать на экспрессию вирусного генома [18].

Разработку противовирусных препаратов, активным компонентом которых являются миРНК, для лечения РСВ-инфекции можно рассматривать как идеальную стратегию по нескольким причинам:

РСВ имеет достаточное количество консервативных участков генома, против которых могут быть направлены миРНК.

При РСВ-инфекции миРНК могут быть доставлены локально, непосредственно в область инфекционного процесса, не требуя разработки специальных платформ доставки лекарственных препаратов на основе миРНК для системного применения.

Эффективность терапии препаратами на основе миРНК не будет зависеть от иммунного статуса пациента, что особенно важно при выборе тактики лечения у детей, пациентов пожилого и старческого возраста, а также иммунокомпрометированных пациентов [23, 24].

#### **Молекулярно-генетический механизм РНК-интерференции**

В 1998 г. были опубликованы результаты экспериментов Andrew Fire и Craig Mello: инъекция молекул двуцепочечной РНК (дцРНК) в организм

нематоды *Caenorhabditis elegans* приводит к эффективному и строго специфичному подавлению экспрессии гена, нуклеотидная последовательность которого гомологична последовательности введенной дцРНК [25]. После подавления экспрессии гена прекращается синтез кодируемого им белка и, соответственно, исчезает определенный признак. Поскольку в данном случае происходит наложение гомологичных по нуклеотидной последовательности нуклеиновых кислот, Fire и Mello назвали это явление РНК-интерференцией (RNA interference, RNAi, РНКи) по аналогии с интерференцией в физике.

Значительная часть генома эукариот транскрибируется с образованием РНК, не являющихся матрицами для синтеза белков. Одной из разновидностей некодирующих РНК являются молекулы дцРНК и образуемые в результате их процессинга короткие РНК, которые способны подавлять экспрессию гомологичных по нуклеотидной последовательности генов в ходе процесса РНК-интерференции [25]. Стало очевидным, что дцРНК может быть использована для избирательного воздействия на определенный ген, и в руках исследователей появилась технология, потенциал которой сложно переоценить. В 2006 г. Andrew Fire и Craig Mello (англ.) разделили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины за работы в области РНК-интерференции на нематоде *C. elegans*, опубликованные в 1998 г.

За эффект РНКи отвечают короткие молекулы РНК (длиной 21 – 23 нуклеотида), получившие название миРНК. МиРНК являются продуктом расщепления длинных молекул дцРНК, которые образуются в результате работы РНК-зависимой РНК – полимеразы или являются продуктом двунаправленной транскрипции генов или мобильных элементов. Модель механизма РНКи предполагает существование двух основных стадий: стадии инициации и эффекторной стадии. На стадии инициации происходят процессы образования миРНК из длинных молекул дцРНК. Расщепление предшественников до миРНК осуществляется ферментом Dicer (от англ. to dice – нарезать в форме кубиков), являющейся рибонуклеазой из семейства РНКаз III. В результате работы фермента Dicer образуются дуплексы миРНК (примерно 21 нуклеотид) с двумя неспаренными нуклеотидами на 3'-концах. На второй стадии происходит расплетание дуплексов миРНК ферментами геликазами, и одноцепочечные РНК встраиваются в эффекторные рибонуклеопротеиновые (РНП) комплексы – RISC (RNA induced silencing complex). РНП-комплексы состоят в основном из белков семейства Argonaute [26, 27]. Комплексы RISK направляются к мРНК-мишени благода-

ря комплементарному взаимодействию между миРНК и мРНК-мишенью. В этом комплексе Argonaute выполняет функцию эндонуклеазы (slicer), расщепляя мРНК-мишень. Таким образом, комплекс RISC осуществляет разрезание молекул мРНК-мишени в участках, полностью комплементарных миРНК, в результате чего мРНК деградирует. Одной из функций механизма РНК-интерференции является защита эукариотических клеток от вирусов. При попадании вирусной дцРНК в клетку за счет механизма РНКи происходит строго специфичная деградация вирусной РНК, с которой должны быть синтезированы вирусные белки [28].

