

# Murranguline tehnoloogia, mis võib pakkuda palju enam kui koroonavaktsiinid

Ana Rebane – Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditsiini instituut

Euroopa ja Eesti Ravimiamet on andnud müügiloa kahele informatsiooni-RNA (*messenger RNA*, mRNA) põhisele COVID-19-vaktsiinile ning alustatud on ka vaktsineerimisi. Nendest esimesena Eestis kasutusele tulnud vaktsiini – BNT162b2, kommertsiaalse nimega

Comirnaty – tehnoloogia arendajad ja tootjad on Saksamaal paiknev firma BioNTech ja farmaatsia suurkompanii Pfizer. Teine vaktsiin on tuntud nimetusega mRNA-1273 ning selle on välja töötanud Ameerika Ühendriikides paiknev mRNA-põhiste vaktsiinide ja ravimite

arendamisele spetsialiseerunud firma Moderna.

Mõlemad vaktsiinid on näidanud enam kui 90% efektiivsust kolmanda faasi kliinilistes uuringutes (1, 2). Lisaks on Moderna vaktsiini käsitletavates uuringutes näidatud, et vaktsineerimisel tekib immuunsus

**Tabel 1.** Moderna ja Pfizeri-BioNTechi vaktsiinide võrdlus\*

	Pfizer ja BioNTech	Moderna
Ühe annuse suurus ja toimeaine	0,3 ml annus, igas 30 µg mRNA-d pakituna lipiidiga ALC-0315 nanokompleksi	0,5 ml, sisaldab 100 µg 5'CAP struktuuriga mRNA-d pakituna lipiidiga SM-102 nanokompleksi
Teised koostisosad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2-[(polüetüleenglükool)-2000]-N,N-ditetradetsüülatsietamiid (ALC-0159)</li> <li>• 1,2-distearoüül-sn-glütsero-3-fosfokoliin (DSPC)</li> <li>• kolesterool</li> <li>• kaaliumkloriid</li> <li>• kaaliumdivesinikfosfaat</li> <li>• naatriumkloriid</li> <li>• dinaatriumfosfaatdihüdraat</li> <li>• sahharoos</li> <li>• süstevesi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kolesterool,</li> <li>• 1,2-distearoüül-sn-glütsero-3-fosfokoliin (DSPC)</li> <li>• 1,2-dimüristoüül-rac-glütsero-3-metoksüpolüetüleenglükool-2000 (PEG2000 DMG)</li> <li>• trometamiin</li> <li>• trometamiinvesinikkloriid</li> <li>• äädikhape</li> <li>• naatriumatsetaattrihüdraat-sahharoos</li> <li>• süstevesi</li> </ul>
Säilitamine	-80 °C	-20 °C
Kasutamine	kaks annust süstitakse õlavarrelihasesse vähemalt 21-päevase vahega	kaks annust süstitakse õlavarrelihasesse umbes 28-päevase vahega
Isikud, kellele on see lubatud	Täiskasvanutele ja noorukitele alates 16 aasta vanusest	Täiskasvanutele alates 18 aasta vanusest
Väga sagedased kõrvaltoimed (> 1 inimesel 10-st)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• valu ja turse süstekohas</li> <li>• väsimus</li> <li>• peavalu</li> <li>• lihasevalu</li> <li>• liigesevalu</li> <li>• külmavärinad, palavik</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kaenlaaluse paistetus</li> <li>• peavalu</li> <li>• iiveldus, oksendamine</li> <li>• lihasevalu, liigesevalu ja -jäikus</li> <li>• süstekoha valu või turse</li> <li>• tugev väsimustunne</li> <li>• külmavärinad, palavik</li> </ul>
Sagedased kõrvaltoimed (kuni 1 inimesel 10-st)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• punetus süstekohas</li> <li>• iiveldus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lööve, süstekoha lööve, punetus või nõgestõbi</li> </ul>
Aeg-ajalt esinevad kõrvaltoimed (kuni 1 inimesel 100-st)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lümfisõlmede suurenemine</li> <li>• halb enesetunne</li> <li>• valu jäsemetes</li> <li>• unetus</li> <li>• sügelus süstekohas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• süstekoha sügelus</li> </ul>
Harva esinevad kõrvaltoimed (kuni 1 inimesel 1000-st)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ajutine ühepoolne näonärvihälvatus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ühe näo poole ajutine nõrkus</li> <li>• näo paistetus isikutel, kes on saanud näo kosmeetilisi süste</li> </ul>
Võimalikud kõrvaltoimed, mille sagedus ei ole teada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• raske allergiline reaktsioon</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• raske allergiline reaktsioon (anafülaksia)</li> <li>• ülitundlikkus</li> </ul>

\* Võrdlus on koostatud Ravimiameti avaldatud infolehtede põhjal ([www.ravimiamet.ee](http://www.ravimiamet.ee)).

ka vanemaerialistel ning et kolm kuud pärast vaktsineerimist on viirust neutraliseerivate antikehade hulk endiselt suur ja piisav kaitseks (1, 3). Mõlema vaktsiini tehnoloogia, kasutamine, koostis ja võimalikud kõrvaltoimed on paljuski sarnased (vt tabel 1).

