

СТВОРЕННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ФОРМИ мікроРНК ДЛЯ ЛІКУВАННЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

С. ШУЛЬГА, Г. АНДРІЯШ, О. ТІГУНОВА, С. ПРИЙОМОВ, Я. БЛЮМ

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ, Україна

E-mail: Shulga5@i.ua

Автор для кореспонденції – С. Шульга, e-mail: Shulga5@i.ua

Таргетна доставка активних фармацевтичних інгредієнтів, таких як мікроРНК, є актуальною проблемою. Використання ліпосом як таргетних носіїв різних терапевтичних агентів має певні переваги і на даний час суттєво зростає. Ліпосоми здатні транспортувати одночасно як гідрофільні, так і гідрофобні молекули. Ліпосоми мають відносно високу стабільність за фізіологічних умов, регульоване вивільнення інкапсульованих інгредієнтів та біосумісність з мембранами клітин. Лікарські засоби на основі мікроРНК, що інкапсульовані в ліпосоми, можуть стати певною альтернативою класичним терапевтичним агентам в лікуванні нейродегенеративних захворювань. Відомо, що нейрозапалення опосередковується через складну взаємодію між клітинами центральної нервової системи (ЦНС) і периферії. Хоча запальна реакція у здоровому мозку жорстко контролюється численними регуляторними механізмами, але за патологічного стану в цих процесах може статися дерегуляція. Така дерегуляція призводить до виникнення неконтрольованого нейрозапалення. Серед основних регуляторів цих процесів важливу роль відіграють мікроРНК. Завдяки мікроРНК процеси можуть стати дерегульованими, сприяючи прогресуванню захворювання, або можуть відображати гомеостатичну спробу ЦНС запобігти надмірному пошкодженню та відновити нормальні умови функціонування. В роботі підсумовано літературні дані створення, властивості та застосування ліпосомальної форми мікроРНК, зокрема мікроРНК-101, у розвитку хвороби Альцгеймера.

Ключові слова: *неродегенеративні захворювання, хвороба Альцгеймера, терапевтичні агенти, мікроРНК, доставка, ліпосоми.*

МікроРНК (міРНК, miR) привертають увагу як потенційні лікарські засоби «нового покоління» завдяки їх відносно малому розміру, низькій молекулярній масі та широкому спектру терапевтичних можливостей (He et al, 2004). Стабільність мікроРНК – важливий

фактор і для їх використання як клінічних біомаркерів (Kozomara et al, 2019). МікроРНК відіграють певну роль у виникненні і розвитку запалення та контролі імунної відповіді, а отже, забезпечують можливість лікування нейродегенеративних і аутоімунних захворювань та захворювань сполучної тканини (Slota et al, 2019). Загалом, в геномі людини закодовано понад 1900 мікроРНК (Alles et al, 2019). Однак у створеній вручну базі даних генів мікроРНК MirGeneDB представлено лише близько 500 мікроРНК людини достеменно верифікованих мікроРНК (Fromm et al, 2020). За різними оцінками, ці некодуючі мікроРНК регулюють більш як 50 % генів, залучених до різних метаболічних процесів (Dasgupta et al, 2021). Одна мікроРНК може контролювати експресію кількох генів, задіяних в основних метаболічних шляхах або розвитку різних патологій. За певного захворювання важливим питанням є розробка оптимальних систем доставки мікроРНК за умов їх специфічного вивільнення і з мінімальною токсичністю. В представленому огляді розглядаються властивості мікроРНК, а також ефективні системи їх доставки, зокрема, особливості ліпосомальної форми та методи кількісного визначення мікроРНК у ліпосомах. Оцінено перспективи застосування лікарських засобів на основі мікроРНК.

МікроРНК як фармацевтичні складові для лікування нейродегенеративних захворювань

МікроРНК – це малі некодуючі РНК, розміром близько 20–22 нуклеотидів, які беруть участь у посттранскрипційній регуляції експресії генів. Перша мікроРНК (*lin4*) виявлена у *Caenorhabditis elegans* (Lee et al, 1993). Відомо, що мікроРНК еволюційно були присутні в усіх видах живих організмів від нематоди до людини (Sujay et al, 2020). Понад одна третина генів регулюються мікроРНК, тому що вони

беруть участь у різних клітинних процесах, таких як клітинна проліферація, диференціація, морфогенез, синаптична пластичність, клітинна загибель, а також в імунологічних реакціях, пов'язаних з різними патологічними станами (Sujaу et al, 2020). Шлях біосинтезу мікроРНК досить складний, описаний у ряді публікацій, зокрема, у роботі (Nguyen et al, 2022). МікроРНК відіграють помітну роль у розвитку і патогенезі різних захворювань. Утворення злоякісних пухлин пов'язано зі зміненими функціями мікроРНК, крім того, існують дані стосовно інших непухлинних захворювань, в яких показано роль мікроРНК. Хворобу Альцгеймера (AD), психоневрологічні розлади, первинний біліарний цироз пов'язують зі зміненими функціями мікроРНК (Li et al, 2024). Останнім часом виявлено роль мікроРНК за різних ревматичних аутоімунних захворюваннях (Spizzo et al, 2009, Pauley et al, 2009).

Терапевтичні підходи на основі мікроРНК умовно можна поділити на дві групи: інгібування мікроРНК для зниження рівнів експресії мікроРНК, спричинених захворюванням, і заміна мікроРНК для відновлення експресії мікроРНК, пригніченої захворюванням. Раннє виявлення та ефективна лікувальна стратегія вкрай важливі за діагностування нейродегенеративних розладів. Саме мікроРНК зараз розглядають як високочутливі діагностичні та прогностичні біомаркери (Nguyen et al, 2022).

Хвороба Альцгеймера — це прогресуюче, залежне від віку нейродегенеративне захворювання, що характеризується накопиченням β -амілоїдних бляшок і гіперфосфорилуванням тау-білків. Ці процеси індують розвиток нейрофібрилярних клубків, що призводить до поступового зниження когнітивних функцій і короткочасної пам'яті (Sujaу et al, 2020). β -амілоїдний пептид генерується у нейронах і вивільняється в позаклітинний простір, де стає мішенню мікроглії та астроцитів з подальшою деградацією. У ході розвитку захворювання відбувається накопичення бета-амілоїдного пептиду і гіперфосфорилування тау-білків, що пов'язано з гліозом, цереброваскулярним амілоїдозом, окислювальним стресом, запаленням і значними синаптичними змінами (Nguyen et al, 2022).