РНК-интерференция обеспечивает простой, быстрый и рентабельный, альтернативный существующим на данный момент подходам в генотерапии как *in vitro*, так и *in vivo*. По сравнению с такими методами генотерапии, как применение антисмысловых олигонуклеотидов, а также триплекс-формирующих олигонуклеотидов, РНКи несет в себе ряд преимуществ. Во-первых, введенные дцРНК активируют естественный, фундаментальный клеточный механизм регуляции экспрессии генов, приводя к строго специфической деградации мРНК, и, что более важно и действительно многообещающе, – это возможное распространение эффекта РНКи от клетки к клетке (на сегодняшний день системное распространение эффекта не было продемонстрировано на млекопитающих, но недавно открытые молекулярные детали распространения РНКи у червей можно экстраполировать на мышей и человека, основываясь на обширной гомологии кодирующей ДНК) [29]. Во-вторых, – это высокая специфичность метода (подавляется экспрессия только того гена, нуклеотидная последовательность которого полностью соответствует нуклеотидной последовательности вводимой дцРНК) и высокая эффективность (экспрессия гена подавляется более чем на 90% и при этом дцРНК способна действовать в очень низких концентрациях, эффективными оказываются наномолярные концентрации [27, 30].

Необходимым и важным является также рассмотрение вопроса о том, имеет ли разработка препаратов, основанных на механизме РНК-интерференции, преимущества в сравнении с существующими на сегодняшний день подходами в поиске новых лекарственных препаратов. Безусловно, привлекательной является сравнительная дешевизна методики на основе миРНК в сравнении, например, с препаратами на основе моноклональных или поликлональных антител. Синтез олигонуклеотидов в настоящее время вполне доступен и прост. Кроме того, миРНК оказывают направленное патогенетическое действие лишь

на пораженные вирусом клетки. И наконец, применение комплекса миРНК предоставляет уникальную возможность для комбинированной терапии, целенаправленно воздействуя на конкретные гены вирусов, участвующие в инфекционном процессе.

### Подавление репродукции респираторно-синцитиального вируса методом миРНК

В отношении разработки препаратов на основе миРНК против РСВ имеется ряд преимуществ. Для применения миРНК в качестве противовирусного средства необходим выбор ключевого для репродукции вируса белка-мишени и участка соответствующей мРНК и метода доставки лекарственного вещества.

РСВ человека относится к типу *Mononegavirales*, семейству *Paramyxoviridae*, подсемейству *Pneumovirinae*, роду *Pneumovirus*. Вирионы РСВ плеоморфной или сферической формы диаметром 100–350 нм и состоят из спирального нуклеокапсида, окруженного липидной оболочкой, которая образуется из плазматической мембраны клетки при почковании и содержит 2–3 трансмембранных гликопротеида. Геном РСВ представлен односпиральной, линейной с негативной полярностью РНК, кодирующей 10 специфических белков. Семь белков являются неструктурными. Белки N, P и L входят в состав нуклеокапсида. В состав липопротеидной оболочки входят два гликопротеида: белок слияния F и белок прикрепления G. Белок F обеспечивает проникновение вируса в клетку и слияние инфицированной клетки с соседними, что приводит к образованию синцития. Белок G обеспечивает прикрепление вируса к клетке-мишени. С внутренней стороны в липопротеидную мембрану встроен мембранный или матриксный белок, который стабилизирует вирусную частицу и является медиатором сборки. Неструктурные белки включают в себя NS1 и NS2, малый интегративный мембранный протеин SH и фактор процессивности транскрипции M2. Для воссоздания функционального транскрипционного комплекса РСВ требуется минимум три вирусных белка: белок нуклеокапсида N, белок L, являющийся главной субъединицей РНК-зависимой-РНК-полимеразы и фосфопротеин P, являющийся меньшей субъединицей и эссенциальным транскрипционным фактором для белка L. Если ингибируется синтез необходимых субъединиц вирусной РНК-зависимой-РНК-полимеразы L или P, будет угнетаться основной объем вирусной транскрипции и репликации [31].