Uudne mRNA-vaktsiinide tehnoloogia on tekitanud väga palju küsimusi. Kuidas on võimalik, et need vaktsiinid on nii efektiivsed? Kuidas saadi need vaktsiinid valmis nii kiiresti? Kas vaktsiini mRNA ise kutsub esile immuunvastust või mitte? Kui vaktsiini mRNA või selle tükid võivad jääda kauemaks organismi alles, siis kas nad võivad mõjutada või muuta meie genoomi? Miks tekivad allergilised kõrvalnähud, sealjuures mõningatel juhtudel anafülaksia? Kas tulevikus leiab see tehnoloogia rakendust ka teiste vaktsiinide loomisel ja ravimiarenduses?

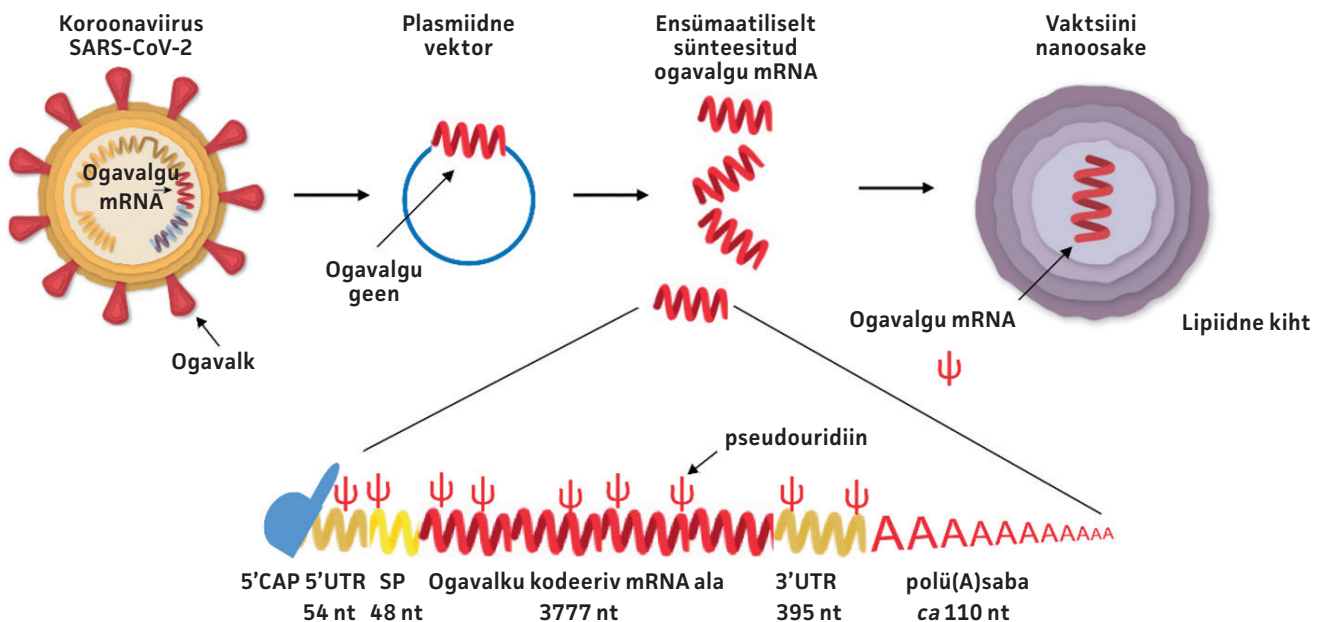
Et kõikidele nendele küsimustele vastata, on alljärgnevalt püütud

selgitada nende vaktsiinide tehnoloogia arendamise teaduslikku tausta ning tuleviku väljavaateid oma erialast lähtuvalt.

### MIDA mRNA VAKTSIINI SISALDAB?

Mõlema vaktsiini toimeaine on koroonaviiruse SARS-CoV-2 ogavalgu geneetiline informatsioon mRNA kujul, mis on pakitud lipiidseesse nanokompleksi, mida kutsutakse ka liposoomiks. Joonisel 1 on toodud ülevaatlik skeem mRNA-vaktsiini koostisest ja sellest, kuidas see on valmistatud. Vaktsiini loomiseks klooniti ogavalku kodeeriv mRNA ja selle lisaelemendid plasmiidse DNA vektorisse. mRNA tootmine vektorilt toimub ensümaatilisel, kuid täpsemaid ensüüme ja protsessi ei ole tootjad avaldanud. Mõlema vaktsiini mRNA 5' otsa on lisatud modifitseeritud nukleotiid, 7-metüül-guanoosiin (m<sup>7</sup>G), ehk 5'CAP ning 3' otsa on lisatud polü(A) saba.