Показано, що надекспресія miR-16 була досягнута в мозку мишей шляхом доставки амілоїдного олігонуклеотиду за допомогою осмотичної помпи (Parsi et al, 2015). Це призвело до зниження регуляції генів *Gfap* і *Aif1* та забезпечення захисту нейронів і запобігання окисному стресу, відповідно (Parsi et al, 2015). Також було показано, що надмірна експресія miR-124, викликана шляхом її трансфекції в клітинах PC12 (клітинна лінія, отримана з феохромоцитоми мозкової речовини надниркових залоз шурів) і первинній культурі нейронів гіпокампу, запобігає пошкодженню клітин і знижує рівні експресії гена *BACE1*, що бере участь у продукуванні β -амілоїдного пептиду (Fang et al, 2012). Ін'єкції інгібіторів miR-34c у гіпокамп шурів відновлювали рівні *SIRT1* - білка, який сприяє погіршенню пам'яті, у той же час інтраназальна доставка вищезгаданої мікроРНК стримувала руйнування дендритних шипів, викликаного β -амілоїдним білком (Shi et al, 2020).

Хвороба Паркінсона — це прогресуючий неврологічний розлад, за якого у пацієнтів спостерігаються симптоми ригідності, тремору, постуральної нестабільності та брадикінезії. Це захворювання характеризується проявом неправильної конформації білка α -синуклеїну в нейронах (Sujaу et al, 2020). Дослідження клітин нейробластоми показало, що у випадку розвитку хвороби Паркінсона miR-18a потенційно пов'язана з регуляцією аутофагії та апоптозу через інгібування сигнальних шляхів p38 MAPK і JNK (Liu et al, 2017).

Бічний аміотрофічний склероз — летальне, прогресуюче нейродегенеративне захворювання, що характеризується вибірковою дегенерацією рухових нейронів у головному та спинному мозку. Дослідження на лейкоцитах, виділених у пацієнтів з цим захворюванням, виявили вісім deregulованих мікроРНК, які можуть бути маркерами для діагностики цього захворювання (De Felice et al, 2012; Sujaу et al, 2020). Було виявлено підвищені рівні експресії miR-155 у інфікованих мишей, а введення антагоміру miR-155 (синтетичного аналогу мікроРНК з функціями агенту замовчування) приводило до помітного зниження прогресування захворювання в тестовій групі тварин (Sujaу et al, 2020). Для розробки терапевтичних методів на осно-

ві мікроРНК необхідно враховувати анатомо-фізіологічні характеристики ділянок ЦНС. Загалом, зазначимо, що системи на основі мікроРНК підтверджують свою ефективність за цільового лікування нейродегенеративних розладів. Однак, застосування мікроРНК потребує оптимізації деяких параметрів, зокрема, типу доставки, з'ясування їх впливу залежно від віку та статі пацієнтів, з'ясування молекулярних механізмів взаємодії мікро РНК з мішенями, тощо.

Носії мікроРНК

Для доставки мікроРНК розроблено специфічні носії з використанням вірусних і невірусних систем (Yang et al, 2015; Fu, et al, 2019; Taghdiri et al, 2024). Вірусні вектори часто використовують для доставки генетичного матеріалу. Найчастіше з цією метою використовуються ретровіруси, аденоасоційовані віруси і лентивіруси (Taghdiri et al, 2024). Ці віруси здатні забезпечувати високий рівень трансфекції, однак, на ефективність доставки може вплинути імунна відповідь, яка розвивається виникає після введення вірусу (Suja et al, 2020). Через те для забезпечення менш токсичної трансфекції використовують інші типи векторів.

До невірусних систем доставки відносять ліпосоми, наночастинки та носії на основі полімерів. Ліпосоми утворені з ліпідів, мають мембрано-подібну поверхню кулі і можуть виступати носіями інкапсульованих нуклеїнових кислот. Відповідно до заряду розрізняють аніонні, катіонні та нейтральні ліпосоми. Найбільш поширеними серед них є саме катіонні для доставки мікроРНК (Yang et al, 2015).

Неорганічні вектори найчастіше включають у себе наночастинки золота, срібла, Fe_3O_4 , кремнію та фосфату кальцію. Найбільш поширеними є наночастинки золота. У деяких роботах повідомляється, що наночастинки золота здатні успішно доставляти miR-130b та miR-29b у клітини пухлин (Kim et al, 2011; Crew et al, 2012). Неорганічні носії мають високу стабільність *in vivo*, але певною проблемою доставки мікроРНК за допомогою таких наноносіїв є їх низька ефективність інкапсуляції. Підвищити ефективність інкапсуляції можливо за рахунок модифікації поверхні наночастинок з використанням органічних лі-

гандів до специфічних рецепторів клітин-мішеней. Ліганди полегшують поглинання наночастинок шляхом опосередкованого рецептором ендцитозу і знижують дозування та побічні ефекти активної речовини (Lee et al, 2019).

Таким способом створюють носії на основі полімерів для доставки мікроРНК. Як полімерні носії використовують поліетиленімін (PEI), полі(молочна-ко-гліколева) кислота (poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA), полі(амідоамін) (PAMAMs) та дендримери. На моделі карциноми товстої кишки у мишей показано, що PEI доставляє miR-145 та miR-33a до пухлини, і протипухлинну активність цих мікроРНК можна оцінити *in vivo* (Ibrahim et al, 2011). PLGA використовується в дослідженнях з терапії за допомогою мікроРНК, хоча гідрофобна природа PLGA дещо знижує ефективність доставки мікроРНК. PAMAM — позитивно зарядженим полімером, що має високу ефективність трансфекції. Показано, що комплекс дендример PAMAM і miR-21 зменшували ріст клітин гліобластоми (Yang et al, 2015). Окрім зазначених синтетичних полімерів використовують також полімери природного походження, такі як проникаючий у клітину пептид (CPP), який має векторні можливості, хітозан, гіалуронову кислоту. Їх застосування описано у роботі (Lee et al, 2019).

