



ОБОЗРЫ ЛИТЕРАТУРЫ LITERATURE REVIEWS

Обзор

УДК 617.71

DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2023-4-49-52>

Перспективные направления в лечении герпетической инфекции глаза

Г.Х. Зайнутдинова

Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа, Россия

РЕФЕРАТ

Данный обзор литературы посвящен современной технологии лечения герпетической инфекции глаза путем редактирования генома вируса. Важность проблемы заключается в том, что в настоящее время нет препаратов, способных уничтожить герпесвирусы, а их пожизненная персистенция в организме человека может приводить к рецидивам с развитием слепоты и слабовидения. В обзоре описаны результаты доклинических исследований применения технологии CRISPR-ассоциированного белка 9 (CRISPR/Cas9) в лечении герпетической инфекции глаз, а также при использовании данной технологии в клинике при пересадке роговицы в случаях тяжелого стромального кератита.

Ключевые слова: глаз, вирус простого герпеса 1-го типа, лечение, редактирование генома

Для цитирования: Зайнутдинова Г.Х. Перспективные направления в лечении герпетической инфекции глаза.

Точка зрения. Восток – Запад. 2023;4: 49–52. DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2023-4-49-52>

Автор, ответственный за переписку: Гузель Халитовна Зайнутдинова, gusel.zai@yandex.ru

Review

Promising directions in the treatment of herpetic eye infection

G.H. Zainutdinova

Ufa Eye Research Institute, Ufa, Russia

ABSTRACT

This literature review is devoted to the modern technology for treating herpetic eye infections – genome editing. The importance of the problem lies in the fact that currently there are no drugs that can destroy herpes viruses, and their lifelong persistence in the human body can lead to relapses with the development of blindness and low vision. The review describes the results of preclinical studies of the use of CRISPR-associated protein 9 (CRISPR/Cas9) technology in the treatment of herpes eye infection, as well as when using this technology in the clinic for corneal transplantation in cases of severe stromal keratitis.

Key words: eye, herpes simplex virus type 1, treatment, genome editing

For quoting: Zainutdinova G.H. Promising directions in the treatment of herpetic eye infection. Point of view. East – West.

2023;4: 49–52. DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2023-4-49-52>

Corresponding author: Guzel H. Zainutdinova, gusel.zai@yandex.ru

Известен ряд заболеваний глаз, которые, несмотря на проводимую общепринятую консервативную терапию или хирургическое вмешательство, приводят к развитию слабовидения или слепоты, нередко инвалидности по зрению, тем самым существенно снижая качество жизни пациентов. Имеющиеся на сегодняшний день традиционные методы лечения пациентов с заболеваниями органа зрения в основном позволяют лишь устранить клинические симптомы, например, при офтальмогерпесе, или замедлить прогрессирование процесса, например, глаукоме, но не приводят к полному излечению. Нарушениями зрения вследствие наличия наследственных генетических и негенетических заболеваний глаз в мире страдает более 2 млрд человек, которые нуждаются в инновационных методах лечения [1].

В настоящее время серьезной проблемой остается лечение герпетической инфекции глаза. Так, по дан-

ным Всемирной организации здравоохранения, в 2016 г. 3,7 млрд человек в возрасте до 50 лет, или 67% мирового населения, были инфицированы вирусом простого герпеса (ВПГ) 1-го типа (ВПГ-1). Большинство инфекций ВПГ-1 приобретаются в детстве. До сих пор препаратом первой линии для лечения герпетической инфекции, вызванной ВПГ-1, остаются препараты аномальных нуклеозидов, в частности ацикловир и его аналоги – селективные ингибиторы вирусной ДНК-полимеразы. Однако у некоторых пациентов, получающих противовирусную терапию данным препаратом, часто возникает лекарственная устойчивость. Эту группу пациентов составляют в основном лица, имеющие ослабленный иммунитет [2, 3].

Известно, что большая часть генома ВПГ-1 представляет собой линейную двуцепочечную GC-богатую ДНК. Концы генома, вероятно, соединены или расположены

близко друг от друга, поскольку небольшая фракция упакованной ДНК – кольцевая или приобретает кольцевую форму в отсутствие белкового синтеза после проникновения в ядро инфицированной клетки. На разных этапах инфекции ВПГ-1 экспрессирует различные гены, которые последовательно регулируют экспрессию друг друга.