Need mõlemad lisatud elemendid on olemas peaaegu kõikidel valke kodeerivatel mRNA-del eukarüootsetes rakkudes ning neile seonduvad valgu sünteesiks vajalikud ja mRNA-d lagunemise eest kaitsvad valgud (4). Pfizeri-BioNTechi vaktsiini mRNA järjestuse ja struktuuri on Maailma Terviseorganisatsioon avaldanud. Seetõttu on ka teada, et selle vaktsiini puhul on uridiin, mis on üks neljast RNA nukleotiidist, asendatud pseudouridiiniga, täpsemalt N-1-metüül-pseudouridiiniga (edaspidi m<sup>1</sup>ψ). Vaktsiini mRNA-s on asendatud kõik uridiinid m<sup>1</sup>ψ-ga. Varem on näidatud, et m<sup>1</sup>ψ-de lisamisel muutub valgusüntees rakkudes 5–8 korda efektiivsemaks (5). Natuke muudab m<sup>1</sup>ψ-de lisamine mRNA ka stabiilsemaks, sest nii tavalised ψ-d kui ka m<sup>1</sup>ψ suurendavad RNA jäikust ning RNAas L, mis on ensüüm, mille aktiveerivad interferoonid, ei suuda modifitseeritud ja modifitseerimata ψ-dega RNA-d enam tükeldada (6).



**Joonis 1.** Skemaatiline ülevaade mRNA-põhise vaktsiini tehnoloogiast. Vaktsiini loomiseks klooniti ogavalku kodeerivale RNA-le vastav DNA plasmiidseesse vektorisse, millest toodetakse ensümaatilisele mRNA. mRNA 5' otsa on lisatud modifitseeritud nukleotiid (nt), 7-metüül-guanoosiin (m<sup>7</sup>G), ehk 5'CAP ning 3' otsa on liidetud polü(A) saba. Lisaks ogavalku kodeerivale alale on vaktsiini mRNA-l 5' ja 3' otsas mittetransleeritavad alad, 5'UTR (*untranslated region*) ja 3'UTR, ning signaalpeptiidi kodeeriv ala SP, mis tagab, et sünteesitud valk liiguks alguses tsütoplasmasse. Vaktsiini mRNA uridiinid on asendatud N-1-metüül-pseudouridiinidega (joonisel ψ). Ogavalku kodeeriva ja reguleerivate alade pikkus on näidatud nukleotiidides.

## KAS VAKTSIINI mRNA VÕIB ISE KUTSUDA ESILE IMMUNVASTUST?

Hästi oluline mRNA vaktsiinide omadus on see, et 5'CAP modifikatsiooniga, polü(A)sabaga ja m<sup>1</sup>ψ-dega mRNA-d käsitlevad keha rakud kehaomase mRNA-na (5). Meie immuunsüsteem on nimelt üles ehitatud nii, et spetsialiseerunud Tolli-laadsed retseptorid TLR3, TLR7 ja TLR8 tunnevad ära viiruste ja bakterite RNA kui võõra. Seepeale aktiveeritakse 5'CAP-st sõltuva translatsiooni pidurdumine, interferoonide tootmine ja ümbritsevate rakkude alarmeerimine ning järgneb kaasasündinud ja omandatud immuunsüsteemi aktiveerimine ning nakataja kahjuks tegemine (7).

Kõrgemate organismide mRNA on nii reguloorsetel eesmärkidel kui ka selleks, et eristada oma ja võõrast, varustatud elementide ja modifikatsioonidega, mida viirustel ja bakteritel ei leidu või mis koos ei esine. Nendest kõige tuntum on 5'CAP, mis on vajalik eukarüootide mRNA translatsiooniks tavaolukorras. Teiseks erinevuseks viirustest on üsna hiljuti avastatud mRNA modifikatsioonid. Nendest kõige sagedamini esinev *N*-6-Methyladenosine (m<sup>6</sup>A) on iseloomulik lühema elueaga mRNA-dele, sest selle modifikatsiooniga RNAd lagundatakse spetsiifiliste RNAaside poolt (8). Teine väga sage modifikatsioon mRNA-s on pseudouridiin ψ, mille kohalolu muudab üheaheelalise mRNA jäigemaks ja natuke stabiilsemaks ning viirusnakkuse ajal stabiilsemaks, sest interferoonvastuse ajal aktiveeritud RNAas L ei ole ψ-dega RNAd võimeline lõikama.

Pfizeri-BioNTechi vaktsiinis esineva m<sup>1</sup>ψ ja ψ vahel on siiski väike erinevus: nagu eespool kirjeldatud, on vaktsiinis tavalise pseudouridiini N-1 positsioonis –H asendatud metüülrühmaga –CH<sub>3</sub>. m<sup>1</sup>ψ esinemist on kirjeldatud eukarüootide ribosomaalses RNAs, kuid on võimalik, et ta esineb ka mRNA-s (9). Huvitav on see, et rakud ei

taju vaktsiini puhul, et midagi on valesti, kuigi imetaja rakkude mRNA puhul on vaid 0,2–0,6% uridiinidest asendatud ψ-dega (10), samas kui vaktsiini mRNA-s on eranditult kõikide uridiinide asemel m<sup>1</sup>ψ-d. Võib oletada, et kui selline RNA tuntaksegi immuunsüsteemi poolt ära, siis vähemalt ei lagundata teda kohe RNAas L poolt ning 5'CAP-st sõltuv efektiivne translatsioon annab aega piisaval hulgal ogavalgu sünteesiks.