Особливості створення ліпосомальних форм мікроРНК

Підходи до створення ліпосомальних форм включають гідратацію ліпиду з наступним зменшенням розмірів і видаленням неінкапсульованих ліпосом. Як правило, приготування ліпосом відбувається двома основними шляхами, а саме: за допомогою механічної дисперсії з пасивним завантаженням або за допомогою активного завантаження. Загальноприйнятими методами отримання ліпосом є тонкоплівкова гідратація, проліпосомальний метод, дисперсія або введення органічного розчинника, ультразвукова обробка, мікроемульгування, мікрофлюїдизація, мембранна екструзія, метод заморожування-танення, випаровування з оберненою фазою, видалення детергенту, дегідратації-регідратації (Pandian et al, 2022; Nsa-irat et al, 2023).

Нижче буде розглянуто практичні особливості отримання ліпосом для конкретних досліджень з доставки мікроРНК. В роботі (Nicoletti et al, 2022) описано отримання ліпосом за допомогою методу гідратації тонкої ліпідної плівки і введення ліпосомальної форми мікроРНК у кардіофіброblastи. З цією метою катіонний ліпід PE і допоміжний ліпід dioleoylphosphatidylethanolamine (DOPE) розчиняли окремо в хлороформі з наступним змішуванням у співвідношенні 1 : 1 (w/w) висушуванням суміші за умов зниженого тиску в роторному випарювачі. Залишкові сліди хлороформу видаляли під вакуумом. Ліпідну плівку гідратували дистильованою водою до кінцевої концентрації 1 мг/мл ліпідів, перемішували (Vortex) до повного відшарування та утворення ліпосомальної суспензії. Далі мікроРНК змішували з ліпосомами (інкубування протягом 20 хв при кімнатній температурі). Детально методика описана у роботі (Nicoletti et al, 2022).

В роботі (Yan et al, 2013) готували ліпосомальну форму miR21 для терапії фіброзу легень. Ліпосоми отримували за допомогою методу розведення етанолом. Потім miR21 змішували з порожніми ліпосомами і визначали фізичні характеристики таких комплексів та їх терапевтичну ефективність.

Застосування ліпосом в генній терапії для лікуванні злоякісних новоутворень стає перспективним напрямком. Показано, що miR7 пригнічує ріст, інвазію та метастазування різних пухлин. Зокрема, для доставки miR7 було використано ліпосоми, що зумовило пригнічення експресії рецептору епідермального фактору росту і інгібування розвитку раку яєчників, відповідно (Cui et al, 2021). Для приготування ліпосом розчиняли 1,2диолеоїл-3-триметиламонійпропан (DOTAP), DOPE і холестерол в суміші з хлороформом і метанолом. Суміш упарювали на роторному випарювачі та висушували під вакуумом з утворенням плівки. Плівку гідратували в фосфатному буфері (PBS). Ліпідну суспензію обробляли ультразвуком, а потім пропускали через мембрани екструдера з діаметром пор 200 нм. Отримані ліпосоми зберігали за температури 4 °C (Cui et al, 2021).

Отримували також і «стелс» ліпосоми з використанням суміші DOPE-з PEG-2000. Емульсію ліпосом отримували шляхом сублімаційної

сушки і зберігали за температури – 20 °C. Отримані ліпосоми мали діаметр близько 120 нм (Yan et al, 2019). Для лікування гепатоцелюлярної карциноми була розроблена нанорозмірна ліпосомальна емульсія (API-LP), яку готували за допомогою вищеописаного методу тонкоплівкового випарювання (Sun et al, 2019).

Загалом, використання ліпосом як носіїв різних терапевтичних агентів має суттєві переваги в порівнянні з класичними носіями. Основними перевагами є їх здатність інкапсулювати та переносити як гідрофільні, так і гідрофобні активні речовини, висока стабільність за фізіологічних умов, біосумісність та безпечність (Pandian et al, 2022).

Методи визначення мікроРНК у ліпосомах

Для оцінки ефективності інкапсулювання мікроРНК готові функціональні ліпосоми піддають центрифугуванню (16000 g), а неінкапсульовану вільну мікроРНК збирають з супернатанту. Екстрагована мікроРНК після реакції з RiboGreen (флуоресцентний барвник для кількісного визначення РНК) аналізують спектрофлуориметрично (довжина хвилі збудження 500 та 525 нм емісії). Ефективність інкапсуляції мікроРНК розраховують за формулою:

$$EE\% = (W_i / W_{total}) \times 100 \%,$$

де W_{total} – загальна мікроРНК у нерозділених ліпосомах, а W_i – виміряна мікроРНК у ліпосомах (Yan et al, 2019).

Ефективність завантаження мікроРНК можна також визначати непрямим шляхом через вимірювання концентрації вільної мікроРНК у воді після приготування ліпоплексу. Завантажені мікроРНК ліпоплекси спершу центрифугують, супернатант збирають та аналізують на спектрофлуориметрі. Такий метод дозволяє досить точно визначити кількість мікроРНК. Для оцінки ефективності завантаження мікроРНК в ліпосому можна використовувати методику і формули розрахунку з роботи (Nicoletti et al, 2022).

У роботі (Sun et al, 2019) ефективність інкапсуляції (EE) і навантаження розраховано за іншими формулами:

$$EE = C_e / C_t \times 100 \%,$$

де C_i означає початкову кількість мікроРНК, а C_e – кількість мікроРНК, інкапсульованої в ліпосомах.

Також інкапсуляцію мікроРНК у ліпосомах можна оцінювати за допомогою гелелектрофорезу в агарозному гелі. Результати роботи (Li et al, 2018) з використання ліпосом, навантажених мікроРНК (miRNA)-26a, для ефективного лікування лейкемії, засвідчили, що miRNA-26a знижує життєздатність клітин хронічної лімфоцитарної лейкемії в залежності від концентрації. Клітини, оброблені ліпосомами, навантаженими miRNA-26a, характеризувались підвищеною швидкістю апоптозу. Лікування цими ліпосомами призводило до значного зниження експресії генів-мішеней miRNA-26a, мієлоїдної клітинної лейкемії та циклін-залежної протеїнкінази, що свідчить про її терапевтичний потенціал.