Для того чтобы использовать механизм РНК-интерференции в клетках млекопитающих, внутрь клеток необходимо ввести уже готовые синтетические двухцепочечные молекулы

миРНК длиной 21–22 нуклеотида с двумя неспаренными нуклеотидами на 3'-конце каждой цепи и наличием 5'-концевого фосфата и 3'-концевой гидроксильной группы. Это связано с тем, что при введении в клетки млекопитающих дцРНК длиной более 30 нуклеотидов они ответят активацией интерферонового ответа и снижением синтеза белка [32]. Синтетические миРНК длиной 21–22 нуклеотида не вызывают активацию интерферона и способны обойти первый этап РНК-интерференции, катализируемый ферментом Dicer, сохраняя способность опосредовать подавление экспрессии гена [33].

Эффективная доставка – единственный серьезный барьер к широкому внедрению терапевтических методов, основанных на технологии РНК-интерференции. Сложность доставки синтетических молекул миРНК заключается в том, что эти молекулы при введении в организм человека будут подвергаться деградации под действием нуклеаз сыворотки крови и внеклеточного матрикса. Кроме того, миРНК несут отрицательный электростатический заряд, что затрудняет их пассивное проникновение через мембраны клеток, также несущих отрицательный заряд [34].

На данный момент для доставки миРНК в клетки широко используются химические трансфекционные агенты. Катионная липосома – самый популярный из них. Механизм доставки миРНК внутрь клетки заключается в окружении миРНК, несущей отрицательный заряд, липофильной оболочкой, которая, в свою очередь, обеспечивает слияние с клеточной мембраной и проникновение миРНК в цитоплазму в составе эндосомы. Существует достаточно большое количество коммерческих разновидностей катионных липосом, разработанных специально для доставки миРНК (например, Липофектамин 2000) [35]. В исследованиях последних лет механизм РНКи с использованием липофектамина в качестве метода доставки миРНК был эффективно применен для подавления репликации РСВ на клеточных линиях [36].

Главным подходом в преодолении проблем, связанных с коротким периодом полувыведения и низкой биодоступностью подобных препаратов в условиях *in vivo*, на сегодняшний день является их локальное введение.

Методика локального применения миРНК в отношении РСВ-инфекции *in vivo* достаточно проста и реализуется при помощи систем интраназальной доставки лекарственных средств, которая с успехом продемонстрирована в ряде экспериментов на мышинных моделях, доказавших эффективность действия синтетических гомологичных по нуклеотидной последовательности генам РСВ, кодирующих белки P и N, миРНК

[36–38]. Помимо непосредственного подавления репродукции РСВ методом миРНК, было выполнено не менее интересное исследование, основной концепцией которого является снижение вирусной нагрузки при помощи миРНК, направленных против белка РСВ Р, с целью возможности формирования длительной иммунологической памяти. Как известно, перенесенная РСВ-инфекция не приводит к развитию стойкого иммунитета, по причине, которая на сегодняшний день до конца не изучена. В данной работе продемонстрировано, что введение инфицированным РСВ мышам миРНК в дозе, эффективной для снижения, но не прекращения репликации РСВ, приводит к снижению активности воспалительного процесса в легких мышей, а также к улучшению параметров Т-клеточного иммунного ответа и повышению продукции специфических антител к РСВ. Таким образом, миРНК не только эффективны как препараты с прямым противовирусным действием, снижающие вирусную нагрузку и активность воспалительного процесса в легких на доклинических исследованиях, но и способствуют активации иммунного ответа против РСВ [39].