## MIKS ON VAJA mRNA PAKKIDA LIPOSOOMI?

Lipiidsesse nanokompleksi pakkimine on vajalik, sest on teada, et „paljas“ RNA on negatiivse laenguga ja suhteliselt suur molekul ning ei pääse seetõttu rakkudesse sisse. Samuti laguneb RNA ka rakust väljaspool RNAaside, ultravioletvalguse ja kemikaalide toimel. RNAasid on ensüümid, mille tavapärase ülesanne rakkudes on kontrollida RNA hulka ja seega geenide avaldumist ning lisaks pakkuda ka kaitset võõra RNA eest. Rakkudes toimivad RNAasid koostöös paljude spetsiifiliste reguloorsete valkudega, et kontrollida mRNA eluiga ja lagundamist (11). Osa RNAase on väga stabiilsed valgud ja neid leidub nii kehavedelikes kui ka naha pinnal.

Lipiid-mRNA nanokomplekside moodustamiseks kasutatakse positiivse laenguga ehk katioonseid lipiide. Nanopartikkel tekib lipiidide ja mRNA kokkusegamisel iseeneslikult, kuna RNA negatiivsed ja lipiidi positiivsed laengud moodustavad ioonsed sidemed ning lipiidide mittepolaarne osa suunatakse nanopartikli pinnale (12). Seejärel lisatakse abiained, näiteks PEG2000, mille ülesanne on lipiid-mRNA nanokompleksi stabiliseerida. Vaktsiini tootmisel lipiid-mRNA kompleksid külmutatakse ja säilitatakse kuni kasutamiseni külmutatult. Vaktsiini ei tohi korduvalt sulatada ega külmutada, sest siis lipiid-mRNA kompleks laguneb ja laguneda võib ka mRNA.

## MIS JUHTUB PÄRAST VAKTSIINI SÜSTIMIST ÕLAVARRELIHASESSE?

Pärast süstimist siseneb vähemalt osa lipiid-mRNA nanoosakestest lihasrakkudesse. Täpseid andmeid nende vaktsiinide kohta ei ole, aga arvestades varasemaid töid ja meie enda kogemust (13, 14), võib arvata, et vaktsiini nanoosakeste suurus jääb keskmiselt 100–500 nm vahele. Seega on vaktsiini nanokompleksid üsna suured ning sisenevad rakkudesse süstekoha läheduses. Joonisel 2 on näidatud, mis juhtub vaktsiini nanoosakeste lihasraku sisenedes. Rakkudes lipiid-mRNA kompleks laguneb ja mRNA satub tsütoplasmasse. Seal leiavad vaktsiini mRNA üles ribosoomid, mis viivad läbi ogavalgu monomeeride sünteesi. Monomeerid moodustavad trimeerse valguga, mis liigub oma omaduste tõttu rakumembraanile.

Osa ogavalgust laguneb ning selle jupid esitatakse koos koesobivuskompleksiga (*Major Histocompatibility Complex class I*, MHC I) immuunrakkudele. Käivitub immuunvastus, mille käigus vaktsineeritud rakk sureb ja osa rakuvälisesse ruumi sattunud ogavalgu osadest korjatakse üles dendriitrakkude poolt, mis liiguvad edasi lümfisõlmedesse, kus aktiveeritakse T-rakud ning muud protsessid, mis tagavad immuunmälu tekke. Sealjuures tekivad nii abistaja mälu-T-rakud kui ka mälu-B-rakud ning viimased toodavad aktiveerumisel ogavalguvastaseid antikehi (1, 3).

Arvatakse ka, et vaktsiini lipiid-RNA nanoosakesed mõjuvad vaktsiini adjuvandina, aktiveerides kaasasündinud immuunvastust ja tekitades lokaalse põletiku. Seega liiguvad süstekoha ilmselt ka fagotsüteerivad rakud, sealhulgas dendriitrakud. Kui vaktsiin satub pärast süstimist fagotsütoosi teel kohe dendriitrakkudesse, toimub samuti ogavalgu translatsioon ning sel juhul esitatakse ogavalgu osad T-rakkudele koesobivuskompleksi MHC klass II abil ning samuti käivitub immuunmälu tekkeprotsess.

