TRAJTIMI I ASTMËS PËRMES NANOFORMULIMEVE INHALATORE ME siRNA QË TARGETOJNË GJENIN GATA3

Arbnor Cakiqi

Doktor i Mjekësisë

Abstrakti

Astma është një sëmundje inflamatore kronike që prek rrugët e frymëmarrjes, e nxitur kryesisht nga përgjigjja e qelizave T-ndihmëse të tipit 2 (T helper 2 cells-Th2) të cilat prodhojnë një sasi të tepruar të citokinave, përkatësisht interleukinave-4 (IL-4), interleukina-5 (IL-5), dhe interleukuna-13 (IL-13) [1]. GATA3 është një faktor transkriptues i nevojshëm për prodhimin e IL-4, IL-5 dhe IL-13, ekspresioni i të cilit është i ngritur në gjendjen asmatike [1,2]. ARN-ja e vogël ndërhyrëse (siRNA) ofron qasje të saktë të heshtjes së gjeneve, veçanërisht për pacientët me astmë rezistente ndaj kortikosteroideve, duke reduktuar shprehjen GATA3 dhe citokinave të prodhuara nga qelizat Th2 [2,3]. Përparimet e fundit në sistemet e aplikimit dhe shpërndarjes me bazë nanogrimcash, duke përfshirë poliplekset transferinë-polietileneimine (Tf-PEI) dhe transferinë-melitin-polietileneimine (Tf-Mel-PEI), kanë shfaqur mundësi të mira në stabilizimin e siRNA dhe rritjen e absorbimit të tij në indet e mushkërive [2,3,4]. Për më tepër, qasja e terapisë përmes inhalimit të nanogrimcave siguron jo vetëm një përgjigje më të targetuar, por gjithashtu shmang efektet sistemike, të vërejtura me terapinë konvencionale [3,4,5]. Këto formulime shfrytëzojnë endocitozën e ndërmjetësuar nga receptorët për të arritur shpërndarjen e synuar [3]. Një alternativë tjetër ofron qasjet e bazuara në DNAzyme të cilat mundësojnë heshtjen kalimtare të gjeneve, duke rritur potencialisht rezultatet terapeutike kur përdoren së bashku me siRNA [5]. Ky rishikim vlerëson efikasitetin, specificitetin dhe sigurinë e nanogrimcave të ngarkuara me siRNA që targetojnë GATA3 në astmë dhe diskuton mundësitë e ardhshme për të optimizuar sistemet e shpërndarjes dhe për të adresuar sfidat klinike.

Hyrje

Astma është një patologji prevalente, kronike e traktit respirator që prek më shumë se 300 milionë individë në mbarë botën, duke kontribuar në mbingarkimin e kujdesit shëndetësor dhe duke dëmtuar cilësinë e jetës së personave që vuajnë nga kjo sëmundje [6]. Kjo patologji karakterizohet me episode të përsëritura të bllokimit të rrugëve të frymëmarrjes [6,7]. Patofiziologjia e sëmundjes përfshin një ndërveprim kompleks të faktorëve gjenetik, mjedisor dhe imunologjik, ku rol qendror luajnë qelizat T helper 2 (Th2) [7,8,9]. Përmes sekretimit të citokinave të tilla si interleukina 4 (IL-4), interleukina-5 (interleukina-5), dhe interleukina-13 (IL-13), qelizat Th2 modulojnë përgjigjen inflamatore në patologjinë e astmës, duke kontribuar në sekretimin e shtuar të mukusit, infiltrimin eozinofilik dhe rimodelimin e rrugëve të frymëmarrjes [8,9,10]. GATA3 është një faktor transkriputes, i domosdoshëm në diferencimin e qelizave Th2 dhe prodhimin e citokinave si IL-4, IL-5 dhe IL-13 [8,9,10]. Ekspresioni i shtuar i GATA3 është vërejtur në indet e rrugëve të frymëmarrjes të pacientëve astmatikë, duke korreluar me ashpërsinë e sëmundjes, duke e bërë atë një objektiv terapeutik premtues për modulimin e përgjigjes inflamatore të drejtuar nga qelizat Th2 në astmë [11].

Përdorimi i ARN-së interferente (RNAi), veçanërisht përdorimi i ARN-së së vogël interferente (small interfering, (siRNA), hap një rrugë të re, në trajtimin e sëmundjeve përmes targetimit të gjenit specifik dhe zvogëlimit të ekspresionit të tij [3,12]. Kjo arrihet përmes degradimit të ARN-së mesengjere (mRNA), të gjenit të cakut, siç është në këtë rast GATA3. [12,13]. Ky zvogëlim i ekspresionit nënkupton edhe reduktimin e citokinave të prodhuara nga qelizat Th2, duke lehtësuar kështu inflamacionin dhe simptomat e astmës [2,3,4,7]. Kjo strategji terapeutike mund të jetë veçanërisht e vlefshme për pacientët me astmë të rëndë ose rezistente ndaj terapive konvencionale si kortikosteroidet dhe bronkodilatatorët [14,15]. Aplikimi klinik i siRNA ka hasur në sfida të vazhdueshme, veçanërisht paqëndrueshmëria e tij në lëngjet biologjike dhe marrja e dobët e qelizave, gjë që kufizon efektivitetin e saj in vivo [16].