Как известно, на сегодняшний день нет препаратов, позволяющих уничтожить ВПП, который способен к пожизненной персистенции в организме человека [4]. При этом ВПП-1 остается основной причиной слепоты, и в настоящее время не существует лечения, способного уничтожить его как в очаге инфекции, так и в его латентном резервуаре, в частности тройничном ганглии. Большинство современных препаратов для лечения герпетических инфекций основаны на использовании в качестве лекарственных средств модифицированных нуклеозидов или их депо-формы. Действие препаратов направлено главным образом на подавление активности основного фермента репликации вируса – ДНК-полимеразы. Однако препараты не избавляют пациентов от рецидивирующего характера течения болезни, а результатом их длительного приема может стать возникновение резистентных штаммов ВПП. Поэтому поиск эффективных препаратов и методик для лечения пациентов с герпетической инфекцией продолжается.

Альтернативные стратегии, такие как применение ингибиторов вирусной хеликазы-примазы, антител и пептидов, находятся лишь в стадии разработки [5–7]. Недавно появилось сообщение о том, что ингибитор TANK-связывающей киназы 1, VX-795, способен подавлять герпетическую инфекцию в трансформированных и первичных клетках роговицы человека *in vivo*, а также в экспериментальной модели офтальмогерпеса путем фосфорилирования Akt в инфицированных клетках [8]. Ученые установили, что VX-795 нетоксичен для здоровых клеток и эффективно справляется с инфекцией. Исследователи сделали вывод о том, что VX-795 работает иначе, чем современные лекарства: если ацикловир взаимодействует с вирусом напрямую, встраиваясь в его ДНК, то новое вещество нацелено на компоненты самой клетки.

Однако пока ни одна из стратегий не способна привести к элиминации ВПП, а также предотвратить рецидив данной инфекции.

В настоящее время проводятся научные исследования биоханина А, являющегося природным флавоноидным соединением, который в виде глазных капель применяется для лечения герпетического кератита. Как показали результаты исследований у экспериментальных животных, данное соединение значительно ингибирует репликацию ВПП-1 *in vitro*, а также обеспечивает защитное действие, подавляя экспрессию провоспалительных факторов и тем самым снижая степень поражения роговицы уже на ранней стадии вирусной инфекции. Препарат биоханин А после прохождения клинических испытаний может стать препаратом выбора в лечении герпетического кератита [9].

Современным направлением в лечении заболеваний, в том числе и органа зрения, которое недавно появилось и успешно развивается, является редактирование генома для исправления генных мутаций [10–13]. Эта инновационная технология может стать прорывной методи-

кой при лечении различной офтальмопатологии – как связанной, так и не связанной с генетическими изменениями. Однако на сегодняшний день возможность применения модуляции экспрессии генов, ее безопасность и эффективность для лечения пациентов продолжает изучаться. Кроме того, требуется разработка более безопасных инструментов для более точных манипуляций при редактировании генов, оптимизация систем доставки, что приведет к снижению количества побочных эффектов и осложнений.

Достаточно успешное развитие технологии редактирования генома при заболеваниях глаз стало возможным ввиду наличия особого статуса – «иммунной привилегированности» органа зрения, что позволяет после вмешательства избежать избыточной воспалительной реакции [14, 15]. Кроме того, современное диагностическое оборудование (оптический когерентный томограф с функцией ангиографии сетчатки, конфокальный микроскоп для *in vivo* исследования всех слоев роговицы и др.) для неинвазивной визуализации и мониторинга всех происходящих клинических изменений в глазу позволяет осуществлять контроль лечения в режиме реального времени, оценивать эффективность и безопасность, служить доказательной базой полученных результатов.

Внедрение в практическую офтальмологию в 2017 г. первого препарата для генетической терапии воретиген непарвовек (Лукстурна, Luxturna), разработанного американской фирмой Spark Therapeutics, положило начало генной терапии глаз. Воретиген непарвовек был предназначен только для лечения мутаций в гене *RPE65* при наследственной дистрофии сетчатки (НДС) – врожденном амаврозе Лебера и пигментном ретините. В настоящее время выделяют две фенотипические формы НДС, вызванные биаллельными мутациями гена *RPE65*: аутосомно-рецессивный изолированный пигментный ретинит 20-го типа и врожденный амавроз Лебера 2-го типа [16]. Доставка функционального (нормального) гена *RPE65* в клетки пигментного эпителия сетчатки осуществляется аденоассоциированным вирусом, который содержит препарат воретиген непарвовек [17]. В России воретиген непарвовек был зарегистрирован в 2020 г. Применение препарата у когорты пациентов показало его достоверную эффективность, сопоставимую с результатами, полученными зарубежными исследователями [16].