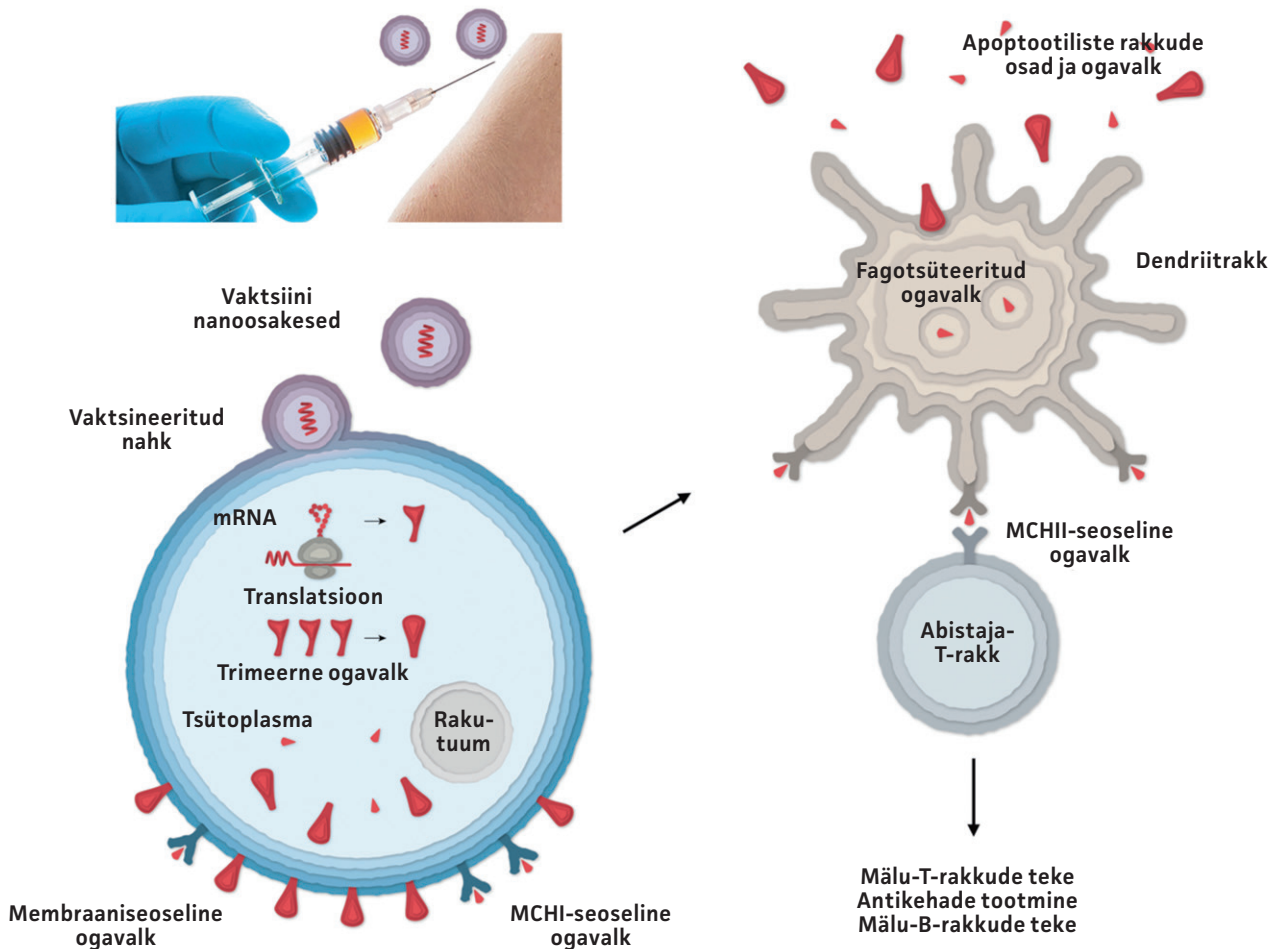
**KAS VAKTSIINI mRNA VÕI  
TEMA LAGUPRODUKTID  
VÕIVAD MUUTA MEIE  
GEENIDE JÄRJESTUST VÕI  
TEKITADA MUUD KAHJU?**

Selleks, et mRNA saaks muundada geneetilist koodi, oleks kõigepealt vaja sünteesida tema DNA koopias, mis peaks sattuma rakutuumasse. DNA sünteesiks RNA matriitsi alusel on võimalised ensüümid, mida nimetatakse pöördtranskriptaasideks. Inimesel puudub pöördtranskriptaas, kuid see on olemas retroviirustel. Kõige tuntum retroviirus

on inimese immuunpuudulikkuse viirus (HIV), mis suudab edukalt oma RNA järgi sünteesitud DNA koopiaid lülitada T-rakkude genoomi ning see viib lõpuks T-rakkude hävimiseni (4). Kuna inimese rakkudes pöördtranskriptaasi ei ole, siis puudub igasugune võimalus, et vaktsiini mRNA või selle osad satuksid genoomi.

Samuti on avaldatud muret, et kui vaktsiini mRNA lõike ei lagundata piisavalt kiiresti, siis võivad need ehk jääda organismi ringlema ja tekitada mingit kahju. Võib öelda,

et selle tõenäosus on samuti äärmiselt väike, sest rakkudes on peale RNAas L-i veel piisavalt teisi RNAase, mis vaktsiini mRNA-d suudavad lagundada, ning vaktsiini mRNA suhteliselt suur stabiilsus sõltub eelkõige siiski aktiivsest translatsioonist (15). On huvitav, et viimastel aastatel on avastatud, et ka meie enda RNAd ei lagundata alati lõpuni ning eri tüüpi RNAd laguproduktid satuvad lühikeste lõikudena vereseerumisse suhteliselt suurel hulgal. Näiteks on näidatud mikroRNA-de sekveneerimisel, et