Молекулярні механізми дії різних мікроРНК для лікування хвороби Альцгеймера

Нейрозапалення в тканинах головного мозку для хвороби Альцгеймера в основному опосередковується мікроглією та астроцитами. Це створює високий ризик патологічного розвитку хвороби Альцгеймера. Підвищення регуляції протеїну-попередника амілоїду (APP) також пов'язане з нейрозапаленням (Kot et al, 2024). Запальні реакції тісно пов'язані зі зміненою експресії мікроРНК у мозку, ураженому хворобою Альцгеймера. Щоб з'ясувати, яка мікроРНК важлива у підвищенні концентрації прозапальних цитокінів і протеолітичних ферментів при хворобі Альцгеймера, необхідно ідентифікувати та встановити відповідні мішені мРНК у мозку. Результати недавніх досліджень свідчать про те, що miR-132 бере участь у регуляції запалення та є негативним регулятором запальної відповіді в клітинах PC12 (Hansen et al, 2016). Тривала активація мікроглії здатна ініціювати запальну активність, що призводить до пошкодження нейронів і, зрештою, викликає хворобу Альцгеймера. miR-155 є однією з найбільш добре вивчених мікроРНК у нейрозапальних подіях, пов'язаних з хворобою Альцгеймера (Liu et al, 2023). Крім того, miR-155 може сприяти регуляції AD через активацію різних функцій Т-клітин під час запалення. Загалом, накопичення β -

амілоїдного пептиду, внутрішньоклітинна агрегація гіперфосфорильованого тау-білка, втрата синапсів, нейрозапальна та аутофагічна дисфункція, а також старіння виявляють критичну роль у патогенезі хвороби Альцгеймера, яка пов'язана з дисфункціональною регуляцією деяких мікроРНК (Angelucci et al, 2019). На даний момент необхідне більш повне розуміння регуляторної ролі специфічних мікроРНК у ході розвитку хвороби Альцгеймера, що може бути корисним для розробки нових терапевтичних стратегій цього захворювання (Kou et al, 2020).

Надмірне накопичення β -амілоїдного білку (A β) може викликати значну цитотоксичність для нейронів і є ключовим патогенним фактором хвороби Альцгеймера. МікроРНК може впливати на вироблення A β (Kovacs, 2019). Ряд специфічних мікроРНК можуть як підвищувати, так і знижувати регуляцію A β під час захворювання. Такі мікроРНК, як miR-9, miR-29, miR-29a/b-1, miR-124, miR-101, miR-107, miR-298 і miR-328 сприяють підвищенню вироблення A β і демонструють знижену експресію у тварин з моделлю хвороби Альцгеймера, шляхом регулювання експресії BACE1 (бета-секретази) та/або APP (Campbell et al, 2015; Goldgraben et al, 2016; Bajaj et al, 2020). За даними клінічних досліджень показано, що рівень miR-29a/101 у периферійній крові у пацієнтів з хворобою Альцгеймера помітно знижувався (Lin et al, 2018).

Певні мікроРНК також беруть участь у фізіологічній регуляції рівнів APP. Надмірна експресія miR-106a та miR-520c може призвести до значного зниження рівня APP у клітинах HEK-293 (Yamakuchi et al, 2008; Noren Hooten et al, 2010; Chen et al, 2018). Водночас, знижена експресія miR-17, miR-101 і miR-16 супроводжується високим рівнем APP, а надмірна експресія miR-17, miR-101 і miR-16 пригнічує APP. Надекспресія miR-195 у клітинах N2a/APP695 приводить до зниження рівня A β , тоді як інгібування miR-195 призводить до підвищення рівня A β . Знижена експресія цих мікроРНК може призвести до підвищеної експресії та функції BACE1, таким чином спричиняючи надлишкове вироблення A β у мозку мишей з хворобою Альцгеймера (Khanahmadi et al, 2015; Chen et al, 2017).

Крім того, гіперекспресія miR-186 в нейронних клітинах може призвести до зниження рівня A β шляхом пригнічення експресії BACE1, однак ендogenous miR-186 зі зниженою регуляцією може викликати підвищення рівня BACE1. Такі висновки забезпечують пояснюють молекулярні механізми, пов'язані з дерегуляцією BACE1, APP і A β при хворобі Альцгеймера і відкривають нові перспективи для розуміння етіології цього захворювання (Kou et al, 2020).

Однією з ключових особливостей нейронних мереж є їхня здатність підтримувати баланс між збудженням та гальмуванням, щоб запобігти патологічній дисфункції. Роль miR-101 полягає у стримуванні збудження у дорослої людини (Lippi et al, 2016). Блокада miR-101 викликає тривалу гіперзбудливість і порушення пам'яті. Показано, що пригнічення мішені *NKCC1* ініціює перемикання сигналів g-аміномасляної кислоти, обмежує ранню спонтанну активність і стримує ріст дендритів (Lippi et al, 2016). Відомо, що експресія генів *Kif1a* і *Ank2* спрямована на запобігання надмірному утворенню синапсів. Одночасна дерепресія цих трьох генів копіює дисфункції, викликані блокадою miR-101 (Lippi et al, 2016).

APP і його протеолітичний продукт — A β асоційовані з різними формами хвороби Альцгеймера (Vilardo et al, 2010). Показано, що в нейронах гіпокампу шурів, культивованих *in vitro*, зниження регуляції білків Argonaute-2 призводить до підвищення рівнів APP. У ссавців miR-101 асоціюється з білками Argonaute (Ago1–4), які становлять ядро РНК-індукованого сайленсинг-комплексу (RISC) і опосередковують посттранскрипційну репресію цільових РНК. Ago2 експресується у мозку людини і мишей. Зниження експресії генів білків Ago1–4 було використано для ідентифікації потенційних мішеней мікроРНК. Показано, що мікроРНК регулюють експресію генів, задіяних у розвитку і диференціюванні нейронів, а зміни в експресії мікроРНК пов'язані з розвитком нейродегенеративних захворювань (Vilardo et al, 2010). Щоб дослідити роль miR-101 у регуляції гена APP спочатку було проаналізовано рівень білка APP у клітинах гіпокампу шурів, у яких експресія Ago2 була знижена. Резуль-