Весьма обнадеживающие результаты получены и при генетической терапии офтальмогерпеса, вызванного ВПП-1. В доклинических исследованиях большие перспективы в лечении генетических заболеваний показала новая технология CRISPR (от англ. clustered regularly interspaced short palindromic repeats – короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группы) – особые локусы бактерий и архей, состоящие из прямых повторяющихся последовательностей, разделенных уникальными последовательностями (спейсерами), способные напрямую воздействовать на геномы [18–23]. Обнаружено, что CRISPR-ассоциированные (Cas) гены (clustered, regularly interspaced, short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR-associated system (Cas)), расположенные рядом с локусами CRISPR, кодируют белки, которые облегчают иммунный ответ путем нацеливания и разрушения вторгающихся нуклеиновых кислот

вируса [24]. С помощью CRISPR/Cas можно вносить точечные мутации, встраивать в определенные места новые гены или, наоборот, удалять участки нуклеотидных последовательностей, исправлять или заменять фрагменты генов.

В настоящее время наиболее простой и эффективной среди других известных технологий редактирования генов является система CRISPR-ассоциированного белка 9 (CRISPR/Cas9), которая была изначально описана как механизм адаптивного иммунитета архей и бактерий. После ряда модификаций она активно применяется в генной инженерии для направленного ДНК-разрыва в направляющей молекуле РНК (single guide RNA, sgРНК). Система CRISPR/Cas9 состоит из двух основных компонентов: однонаправляющей РНК (sgRNA), которая нацелена на определенную последовательность ДНК, и белка Cas9, действующего как молекулярные ножницы, разреза ДНК в нужном месте, в результате чего образуется двухцепочечный разрыв в целевой ДНК [25, 26].

Исследователями в области генной инженерии продолжается поиск наиболее эффективных и безопасных способов доставки генетического материала в очаг инфекции. В ряде исследований установлено, что удобным в применении современным средством доставки генетического материала в различные типы клеток могут служить лентивирусные частицы – род вирусов из семейства ретровирусов (*Retroviridae*) с длительным инкубационным периодом.

В частности, обнадеживающие результаты получены D. Yin и соавт. (2021), которые использовали лентивирусные частицы, несущие мРНК вируса и одновременно доставляющие мРНК SpCas9 и gРНК, нацеленные на гены ВПГ (HSV-1-erasing lentiviral particles, HELP), и продемонстрировали ее терапевтическую эффективность на трех различных моделях герпетического кератита и роговицах человека. Доставка частиц HELP осуществлялась интрастромально, что часто используется в клинической практике для доставки бевацизумаба в строму роговицы пациентов с герпетическим кератитом для предотвращения неоваскуляризации роговицы. Частицы HELP эффективно воздействуют на два гена ВПГ, необходимые для его репликации, – *UL8* и *UL29* [27–29]. Полногеномное секвенирование установило, что HELP ингибирует репликацию вируса в роговице человека, не вызывая при этом нежелательных побочных эффектов. Экспериментально доказана эффективность введения HELP в строму роговицы, которая блокировала репликацию ВПГ-1, что останавливало развитие герпетического кератита [29]. Кроме того, HELP способен уничтожить резервуар вируса ВПГ-1 посредством ретроградного транспорта из роговицы в тройничный ганглий. Исследуется перспективность применения HELP у пациентов с острой перфорацией роговицы или недостаточностью трансплантации донорской роговицы при рецидиве ВПГ-1 [29].

В литературе имеется сообщение о положительных результатах в течение 18 месяцев наблюдения применения HELP у 3 пациентов во время трансплантации роговицы по поводу тяжелых рецидивов герпетического стромального кератита [30]. Сразу после проведения лечения ДНК вируса герпеса перестала определяться у па-

циентов. У пациента с более высокой вирусной нагрузкой ДНК ВПГ-1 не выявлялась через 6 месяцев после лечения. Следует отметить, что ни у одного из пациентов не наблюдалось побочных эффектов и местных и/или системных иммунных реакций [30].