**Joonis 2.** Ülevaatic skeem mRNA-vaktsiini toimemehhanismist. Pärast süstimist õlevarelihasesse siseneb lipiid-mRNA nanokompleks lihaskrakkudesse, mRNA vabaneb tsütoplasmasse ning sellelt sünteesitakse ogavalgu monomeerid, mis seejärel moodustavad trimeerse valgus, mis liigub oma omaduste tõttu rakumembraanile. Osa ogavalgust laguneb ning selle tükid esitatakse koos koosobivuskompleksiga (*Major Histocompatibility Complex class I*, MHC I) immuunrakkudele. Käivitub immuunvastus, mille käigus vaktsineeritud rakk sureb, ning rakkudest väljapoole sattunud ogavalgu osad fagotsüteeritakse dendriitrakkude poolt. Dendriitrakud liiguvad edasi lümfisõlmedesse ja aktiveerivad T-rakud ning immuunmälu tekke. Tekivad nii mälu-T- kui ka mälu-B-rakud, kellest viimased toodavad aktiveerumisel ogavalgust vastaseid antikehi. Antikehi tootvate B-rakkude aktiveerimiseks on vaja, et ogavalk esitatakse kõigepealt dendriitrakkude poolt abistaja-T-rakkudele koos koosobivuskompleksiga MHCII.

10–20% lugemitest moodustavad transport-RNA ehk tRNA laguproduktid (16). Üsna kindlalt saab öelda, et 30–100 µg vaktsiini mRNA-d on väga väike kogus võrreldes kogu muu RNAGA, mida keha igapäevaselt toodab ja lagundab.

## MIKS TEKIVAD VAKTSINEERIMISEL ALLERGIISED KÕRVALNÄHUD?

Nagu vaktsineerimiste puhul üldse, võib tekkida ka mRNA-vaktsiinidega vaktsineerimisel mitmeid kõrvalnähte, nagu süstekoha tundlikkus, turse ja punetus, peavalu, külmavärinad ja palavik. Enamiku kõrvalnähtude põhjuseks on immuunvastuse teke ning võib öelda, et kõrvalnähud ongi vajalikud immuunmälu tekkeks. Siiski on mRNA vaktsiinide puhul täheldatud rohkem allergilisi kõrvalnähte – sügelust, nõgestõbe ja anafülaksiat – kui varasemate tehnoloogiate abil loodud vaktsiinide puhul (vt tabel 1). Ühe võimalusena on välja pakutud, et neid kõrvalnähte võib esile kutsuda PEG2000, mille vastu tekkinud tugevaid allergilisi reaktsioone on täheldatud ka teiste ravimite puhul, kus PEG2000-t kasutakse samuti abiainena, näiteks penitsilliin ja süstitavad kortikosteroidid (17). Ei ole siiski välistatud, et allergiline reaktsioon võib mõnel juhul tekkida ka lipiid-RNA nanosakeste suhtes, mis on iseformeeruvad ja suure tõenäosusega pisut heterogeense kuju ja suurusega ning nii võib mõnikord juhtuda, et need mimikeerivad mõnda allergeeni.

## KUIDAS SAADI COVID-19-VAKTSIINID VALMIS NII KIIRESTI?

Nii Pfizeri-BioNTechi kui ka Moderna mRNA-vaktsiinide arendus ja tootmise käivitamine on toimunud erakordse kiirusega ning sealjuures on kasutusel võetud uudne tehnoloogia. Oluline on siiski meeles pidada, et mRNA-vaktsiini loomisele on eelnenud umbes kolmkümmend aastat sellesuunalist teadustööd. Lisaks on teada, et eelmise aasta

alguses oli vaktsiini tehnoloogia tegelikult juba olemas – puudus ainult info ogavalgu mRNA järjesutuse kohta.

Varasemad katsed tulla mRNA-vaktsiinidega turule ei suutnud klassikaliste vaktsiini valmistamise tehnoloogiatega konkureerida, kuna vajadus ei olnud nii suur ning kõik vaktsiini tootmise etapid ei olnud veel optimeeritud. Näiteks töötati farmaatsiakompaniis Novartis 2013. aastal välja mRNA-põhine vaktsiin Hiinas levima hakanud linnugripi vastu, kuid seda ei õnnestunud viia kliinilistesse katsetustesse, kuna puudus võimekus toota suurtes kogustes piisavalt puhast RNAd. Novartis müüs oma mRNA-põhiste vaktsiinide arendamise tehnoloogia 2015. aastal maha ning loobus edasisest arendustööst (18).

Arenduseks on vaja ka raha. Ühe suurema rahalise investeeringu mRNA-põhiste vaktsiinide arendusse tegi 2012. aastal Ameerika Ühendriikide kaitseministeeriumi teadusagentuur *US Defense Advanced Research Projects Agency* ehk DARPA. Rahastuse said Novartis, Pfizer, AstraZeneca, Sanofi ja mitmed teised farmaatsiafirmad. Kuigi tulemused olid lootustandvad, ei pühendanud suuremad firmad siiski sel ajal uudsele tehnoloogiale väga suurt tähelepanu, sest seda peeti liiga riskantseks ja keeruliseks ning paljud loobusid mRNA-vaktsiinide arendustööst. Mitmed väiksemad firmad, sealhulgas Moderna, CureVac ja BioNTech aga jätkasid teadus- ja arendustööd ning avaldasid ka teadusajakirjades lootustandvaid tulemusi. Näiteks avaldasid I faasi kliinilise uuringu tulemuse linnugripivastase mRNA-põhise vaktsiini kohta Moderna teadlased juba 2017. aastal (19).