тати Вестерн-блот аналізу вказують на те, що рівні APP були значно вищими в нейронах, у яких рівні Ago2 були знижені. Серед відібраних мікроРНК саме miR-101 мала два передбачуваних цільових сайти в гені APP. Дані гібридизації *in situ* засвідчили, що некодуюча РНК AK021368, яка включає мікроРНК-101a, експресується в гіпокампі мишей (Vilardo et al, 2010, Mercer et al, 2008). Ці спостереження додатково спонукали авторів проаналізувати експресію APP і miR-101 під час розвитку *in vitro* первинних нейронів гіпокампу шурів. У цій клітинній моделі рівні miR-101 зростали під час розвитку хвороби Альцгеймера від 2 до 17 днів *in vitro*. Водночас, рівні білка APP знижувались, демонструючи зворотну кореляцію зі збільшенням рівня miR-101. Подібний аналіз проводили з використанням тканин гіпокампа шурів для тварин у віці від 8 дня від народження до 6 місяців. Була підтверджена зворотна кореляція між рівнями miR-101 та APP (Lippi et al, 2016). miR-101 в основному діє шляхом зниження трансляції APP, а також може впливати на стабільність APP. Послідовне зниження вмісту APP і A β фібрил спостерігалось в нейронах гіпокампу, які надмірно експресують miR-101. Отже, ці результати вказують на те, що miR-101 є негативним регулятором експресії APP і, можливо, що при патологічних станах ця мікро-РНК може захищати нейрони гіпокампа від накопичення A β . Таким чином, показана безпосередня участь miR-101 у контролі трансляції APP і накопиченні A β фібрил (Vilardo et al, 2010).

miR-101 діють на інгібування експресії APP білку шляхом взаємодії зі специфічними елементами розпізнавання в 3'-UTR цільових транскриптах. Ця miR-101 направляє рибонуклеопротеїновий комплекс, який називається РНК-індукованим комплексом сайленсингу (RISC), до цільового сайту в 3'-UTR, де RISC опосередковує або репресію трансляції, або дестабілізацію мРНК. Таким чином, ендogenous miR-101 регулює рівні APP у клітинних культурах через певний сайт, розташований в APP 3' UTR. Автори припускають, що модулювання miR-101 може являти собою нову стратегію для ослаблення секреції A β і патогенних механізмів, що лежать в основі хвороби Альцгеймера (Long et al, 2011).

Щоб перевірити, чи опосередковує miR-101 регуляторний вплив на експресію генів через APP 3'-UTR, у роботі (Mercer et al, 2008) сконструювали репортерний вектор, що містить повний APP 3'-UTR. Також був сконструйований вектор позитивного контролю, який містив miR-1 MRE (ідеально комплементарний сайт miR-1). Обидві конструкції містили ген люциферази, як внутрішній контроль, для нормалізації відмінностей в ефективності трансфекції. Ці конструкції було перенесено в клітини HeLa та було оцінено експресію гена люциферази через 48 год після трансфекції. Як і очікувалось, трансфекція позитивного контролю (miR-1) повністю скасовувала експресію гена репортера. miR-101 знижувала експресію репортера більше, ніж на 40 % порівняно з клітинами, трансфікованими негативним контролем або репортером APP 3'-UTR. Це підтверджує, що miR-101 може знижувати експресію генів через елементи в APP 3'-UTR (Mercer et al, 2008). Також показано, що ендогенні рівні APP інгібуються miR-101 у клітинах HeLa людини. Зокрема, рівні мРНК APP не змінювались суттєво після трансфекції miR-101, що свідчить про посттранскрипційний механізм, який не передбачає дестабілізації мРНК і ймовірно передбачає пряме пригнічення трансляції білка. miR-101 безпосередньо причетна до патогенезу хвороби Альцгеймера. Два незалежні дослідження продемонстрували знижену експресію miR-101 у зразках кори головного мозку за умов розвитку хвороби Альцгеймера, порівняно з контролем (Long et al, 2011, Hebert et al, 2008). Отже, miR-101 регулює рівні APP у культурах клітин людини різного типу та походження. Оскільки APP і A β є ключовими білками в механізмах, пов'язаних з хворобою Альцгеймера, зниження рівнів APP було запропоновано як потенційну стратегію пом'якшення патологічних процесів за розвитку цього захворювання. miR-101 представляє нову мішень для терапевтичної модуляції рівнів APP (Long et al, 2011).

Результати біоінформатичного аналізу засвідчили, що miR-193b потенційно може націлюватися на 3'-UTR APP (Nunez-Iglesias et al, 2010). Для цього було вивчено вплив miR-193b на експресію APP. Висока експресія APP, що корелює з прискореним накопиченням A β у

мозку, є ознакою хвороби Альцгеймера. Показано, що miR-193b може пригнічувати експресію APP шляхом зв'язування його 3'-UTR і розпаду його мРНК. Зниження регуляції APP може представляти напрямок дослідження терапії хвороби Альцгеймера за допомогою мікроРНК. Показано, що рівень miR-193b був знижений в гіпокампі 3-місячних трансгенних мишей, це свідчить, що зміна miR-193b відбувається раніше, ніж утворення амілоїдних бляшок. Виявлення екзосомальної miR-193b в спинно-мозковій рідині трансгенних мишей віком 3, 6 та 9 місяців показали, що екзосомальна miR-193b є потенційним біомаркером хвороби Альцгеймера, особливо на ранніх стадіях захворювання (Nunez-Iglesias et al, 2010).

На клітинному рівні хвороба Альцгеймера характеризується нейрофібрилярними клубками та прогресуючим утворенням нерозчинних сенильних бляшок, що складаються переважно з A β , який є продуктом розщеплення білка-попередника амілоїду. Накопичення A β у мозку пов'язане з патогенезом хвороби Альцгеймера. В роботі (Liu et al, 2014) представлено результати зниження регуляції miR-16 у клітинній моделі хвороби Альцгеймера первинних нейронів. Показано, що надмірна експресія miR-16 у первинних нейронах захищає їх від загибелі. Показано, що після трансфекції pre-miR-16 спостерігалось зниження рівнів мРНК і білка APP. Для виявлення зв'язування miR-16 з 3' UTR APP використовували люциферазу. Активність люциферази знижувалась після того, як частковий сегмент 3' UTR APP був клонований у репортерний вектор люциферази (Zhang et al, 2015).