Высокая эффективность использования и относительная безопасность HELP в эксперименте, а также в группе пациентов с тяжелыми формами офтальмогерпеса может ускорить проведение клинической апробации и внедрение данной технологии в практическую медицину в ближайшее время [29]. В целом эти исследования дают ценную информацию о потенциале CRISPR/Cas9 как терапевтического инструмента для лечения заболеваний, вызванных ВПГ-1. Будущие исследования, сравнивающие HELP с традиционным лечением препаратом ацикловир, будут иметь решающее значение для полной оценки его эффективности и безопасности.

Таким образом, перспективным направлением в лечении герпетической инфекции глаза является редактирование генома для исправления наследственных и ненаследственных генных мутаций. Развитие технологий геномной инженерии в лечении пациентов с герпетическими заболеваниями глаза приведет к появлению таргетных методов, что повысит их эффективность, а также будет способствовать расширению представлений о патогенезе данной офтальмопатологии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health.* 2017;5: 1221–1234. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30393-5
2. Vadlapudi AD, Vadlapatla RK, Mitra AK. Update on emerging antivirals for the management of herpes simplex virus infections: a patenting perspective. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2013Apr;8: 55–67.
3. Jiang YC, Feng H, Lin YC, Guo XR. New strategies against drug resistance to herpes simplex virus. *Int J Oral Sci.* 2016;8(1): 1–6. doi: 10.1038/ijos.2016.3
4. Farooq AV, Shukla D. Herpes simplex epithelial and stromal keratitis: an epidemiologic update. *Surv Ophthalmol.* 2012;57: 448–462. doi: 10.1016/j.survophthal.2012.01.005
5. Koganti R, Yadavalli T, Shukla D. Current and Emerging Therapies for Ocular Herpes Simplex Virus Type-1 Infections. *Microorganisms.* 2019;7: 429. doi: 10.3390/microorganisms7100429
6. Crute JJ, et al. Herpes simplex virus helicase-primase inhibitors are active in animal models of human disease. *Nat Med.* 2002Apr;8(4): 386–91. doi: 10.1038/nm0402-386.
7. Kleymann G, Fischer R, Betz UAK, et al. New helicase-primase inhibitors as drug candidates for the treatment of herpes simplex disease. *Nat Med.* 2002;8(4): 392–398. doi: 10.1038/nm0402-392
8. Jaishankar D, Yakoub AM, Yadavalli T, et al. An off-target effect of BX795 blocks herpes simplex virus type 1 infection of the eye. *Sci Transl Med.* 2018;10(428): ean5861. doi: 10.1126/scitranslmed.aan5861
9. Zhou N, Zheng D, You Q, Chen T, Jiang J, Shen W, Zhang D, Liu J, Chen D, Hu K. Therapeutic Potential of Biochanin A in Herpes Simplex Keratitis. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(9): 1240. doi: 10.3390/ph16091240
10. Caruso SM, Quinn PM, da Costa BL & Tsang SH. CRISPR/Cas therapeutic strategies for autosomal dominant disorders. *J Clin Invest.* 2022;132(9): e158287. doi: 10.1172/JCI158287
11. Suh S, Choi EH, Raguram A, Liu DR, Palczewski K. Precision genome editing in the eye. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2022;119: e2210104119. doi: 10.1073/pnas.2210104119
12. Yan AL, Du SW, Palczewski K. Genome editing, a superior therapy for inherited retinal diseases. *Vis Res.* 2023;206: 108192. doi: 10.1016/j.visres.2023.108192