## MILLISED ON TULEVIKUVÕIMALUSED JA MIS VÕIVAD OLLA PEAMISED TAKISTUSED?

Arusaadavalt on mRNA vaktsiinide tehnoloogia arendus olnud teadusmahukas, kuid suure tõenäosusega

on sellelt tehnoloogialt veel üsnagi palju oodata. Üsna kindlalt on pandud alus võimalusele luua uusi vaktsiine, kasutades olemasolevaid platvorme (18). Mõlema firma, nii BioNTechi kui ka Moderna arenduses olevate mRNA-põhiste vaktsiini- ja ravimikandidaatide nimekiri on muljetavaldav ning sisaldab lisaks vaktsiinidele mitmeid vähiravimikandidaate, mis on jõudnud kas I või II faasi kliinilistesse katsetustesse (<https://biontech.de/science/pipelin>, <https://www.modernatx.com/pipeline>).

COVID-19 vaktsiinirallis osutusid BioNTech ja Moderna kõige kiiremaks, kuid kliinilistes katsetustes on ka teiste tootjate mRNA-põhiseid COVIDi-vaktsiine. Nii näiteks on ka CureVaci mRNA-põhine vaktsiin kolmanda faasi kliinilistes uuringutes ning samuti on jõudnud mõned selle firma mRNA-põhised vähiravimikandidaadid kliinilisse uurimisfaasi (<https://www.curevac.com/en/pipeline/>).

Võib arvata, et mRNA-põhiste vaktsiinide edu toob kaasa lisainvesteeringuid ka teistesse sarnastesse tehnoloogiatesse, kus teraapiliste molekulidena kasutatakse mitmesuguseid oligonukleotiidide või väikesi reguleerivaid RNAsid, sealhulgas siRNA-sid (*small interfering RNA*) ja mikro-RNA-sid. Kui mRNA-põhised ravimid võimaldavad mõjutada organismi mingit valku juurde tootes, siis siRNA- ja miRNA-põhine ravimiarendus on suunatud kas ühe või mitme valgulise geeniproducti vähendamisele organismis (14).

Kahtlemata on sellel alal arenguruumi veel palju. Kuigi lipiid-mRNA nanokompleksid on suurepäraseks immuniseerimiseks, sest nad võimendavad immuunvastust, ei pruugi selliste komplekside kasutamine RNA-põhises ravis olla alati ohutu, kuna nende süsteemne manustamine võib põhjustada ettearvamatuid immuunreaktsioone. Nii näiteks katkestati mõned aastad tagasi I faasi kliiniline uuring lipiid-miR-34a nanokompleksiga MRX34 vähihaigetel, sest neljal osalejal

tekkisid kõrvalnähud, mille tõttu patsiendid surid (20).

Vaatamata tagasilöökidele, on ka esimesed siRNA-põhised ravimid saanud paari viimase aasta jooksul USA Toidu- ja Raviameti (FDA) müügiloa ning mitmed on kliinilistes uuringutes (21, 22). Siiski on selge, et mRNA ja oligonukleotiidide põhiste ravimeetodite laiemaks kasutuselevõtuks on vaja ka välja töötada senisest efektiivsemaid ning immuunsüsteemi mitteaktiveerivad rakulise transpordi süsteeme.

Ka selles on BioNTech saavutas edu. 2016. aastal ajakirjas Nature avaldatud artiklis näitas dr Ugur Sahini juhitud tööühm, et katioonsete lipiidide abil moodustatud optimeeritud nanokompleksid võimaldavad mRNA viia dendriitrakkudesse ilma neid aktiveerimata (23). Käesoleva aasta jaanuaris ilmunud jätkutöös on Sahin jt näidanud, et kasutades sarnaseid kontrollitud suuruse ja kujuga katioonsete lipiid-mRNA-komplekse, on nad töötanud välja mRNA-põhise vaktsiini, mis kaitseb hiiri haigestumise eest kliiniliselt relevantsetes hulgiskleroosi mudelis. Vaktsiin manustatakse süsteemselt ning see sisaldab mitteimmunogeenset m<sup>1</sup>ψ modifikatsioonidega mRNA-d, mis kodeerib müeliini epitoopi, mille vastu tekivad hulgiskleroosi haigetel autoantikehad. Süsteemsel manustamisel satuvad vaktsiiniosakesed esmalt dendriitrakkudesse ning seejärel algab immuunmälu teke. Kuna ei lipiidne kompleks ega mRNA ei aktiveeri dendriittrakke, tekib T-abistajarakkude ja antikehi tootvate B-rakkude asemel hulga-

liselt regulatoorseid T-rakke, mis edaspidisel kokkupuutel vastava müeliini valgu epitoobiga inhibeervad immuunvastused (24).