Впечатляющие результаты были получены в 2010 г. в результате совместной работы исследователей из США и Великобритании. Выполнено рандомизированное, двойное-слепое, плацебо-контролируемое исследование препаратов на основе миРНК, направленных против РСВ. РСВ-инфекция вызывалась искусственно у 88 здоровых добровольцев. Введение миРНК (ALN-RSV01) и плацебо в виде солевого раствора осуществлялось ежедневно за 2 дня до и 3 дня после инокуляции РСВ. Была продемонстрирована хорошая переносимость данных препаратов при местном применении в виде назального спрея, аналогичная использованию плацебо. Частота развития инфекционного процесса, вызываемого РСВ, оказалась значительно ниже у пациентов, получавших миРНК. Множественный регрессионный анализ продемонстрировал отсутствие влияния различных факторов на антивирусную активность миРНК, таких как уже существующие антитела к РСВ и концентрация провоспалительных цитокинов [40]. В 2011 г. выполнено исследование препарата ALN-RSV01 на 24 пациентах, перенесших трансплантацию легких, с лабораторно подтвержденным диагнозом РСВ-инфекции. При применении ALN-RSV01 не было зафиксировано случаев развития побочных эффектов. Данный препарат достоверно снижал вирусную нагрузку, тяжесть симптомов заболевания, а также частоту развития посттрансплантационного обструктивного бронхолита. Такие обнадежи-

вающие результаты послужили основанием для проведения II В фазы многоцентрового, рандомизированного, двойного-слепого, плацебо-контролируемого исследования [41]. На сегодняшний день исследования продолжают.

### Заключение

На первом году жизни восприимчивость к РСВ-инфекции составляет 100% и протекает наиболее тяжело. Применение специфических противовирусных препаратов в этом возрастном периоде, особенно среди пациентов из групп риска, могло бы существенно снизить частоту госпитализации и смертности.

ALN-RSV01 продемонстрировали значительную противовирусную активность в отношении РСВ-инфекции, создав тем самым уникальное доказательство правильности концепции о возможности терапевтического применения механизма РНК-интерференции в организме человека, что, в свою очередь, обеспечивает платформу для дальнейшего исследования возможности эффективного использования миРНК в условиях естественно протекающей РСВ-инфекции как у детей, так и у взрослых пациентов. Возможность использования миРНК в качестве эффективного специфического противовирусного средства, безусловно, должна реализоваться в разработке безопасной и недорогой противовирусной терапевтической методики, открывающей принципиально новые возможности в терапии РСВ-инфекции и связанных с ней заболеваний дыхательных путей.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках выполнения работ по государственному контракту от 10.08.2011 г. № 16.512.11.2256 (ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 гг.»).*

### Литература

1. Venkatesh, M.P. Prevention and treatment of respiratory syncytial virus infection in infants: an update / M.P. Venkatesh, L.E. Weisman // *Expert. Rev. Vaccines*. — 2006. — V. 5, № 2. — P. 261–268.
2. Becker, Y. Respiratory syncytial virus (RSV) evades the human adaptive immune system by skewing the Th1/Th2 cytokine balance toward increased levels of Th2 cytokines and IgE, markers of allergy: a review / Y. Becker // *Virus Genes*. — 2006. — V. 33. — P. 235–252.
3. Ebbert, J.O. Respiratory syncytial virus pneumonitis in immunocompromised adults: clinical features and outcome / J.O. Ebbert, A.H. Limper // *Respiration*. — 2005. — V. 72, № 3. — P. 263–269.
4. Falsey, A.R. Respiratory syncytial virus infection in elderly and high-risk adults / A.R. Falsey [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 2005. — V. 352. — P. 1749–1759.