13. Du SW, Palczewski K. Eye on genome editing. *J Exp Med*. 2023;220(5): e20230146. doi: 10.1084/jem.20230146
14. Taylor A. Ocular immune privilege. *Eye*. 2009;23: 1885–1889. doi: 10.1038/eye.2008.382
15. Streilein JW. Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(11): 879–889. doi: 10.1038/nri1224
16. Кадышев В.В., Зольникова И.В., Халанская О.В., Степанова А.А., Куцев С.И. Наследственная дистрофия сетчатки: первые результаты после RPE65-генозаместительной терапии в России. *Вестник офтальмологии*. 2022;138(4): 48–57. [Kadyshev VV, Zolnikova IV, Khalanskaya OV, Stepanova AA, Kutsev SI. Inherited retinal dystrophy: first results of RPE65 gene replacement therapy in Russia. *Russian Annals of Ophthalmology = Vestnik oftal'mologii*. 2022;138(4): 48–57. (In Russ.)] doi: 10.17116/oftalma202213804148
17. Russell S, et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;390: 849–860. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31868-8
18. Nelson CE, Wu Y, Gemberling MP, et al. Long-term evaluation of AAV-CRISPR genome editing for Duchenne muscular dystrophy. *Nat Med*. 2019;25(3): 427–432. doi: 10.1038/s41591-019-0344-3
19. Maeder ML, Stefanidakis M, Wilson CJ, et al. Development of a gene-editing approach to restore vision loss in Leber congenital amaurosis type 10. *Nat Med*. 2019;25(2): 229–233. doi: 10.1038/s41591-018-0327-9
20. Beyret E, Liao H-K, Yamamotoet M, et al. Single-dose CRISPR-Cas9 therapy extends lifespan of mice with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nat Med*. 2019;25(3): 419–422. doi: 10.1038/s41591-019-0343-4
21. Santiago-Fernandez O, Osorio FG, Quesadaet V, et al. Development of a CRISPR/Cas9-based therapy for Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nat Med*. 2019;25(3): 423–426. doi: 10.1038/s41591-018-0338-6
22. Lee B, Lee K, Pandaet S, et al. Nanoparticle delivery of CRISPR into the brain rescues a mouse model of fragile X syndrome from exaggerated repetitive behaviours. *Nat Biomed Eng*. 2018;2(7): 497–507. doi: 10.1038/s41551-018-0252-8
23. Gao X, Tao Y, Lamas V, et al. Treatment of autosomal dominant hearing loss by in vivo delivery of genome editing agents. *Nature*. 2018;553(7687): 217–221. doi: 10.1038/nature25164
24. Makarova KS, Grishin NV, Shabalina SA, Wolf YuI, Kunin EV. A putative RNAi-based prokaryotic immune system: computational analysis of the predicted enzymatic mechanism, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action. *Biol Straight*. 2006;1: 7. doi: 10.1186/1745-6150-1-7
25. Wang JY, Doudna JA. CRISPR technology: a decade of genome editing is only the beginning. *Science*. 2023;379: eadd8643. doi: 10.1126/science.add8643
26. Смирнова А.В., Юнусова А.М., Лукьянчикова В.А., Баттулин Н.Р. Система CRISPR/Cas9 – универсальный инструмент геномной инженерии. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(4): 493–510. [Smirnova AV, Yunusova AM, Lukyanchikova VA, Battulin NR. CRISPR/Cas9, a universal tool for genomic engineering. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(4): 493–510. (In Russ.)] doi: 10.18699/VJ16.175
27. Weerasooriya S, DiScipio KA, Darwish AS, Bai P, Weller SK. Herpes simplex virus 1 ICP8 mutant lacking annealing activity is deficient for viral DNA replication. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 2019;116: 1033–1042. doi: 10.1073/pnas.1817642116
28. Weller SK, Coen DM. Herpes simplex viruses: mechanisms of DNA replication. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012;4: a013011. doi: 10.1101/cshperspect.a013011
29. Yin D, Ling S, Wang D, et al. Targeting herpes simplex virus with CRISPR-Cas9 cures herpetic stromal keratitis in mice. *Nat Biotechnol*. 2021;39: 567–577. doi: 10.1038/s41587-020-00781-8/
30. Wei A, Yin D, Zhai Z, et al. In vivo CRISPR gene editing in patients with herpes stromal keratitis. Preprint at medRxiv. 2023. doi: 10.1101/2023.02.21.23285822

Информация об авторе

Гузель Халитовна Зайнутдинова, д.м.н., старший научный сотрудник, gusel.zai@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9578-8635>

Information about the author

Guzel Kh. Zainutdinova, Doctor of Medical Sciences, Senior Researcher, gusel.zai@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9578-8635>.

Вклад автора:

Г.Х. Зайнутдинова: концепция, написание текста, редактирование.

Authors' contribution:

G.H. Zainutdinov: concept, writing the text, editing.

Финансирование: Автор не получал конкретный грант на это исследование от какого-либо финансирующего агентства в государственном, коммерческом и некоммерческом секторах.

Financial transparency: Author have no financial interest in the submitted materials or methods.

Конфликт интересов: Отсутствует.

Conflict of interest: None.

Поступила: 01.12.2023

Переработана: 08.12.2023

Принята к печати: 11.12.2023

Originally received: 01.12.2023

Final revision: 08.12.2023

Accepted: 11.12.2023