Tõenäoliselt ei ole lipiidised kandjad siiski ainuke võimalus. Meie enda ja koostööpartnerite uurimistööd viitavad, et mitteimmunogeensete RNA nanokomplekside valmistamisel võib üheks huvitavaks tulevikulähememiseks kujuneda ka kullerpeptiidide kasutamine, sest teatud tüüpi kullerpetiididega moodustatud RNA nanokompleksid on samuti kontrollitud suuruse ja kujuga, ei aktiveeri dendriittrakke ning võimaldavad pärssida põletikulisi protsesse (13, 25).

Kokkuvõttes võib öelda, et kui võrrelda RNA-põhiste ravimite arenduse seisu elektri kasutuselevõtuga, siis mRNA-põhiste COVID-19-vaktsiinidega on inimkond jõudnud esimeste elektrijaamade ehituseni. Tänapäevaste elektrivõrkude, televiisorite ning ökonoomsete LED-lampide ja elektriautodeni jõudmine on tõenäoliselt eelkõige aja küsimus.

#### KIRJANDUS

- Anderson EJ, Roupael NG, Widge AT, et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N Engl J Med* 2020;383:2427–38.
- Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med* 2020;383:2603–15.
- Widge AT, Roupael NG, Jackson LA, et al. Durability of responses after SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccination. *N Engl J Med* 2021;384:80–2.
- Barrera A, Olguín V, Vera-Otarola J, López-Lastra M. Cap-independent translation initiation of the unspliced RNA of retroviruses. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech* 2020;1863:194583.
- Kariko K, Muramatsu H, Welsh FA, et al. Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Mol Ther* 2008;16:1833–40.
- Anderson BR, Muramatsu H, Jha BK, Silverman RH, Weissman D, Karikó K. Nucleoside modifications in RNA limit activation of 2'-5'-oligoadenylate

- synthetase and increase resistance to cleavage by RNase L. *Nucleic Acids Res* 2011;39:9329–38.
- Hartmann G. Nucleic acid immunity. *Adv Immunol* 2017;133:121–69.
- Lee Y, Choe J, Park OH, Kim YK. Molecular mechanisms driving mRNA degradation by m(6)A modification. *Trends Genet* 2020;36:177–88.
- McCown PJ, Ruszkowska A, Kunkler CN, et al. Naturally occurring modified ribonucleosides. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2020;11:e1595.
- Li X, Zhu P, Ma S, et al. Chemical pull-down reveals dynamic pseudouridylation of the mammalian transcriptome. *Nat Chem Biol* 2015;11:592–7.
- Houseley J, Tollervey D. The many pathways of RNA degradation. *Cell* 2009;136:763–76.
- Kim, J, Eygerisa Y, Gupta M, Sahay G. Self-assembled mRNA vaccines. *Adv Drug Deliv Rev* 2021;170:83–112.
- Carreras-Badosa G, Periyasamy K, Urgard E, et al. NickFect type of cell-penetrating peptides present enhanced efficiency for microRNA-146a delivery into dendritic cells and during skin inflammation. *Biomaterials* 2020;262:120316.
- Setten RL, Rossi JJ, Han SP. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2019;18:421–46.
- Svitkin YV, Cheng YM, Chakraborty T, Presnyak V, John M, Sonenberg N. N1-methyl-pseudouridine in mRNA enhances translation through eIF2α-dependent and independent mechanisms by increasing ribosome density. *Nucleic Acids Res* 2017;45:6023–36.
- Jia Y, Tan W, Zhou Y. Transfer RNA-derived small RNAs: potential applications as novel biomarkers for disease diagnosis and prognosis. *Ann Transl Med* 2020;8:1092.
- Garvey LH, Nasser S. Anaphylaxis to the first COVID-19 vaccine: is polyethylene glycol (PEG) the culprit? *Br J Anaesth* 2020, DOI:https://doi.org/10.1016/j.bja.2020.12.020
- Dolgin E. How COVID unlocked the power of RNA vaccines. *Nature* 2021;589:189–91.
- Bahl K, Senn JJ, Yuzhakov O, et al. Preclinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses. *Mol Ther* 2017;25:1316–27.
- Hong DS, Kang YK, Borad M, et al. Phase 1 study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, in patients with advanced solid tumours. *Br J Cancer* 2020;122:1630–7.
- Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Discov* 2017;16:203–22.
- Hu B, Zhong L, Weng Y, et al. Therapeutic siRNA: state of the art. *Signal Transduct Target Ther* 2020;5:101.
- Kranz LM, Diken M, Haas H, et al. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy. *Nature* 2016;534:396–401.
- Krienke C, Kolb L, Diken E, et al. A noninflammatory mRNA vaccine for treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Science* 2021;371:145–53.
- Urgard E, Lorents A, Klaas M, et al. Pre-administration of PepFect6-microRNA-146a nanocomplexes inhibits inflammatory responses in keratinocytes and in a mouse model of irritant contact dermatitis. *J Control Release* 2016;235:195–204.