5. Steele, R.W. Reassessment of the indications for ribavirin therapy in respiratory syncytial virus infections / R.W. Steele // American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases. *Pediatrics*. — 1996. — V. 97, № 1. — P. 137–140.
6. Kim, H.W. Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine / H.W. Kim, J.G. Canchola // *Am. J. Epidemiol.* — 1968. — V. 89. — P. 422–434.
7. The IMPact-RSV Study Group. Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduces hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants // *Pediatrics*. — 1998. — V. 102, № 3. — P. 531–537.
8. Feltes, T.F. Palivizumab prophylaxis reduces hospitalization due to respiratory syncytial virus in young children with hemodynamically significant congenital heart disease / T.F. Feltes [et al.] // *J. Pediatr.* — 2003. — V. 143, № 4. — P. 532–540.
9. Vogel, A.M. Palivizumab prophylaxis of respiratory syncytial virus infection in high-risk infants / A.M. Vogel [et al.] // *J. Paediatr. Child. Health*. — 2002. — V. 38, № 6. — P. 550–554.
10. Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn. Revised indications for the use of palivizumab and respiratory syncytial virus immune globulin intravenous for the prevention of respiratory syncytial virus infections // *Pediatrics*. — 2003. — V. 112. — P. 1442–1446.
11. Hampp, C. Cost-Effectiveness of Respiratory Syncytial Virus Prophylaxis in Various Indications / C. Hampp [et al.] // *Arch. Pediatr. Adol. Med.* — 2011. — V. 165, № 6. — P. 498–505.
12. Committee on Infectious Diseases. Modified recommendations for use of palivizumab for prevention of respiratory syncytial virus infections // *Pediatrics*. — 2009. — V. 124. — P. 1694–1701.
13. Cohen, A.H. Phase IV study of the safety of synagis (palivizumab) for prophylaxis of respiratory syncytial virus disease in children with cystic fibrosis [abstract] / A.H. Cohen [et al.] // American Thoracic Society. — 2005. — V. 2. — P. 178.
14. Giebels, K. Prophylaxis against respiratory syncytial virus in young children with cystic fibrosis / K. Giebels [et al.] // *Pediatr. Pulmonol.* — 2008. — V. 43. — P. 169–174.
15. The IMPact-RSV Study Group. Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduces hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants / The IMPact-RSV Study Group // *Pediatrics*. — 1998. — V. 102. — P. 531–537.
16. Shadman, K.A. A review of palivizumab and emerging therapies for respiratory syncytial virus / K.A. Shadman, E.R. Wald // *Expert. Opin. Biol. Ther.* — 2011. — V. 11, № 11. — P. 1455–1467.
17. Simões, E.A. The effect of respiratory syncytial virus on subsequent recurrent wheezing in atopic and nonatopic children / E.A. Simões [et al.] // *J. Allergy. Clin. Immunol.* — 2010. — V. 126. — P. 256–262.
18. Dykxhoorn, D.M. Silencing viral infection / D.M. Dykxhoorn, J. Lieberman // *PLOS Medicine*. — 2006. — V. 3, 7. — P. 242.
19. Yeung, M.L. siRNA, miRNA and HIV: promises and challenges / M.L. Yeung [et al.] // *Cell. Res.* — 2005. — V. 15. — P. 935–946.
20. Rendall, G. Progress toward the therapy of hepatitis with RNAi / G. Rendall // *Hepatology*. — 2005. — V. 41, № 6. — P. 1220–1222.
21. Tompkins, S.M. Protection against lethal influenza virus challenge by RNA interference in vivo / S.M. Tompkins [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2004. — V. 101. — P. 8682–8686.
22. Bitko, V. Inhibition of respiratory viruses by nasally administered siRNA / V. Bitko [et al.] // *Nat. Med.* — 2005. — V. 11. — P. 50–55.
23. Falsey, A.R. Respiratory syncytial virus infection in adults / A.R. Falsey // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* — 2007. — V. 28. — P. 171–181.
24. Khanna, N. Respiratory syncytial virus infection in patients with hematological diseases: single-center study and review of the literature / N. Khanna [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* — 2008. — V. 46. — P. 402–412.
25. Fire, A. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* / A. Fire [et al.] // *Nature*. — 1998. — V. 391. — P. 806–811.
26. Hamilton, A. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing / A. Hamilton [et al.] // *EMBO J.* — 2002. — V. 21. — P. 4671–4679.
27. Pushparaj, P.N. Short interfering RNA (siRNA) as a novel therapeutic / P.N. Pushparaj, A.J. Melendez // *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. — 2006. — V. 33. — P. 504–510.
28. Bartel, D.P. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, function / D.P. Bartel // *Cell*. — 2004. — V. 116. — P. 281–297.
29. Winston, W.M. Systemic RNAi in *C. elegans* requires the putative transmembrane protein SID-1 / W.M. Winston, C. Molodowitch, C.P. Hunter // *Science*. — 2002. — V. 295. — P. 2456–2459.
30. Martineau, H.M. Review of the Application of RNA Interference Technology in the Pharmaceutical Industry / H.M. Martineau, I.T. Pyrah // *Toxicol. Pathol.* — 2007. — V. 35. — P. 327–336.
31. Yu, Q. Functional cDNA clones of the human respiratory syncytial (RS) virus N, P, and L proteins support replication of RS virus genomic RNA analogs and define minimal trans-acting requirements for RNA replication / Q. Yu, R.W. Hardy, G.W. Wertz // *J. Virol.* — 1995. — V. 69, № 4. — P. 2412–2419.
32. Zamore, P.D. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals / P.D. Zamore [et al.] // *Cell*. — 2000. — V. 101. — P. 25–33.
33. Bernstein, E. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference / E. Bernstein [et al.] // *Nature*. — 2001. — V. 409. — P. 363–366.
34. Higuchi, Y. Strategies for in vivo delivery of siRNAs: recent progress / Y. Higuchi, S. Kawakami, M. Hashida // *BioDrugs*. — 2010. — V. 24. — P. 195–205.
35. Dass, C.R. Lipoplex-mediated delivery of nucleic acids: factors affecting in vivo transfection / C.R. Dass // *J. Mol. Med.* — 2004. — V. 82. — P. 579–591.
36. Акимов, В.С. Подавление репродукции респираторно-синцитиального вируса методом siRNA / В.С. Акимов [и др.] // *Вопр. вирусологии*. — 2007. — № 2. — С. 8–12.
37. Bitko, V. Inhibition of respiratory viruses by nasally administered siRNA / V. Bitko [et al.] // *Nat. Med.* — 2005. — V. 11, № 1. — P. 50–55.
38. Alvarez, R. RNA interference-mediated silencing of the respiratory syncytial virus nucleocapsid defines a potent antiviral strategy / R. Alvarez [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2009. — V. 53, № 9. — P. 3952–3962.
39. Zhang, W. RNA Interference Inhibits Respiratory Syncytial Virus Replication and Disease Pathogenesis without Inhibiting Priming of the Memory Immune Response / W. Zhang, R.A. Tripp // *J. Virol.* — 2008. — V. 82. — P. 12221–12231.
40. DeVincenzo, J. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of an RNAi-based therapy directed against