Перспективи використання мікроРНК як нового класу терапевтичних агентів

Мета терапії мікроРНК полягає в модифікації та, в ідеалі, суттєвому зменшенні патологічних змін за рахунок зниження рівнів експресії мікроРНК. Це включає: посилення або відновлення ендогенних мікроРНК, які діють як патологічні супресори, та зниження рівнів експресії або функціонального блокування мікроРНК. Для зміни рівня мікроРНК зазвичай використовуються нуклеїнові кислоти, так звані синтетичні мікроРНК або імітатори мікроРНК, рекомбінантні вектори експресії, що не-

суть послідовності, які кодують мікроРНК, та інгібітори мікроРНК на основі олігонуклеотидів (анти-мікроРНК). У випадку пухлин над-експресовані мікроРНК можуть розглядатися як онкогени, їх ще називають «онкомірами». Вважається, що вони беруть участь у розвитку пухлини шляхом реципрокного інгібування генів-супресорів пухлин (генів, які контролюють диференціацію клітин і апоптоз); наприклад, miR-17/-192 надлишково експресується у випадку раку легенів і деяких лімфомах (Christopher et al, 2016). Існують різні підходи «керуванням» мікроРНК як терапевтичним інструментом, які залежать від того, чи потрібно знижувати експресію цільової мікроРНК або навпаки відтворити заново функцію пригніченої мікроРНК. Загалом, мікроРНК відіграють незамінну роль у складних взаємозв'язках онкогенів і генів-супресорів пухлин (Fu et al, 2021).

Одним з перспективних підходів є використання малих проникаючих у клітини молекул, які виконують свою функцію, взаємодіючи з білками, залученими до процесів біогенезу мікроРНК, або через зв'язування зі специфічними для мікроРНК вторинними структурами. Природні сполуки також взаємодіють з мікроРНК, зокрема, було показано, що куркумін діє на численні мікроРНК, щоб пригнічувати ріст пухлинних клітин (Diener et al, 2022).

Відомо про засоби на основі мікроРНК, що проходять клінічні випробування та можуть бути застосовані як новий вид лікарських засобів. Розроблено ліпосомальну форму препарату MRX34, що передбачає введення miR-34a. Цей препарат було включено до першої фази клінічних випробувань для оцінки безпеки у пацієнтів з первинним раком печінки або іншими пухлинами чи гематологічними злоякісними новоутвореннями (Diener et al, 2022).

Засіб MRG-201 було розроблено для імітації активності молекули miR-29, яка знижує рівні експресії колагену та інших білків, які беруть участь у формуванні рубців. Засіб MRG-201 досліджують, щоб визначити, чи може він обмежувати утворення фіброзної рубцевої тканини за певних захворюваннях (Diener et al, 2022). Засіб MRG-106 — олігонуклеотидний інгібітор miR-155, що пригнічує численні сиг-

нальні шляхи, пов'язані з виживанням злоякісних клітин. Засіб MRG-106 можна використовувати для дослідження В-клітинної лімфоми (Diener et al, 2022). Кілька терапевтичних засобів на основі мікроРНК пройшли доклінічні випробування для лікування широкого спектру патологій, починаючи від серцевої недостатності та закінчуючи декількома типами раку. Розробка подібних препаратів для лікування нейродегенеративних патологій зараз триває. Перший препарат на основі малих РНК (Patisiran) був схвалений у 2018 р. для лікування спадкового амілоїдозу, опосередкованого транстиретином. Водночас, для лікування хвороби Альцгеймера препаратів на основі мікроРНК поки не запатентовано (Walgrave et al, 2021).

Оскільки взаємодія мікроРНК — мішень залежить від дози, дозування препаратів мікроРНК безпосередньо впливає на гени, на які націлена певна мікроРНК. Отже, дозування має бути в заданому діапазоні, щоб викликати терапевтичний ефект. Однак бракує даних, які кількісно описують залежну від дози регуляцію цільового гена. Перші дані показують, що загальний кількісний діапазон клітинної експресії мікроРНК змінюється у межах приблизно 10^3 копій на клітину. Для подальших фармакокінетичних характеристик потенційних терапевтичних засобів на основі мікроРНК необхідні додаткові кількісні дослідження як для фізіологічних, так і для патологічних станів (Diener et al, 2022).

Підводячи підсумок, зазначимо, що мікроРНК, як молекула, яка бере участь в регуляції експресії генів, безсумнівно привертає увагу з точки зору різних цільових лікувальних підходів генної терапії. Деякі питання у цьому аспекті потребують досліджень, а саме, як забезпечити точну взаємодію з клітинами-мішенями, як зменшити імуногенні реакції та яке дозування потрібно підібрати для досягнення бажаного ефекту за мінімізації побічних реакцій. Зараз лише початок таких розробок, що у майбутньому дозволить повною мірою скористатися високою терапевтичною ефективністю мікроРНК. Крім того, важливим питанням у генній терапії є спосіб доставки терапевтичного засобу до місця локалізації з урахуванням біологічних бар'єрів, без деградації у кров'яному руслі. Доведено, що ліпосоми є ефектив-

ними носіями мікроРНК, вони не викликають імуногенності, прості у приготуванні, є біосумісними, досягають нервової системи без деградації. Тому препарати на основі мікроРНК, інкапсульовані в ліпосоми, можуть стати новим біомаркером пухлин і альтернативним лікуванням нейродегенеративних захворювань.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Дослідження проведено коштом грантової підтримки Національного фонду досліджень України за проєктом № 2021.01/0282, державний реєстраційний номер 0123U102869.

CREATION AND APPLICATION OF THE microRNA LIPOSOMAL FORM FOR THE TREATMENT OF NEURODEGENERATIVE DISEASES

S. Shulga, H. Andriash, O. Tigonova,
S. Priyomov, Ya. Blume

Institute of Food Biotechnology
and Genomics NAS of Ukraine,
Baidy-Vyshnevetskoho str., 2a, Kyiv, 04123, Ukraine
E-mail: Shulga5@i.ua