respiratory syncytial virus / J. DeVincenzo [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2010. — V. 107, № 19. — P. 8800–8805.

41. Zamora, M.R. RNA interference therapy in lung transplant patients infected with respiratory syncytial virus / M.R. Zamora [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2011. — V. 183, № 4. — P. 531–538.

---

*Авторский коллектив:*

*Высочинская Вера Валерьевна* — клинический ординатор отделения экспериментальной терапии хронических вирусных гепатитов НИИ гриппа; тел: 8-921-591-72-47, e-mail: veravv2509@gmail.com;

*Эсауленко Елена Владимировна* — заведующая кафедрой инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии, д.м.н., профессор; тел./факс: 8(812)499-48-16, e-mail: esaulenko@influenza.spb.ru;

*Богданов Алексей Александрович* — старший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Санкт-Петербургского академического университета — научно-образовательного центра нанотехнологий РАН; тел: +7-911-228-80-00, e-mail: aleks\_aa@mail.ru;

*Гораб Дуня Нурединовна* — старший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Санкт-Петербургского академического университета — научно-образовательного центра нанотехнологий РАН; тел: +7-911-947-03-54, e-mail: ddounya@hotmail.com;

*Князев Николай Александрович* — младший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Санкт-Петербургского академического университета — научно-образовательного центра нанотехнологий РАН; тел: +7-921-321-64-49, e-mail: nickolayknz@gmail.com;

*Дубина Михаил Владимирович* — заведующий лабораторией нанобиотехнологий Санкт-Петербургского академического университета — научно-образовательного центра нанотехнологий РАН, член-корреспондент РАН, д.м.н.; тел: +7-921-957-85-44, e-mail: michael.dubina@gmail.com.