Target delivery of active pharmaceutical ingredients, including microRNAs, is an urgent problem. Using liposomes as target carriers of different therapeutic agents has some advantages and is becoming more widespread. Liposomes can transport both hydrophilic and hydrophobic molecules at the same time. Liposomes are relatively highly stable under physiological conditions, notable for the regulated release of the encapsulated ingredients, and biocompatible with cell membranes. Medications elaborated based on microRNA encapsulated into liposomes can become an alternative to classic therapeutic agents in treating neurodegenerative diseases. Neuroinflammation is known to be mediated via a complex interaction between the cells of the central nervous system (CNS) and the periphery. Although the inflammatory reaction in the healthy brain is under the strict control of numerous regulatory mechanisms, there may be a de-regulation of these processes under pathology. This de-regulation leads to uncontrolled neuroinflammation. Among the main regulators of these processes, a relevant role is played by microRNAs, due to which the processes may become de-regulated, promoting the disease progression, or may reflect the homeostatic attempt of the CNS to prevent excessive damage and restore normal conditions of functioning. The study summarizes the literature data about the creation, properties, and utilization of the liposomal

form of microRNA, including microRNA-101, in the development of Alzheimer's disease.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Alles J, Fehlmann T, Fischer U et al (2019) An estimate of the total number of true human miRNAs. *Nucl Acids Res* 47(7):3353–3364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz097>
- Angelucci F, Cechova K, Valis M et al (2019) MicroRNAs in Alzheimer's disease: diagnostic markers or therapeutic agents? *Front Pharmacol* 10:665. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00665>
- Bajan S, Hutvagner G (2020) RNA-based therapeutics: from antisense oligonucleotides to miRNAs. *Cells* 9:137. <https://doi.org/10.3390/cells9010137>
- Campbell K, Booth SA (2015) MicroRNA in neurodegenerative drug discovery: The way forward? *Expert Opin Drug Discov* 10:9–16. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.981254>
- Chen JJ, Zhao B, Zhao J et al (2017) Potential roles of exosomal microRNAs as diagnostic biomarkers and therapeutic application in Alzheimer's disease. *Neural Plast* 2017:7027380. <https://doi.org/10.1155/2017/7027380>
- Chen J, Qi Y, Liu CF et al (2018) MicroRNA expression data analysis to identify key miRNAs associated with Alzheimer's disease. *J Gene Med* 20:e3014. <https://doi.org/10.1002/jgm.3014>
- Christopher AF, Kaur RP, Kaur G et al (2016) MicroRNA therapeutics: Discovering novel targets and developing specific therapy. *Perspect Clin Res* 7(2): 68–74. <https://doi.org/10.4103/2229-3485.179431>
- Crew E, Tessel MA, Rahman S et al (2012) MicroRNA conjugated gold nanoparticles and cell transfection. *Anal Chem* 84:26–29. doi.org/10.1021/ac202749p
- Cui X, Song K, Lu X et al (2021) Liposomal delivery of microRNA-7 targeting EGFR to inhibit the growth, invasion, and migration of ovarian cancer. *ACS Omega* 6(17):11669–11678. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00992>
- Dasgupta I, Chatterjee A (2021) Recent advances in miRNA delivery systems. *Methods Protoc* 4(1):10. <https://doi.org/10.3390/mps4010010>
- De Felice B, Guida M, Guida M et al (2012) A miRNA signature in leukocytes from sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Gene* 508:35–40. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.07.058>
- Diener C, Keller A, Meese E (2022) Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic. *Trends Genet* 38(6):613–626. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2022.02.006>
- Fang M, Wang J, Zhang X et al (2012) The miR-124 regulates the expression of *BACE1*/β-secretase correlated with cell death in Alzheimer's disease.

- Toxicol Lett 209:94–105. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.11.032>
- Fromm B, Domanska D, Hшыe E et al (2020) Mir-GeneDB 2.0: The metazoan microRNA complement. Nucl Acids Res 48(D1):D132–D141. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz885>
- Fu Y, Chen J, Huang Z (2019) Recent progress in microRNA-based delivery systems for the treatment of human disease. ExRNA, 1:24. <https://doi.org/10.1186/s41544-019-0024-y>
- Fu Z, Wang L, Li S et al (2021) MicroRNA as an important target for anticancer drug development. Front Pharmacol 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.736323>
- Goldgraben MA, Russell R, Rueda OM et al (2016) Double-stranded microRNA mimics can induce length-and passenger strand-dependent effects in a cell type-specific manner. RNA 22:193–203. <https://doi.org/10.1261/rna.054072.115>
- Hansen KF, Sakamoto K, Aten S et al (2016) Targeted deletion of miR-132/-212 impairs memory and alters the hippocampal transcriptome. Learn Mem 23:61–71. <https://doi.org/10.1101/lm.039578.115>
- He L, Hannon GJ (2024) MicroRNAs: Small RNAs with a big role in gene regulation. Nat Rev Genet 5:522–531. <https://doi.org/10.1038/nrg1379>
- Hebert SS, Horre K, Nicolai L et al (2008) Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression. Proc Natl Acad Sci USA 105:6415–6420. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710263105>
- Ibrahim AF, Weirauch U, Thomas M et al (2011) MicroRNA replacement therapy for miR-145 and miR-33a is efficacious in a model of colon carcinoma. Cancer Res 71:5214–5224. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-4645>
- Khanahmadi M, Farhud DD, Malmir M (2015) Genetic of Alzheimer's disease: A narrative review article Iran J Public Health 44(7):892–901
- Kim JH, Yeom JH, Ko JJ et al (2011) Effective delivery of anti-miRNA DNA oligonucleotides by functionalized gold nanoparticles. J Biotechnol 155:287–292. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.07.014>
- Kot K, Kot Y, Kurbanov R et al (2024) The effect of human PBMCs immobilization on their Aβ42 aggregates-dependent proinflammatory state on a cellular model of Alzheimer's disease. Front Neurosci 18:1325287. <https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1325287>
- Kou X, Chen D, Chen N (2020) The regulation of microRNAs in Alzheimer's disease. Front Neurol 11:288. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00288>
- Kovacs GG (2019) Molecular pathology of neurodegenerative diseases: Principles and practice. J Clin Pathol 72:725–735. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2019-205952>
- Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S (2019) miRBase: From microRNA sequences to function. Nucl Acids Res 47:D155–D162. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1141>
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V (1993) The *C. elegans* heterochronic gene lin4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin14. Cell 75(5):843–854. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-y)
- Lee SWL, Paoletti C, Campisi M et al (2019) MicroRNA delivery through nanoparticles. J Control Release 313:80–95. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.10.007>
- Li J, Sun CK (2018) *In vitro* analysis of microRNA-26a in chronic lymphocytic leukemia cells. Int J Mol Med 42(6):3364–3370. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3925>
- Li Y-B, Fu Q, Guo M et al (2024) MicroRNAs: pioneering regulators in Alzheimer's disease pathogenesis, diagnosis, and therapy. Transl Psychiatry 14:367. <https://doi.org/10.1038/s41398-024-03075-8>
- Liu Y, Song Y, Zhu X (2017) MicroRNA-181a regulates apoptosis and autophagy process in Parkinson's disease by inhibiting p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)/c-Jun N-terminal kinases (JNK) signaling pathways. Med Sci Monit 23:1597–1606. <https://doi.org/10.12659/MSM.900218>
- Liu J-J, Long Y-F, Xu P et al (2023) Pathogenesis of miR-155 on nonmodifiable and modifiable risk factors in Alzheimer's disease. Alzheimer's Res Therapy 15:12. <https://doi.org/10.1186/s13195-023-01264-z>
- Lin HM, Nikolic I, Yang J et al (2018) MicroRNAs as potential therapeutics to enhance chemosensitivity in advanced prostate cancer. Sci Rep 8:7820. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26050-y>
- Lippi G, Fernandes CC, Ewell LA et al (2016) MicroRNA-101 regulates multiple developmental programs to constrain excitation in adult neural networks. Neuron 92(6):1337–1351. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.11.017>
- Liu CG, Song J, Zhang YQ, Wang PC (2014) MicroRNA-193b is a regulator of amyloid precursor protein in the blood and cerebrospinal fluid derived exosomal microRNA-193b is a biomarker of Alzheimer's disease. Mol Med Rep 10(5):2395–2400. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2484>
- Long JM, Lahiri DK (2011) MicroRNA-101 down-regulates Alzheimer's amyloid-β precursor protein levels in human cell cultures and is differentially expressed. Biochem Biophys Res Commun 404(4):889–895. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.12.053>
- Mercer TR, Dinger ME, Sunkin SM et al (2008)

- Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 105(2):716–721. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706729105>
- Nguyen NTP, Kumar M, Fedele E et al (2022) MicroRNA alteration, application as biomarkers, and therapeutic approaches in neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci* 23. <https://doi.org/10.3390/ijms23094718>
- Nicoletti L, Paoletti C, Tarricone G et al (2022) Lipoplexes for effective in vitro delivery of micro-RNAs to adult human cardiac fibroblasts for perspective direct cardiac cell reprogramming. *Nanomedicine* 45:102589. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2022.102589>
- Noren Hooten N, Abdelmohsen K, Gorospe M et al (2010) microRNA expression patterns reveal differential expression of target genes with age. *PLoS ONE* 5:e10724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010724>
- Nsairat H, Alshaer W, Odeh F et al (2023) Recent advances in using liposomes for delivery of nucleic acid-based therapeutics. *OpenNano* 11:100132. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2023.100132>
- Nunez-Iglesias J, Liu CC, Morgan TE et al (2010) Joint genome-wide profiling of miRNA and mRNA expression in Alzheimer's disease cortex reveals altered miRNA regulation. *PLoS One* 5:e8898
- Pandian SRK, Vijayakumar KK, Murugesan S, Kundiappan S (2022) Liposomes: An emerging carrier for targeting Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Heliyon* 8(6). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09575>
- Parsi S, Smith PY, Goupil C et al (2015) Preclinical evaluation of miR-15/107 family members as multifactorial drug targets for Alzheimer's disease. *Mol Ther Nucleic Acids*, 4. <https://doi.org/10.1038/mtna.2015.33>
- Pauley KM, Cha S, Chan EKL (2009) MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. *J Autoimmunity* 32(3–4):189–194. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.02.012>
- Shi Z, Zhang K, Zhou H et al (2020) Increased miR-34c mediates synaptic deficits by targeting synaptotagmin 1 through ROS-JNK-p53 pathway in Alzheimer's disease. *Aging Cell* 19. <https://doi.org/10.1111/acer.13125>
- Slota JA, Booth SA (2019) MicroRNAs in neuroinflammation: implications in disease pathogenesis, biomarker discovery and therapeutic applications. *Non-Coding RNA* 5(2):35. <https://doi.org/10.3390/ncrna5020035>
- Spizzo R, Nicoloso MS, Croce CM, Calin GA (2009) Micro-RNAs in cancer. *Cell* 137(3):586–586. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.040>
- Sujay P, Vázquez LAB, Uribe SP et al (2020) Current status of microRNA-based therapeutic approaches in neurodegenerative disorders. *Cells* 9:1–26. <https://doi.org/10.3390/cells9071698>
- Sun D, Tan S, Xiong Y et al (2019) MicroRNA biogenesis is enhanced by liposome-encapsulated Pin1 inhibitor in hepatocellular carcinoma. *Theranostics* 9(16):4704–4716. <https://doi.org/10.7150/thno.34588>
- Taghdiri M, Mussolino C (2024) Viral and non-viral systems to deliver gene therapeutics to clinical targets. *Int J Mol Sci* 25:7333. <https://doi.org/10.3390/ijms25137333>
- Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein CJ (2008) miR-34a repression of SIRT1 regulates apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:13421–13426. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801613105>
- Yan L, Su Y, Hsia I et al (2023) Delivery of anti-microRNA-21 by lung-targeted liposomes for pulmonary fibrosis treatment. *Mol Ther Nucl Acids* 32:36–47. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2023.02.031>
- Yan Y, Li XQ, Duan JL et al (2019) Nanosized functional miRNA liposomes and application in the treatment of TNBC by silencing *Slug* gene. *Int J Nanomedicine* 14:3645–3667. <https://doi.org/10.2147/IJN.S207837>
- Yang N (2015) An overview of viral and nonviral delivery systems for microRNA. *Int J Pharm Investig* 5(4):179–181. <https://doi.org/10.4103/2230-973X.167646>
- Vilardo E, Barbato C, Ciotti M et al (2010) MicroRNA-101 regulates amyloid precursor protein expression in hippocampal neurons. *J Biol Chem* 285(24):18344–18351. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.112664>
- Walgrave H, Zhou L, De Strooper B et al (2021) The promise of microRNA-based therapies in Alzheimer's disease: challenges and perspectives. *Mol Neurodegeneration* 16:76. <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00496-7>
- Zhang B, Chen CF, Wang AH, Lin QF (2015) MiR-16 regulates cell death in Alzheimer's disease by targeting amyloid precursor protein. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 19(21):4020–4027. PMID: 26592823

Надійшла в редакцію 04.11.2024
Після доопрацювання 21.11.2024
Прийнята до друку 18.03.2025