Për të tejkaluar këto pengesa, janë dizajnuar sistemet e aplikimit të substancës aktive me bazë nanogrimcash, të cilat mundësojnë mbrojtjen e siRNA nga degradimi dhe lehtësojnë aplikimin e barit drejtpërdrejtë në indin mushkëror [2,3]. Nanogrimcat, po ashtu rrisin stabilitetin e siRNA dhe përmirësojnë absorbimin nga qelizat e synuara, andaj paraqesin një sistem të përshtatshëm, të aplikimit si terapi inhalatore në sëmundjet e sistemit respirator [2,3,4]. Studimet e fundit kanë eksploruar formulime të ndryshme të nanogrimcave, të tilla si konjugatet Tf-PEI dhe poliplekset Tf-Mel-PEI. Këto nanogrimca, të cilat targetojnë GATA3 përmes siRNA, në modele in vitro, in vivo dhe ex vivo të astmës, kanë demonstruar rezultate premtuese në heshtjen e gjeneve dhe reduktimin e citokinave inflamatore [2, 3].

Metodologjia

Ky rishikim u realizua përmes hulumtimit sistematik të literaturës nëpër data bazat kryesore, duke përfshirë PubMed, Scopus dhe Web of Science, duke përdorur fjalë kyçe të tilla si "siRNA", "GATA3", "astma", "terapi inhalimi" dhe "nanogrimca" për të identifikuar studimet përkatëse. Studimet u zgjodhën duke u bazuar në formulimet e nanogrimcave me përmbajtje siRNA jo-virale që si qëllim kanë GATA3 në trajtimin e astmës. Kriteret e përjashtimit përfshijnë studime që nuk trajtuan në mënyrë specifike astmën ose që përdorën metoda alternative të aplikimit të siRNA që nuk janë të përshtatshme për terapi inhalimi. Për qëllim krahasimi, terapitë përkatëse të bazuara në DNAzyme që targetojnë GATA3 janë përfshirë në këtë studim, duke theksuar efikasitetin, stabilitetin dhe sfidat e aplikimit dhe shpërndarjes.

Rezultatet

Korrespodenca:
arbnorcakiqi7@gmail.com

TRAJTIMI I ASTMËS PËRMES NANOFORMULIMEVE INHALATORE ME siRNA QË TARGETOJNË GJENIN GATA3

Burim Neziri

Profesor i Asocuar

Specialist i Alergologjisë me Imunologji Klinike

Mekanizmi veprues i nanogrimcave - Nanogrimcat Tf-PEI dhe Tf-Mel-PEI janë krijuar për të përmirësuar absorbimin qelizor të siRNA përmes përdorimit të endocitozës së ndërmjetësuar nga receptorët [2,3]. Ky shënjestrim i receptorit lehtëson absorbimin efikas qelizorë të nanogrimcave, duke e bërë atë shumë të përshtatshëm në aplikimin e siRNA dhe si terapi inhaltore [2,3,7]. Komponenti PEI gjithashtu mbron siRNA nga degradimi enzimatik, gjë që është kritike për rezultatet efektive terapeutike [2,3]. Në sistemet Tf-Mel-PEI, përfshirja e melitinës, shmang degradimin endo-lisosomal dhe tutje rrit efikasitetin e siRNA, nëpërmjet lehtësimit në shpërndarjen e drejtpërdrejtë në citoplazmë, duke rritur kështu efikasitetin e veprimit [17].

Nanogrimcat Tf-PEI: Keil et al. demonstroi se nanogrimcat Tf-PEI targetojnë në mënyrë efektive ekspresionin e GATA3 nëpërmjet receptorit të transferinës, i cili është i mbishprehur në qelizat T të aktivizuara në astmë [18]. Duke u lidhur me këtë receptor, nanogrimcat Tf-PEI mundësojnë një tranzicion të lehtësuar të grimcave në ambientin brendaqelizorë, duke reduktuar ndjeshëm ekspresionin e GATA3 në qelizat T dhe rrjedhimisht duke ulur nivelin e citokinave të sekretuara nga qelizat Th2, duke përfshirë IL-4, IL-5, dhe IL-13 [2,3,7].

Poliplekset Tf-Mel-PEI: Në modelet ex-vivo të indeve të mushkërive njerëzore, Tf-Mel-PEI demonstroi një reduktim 88% të ekspresionit të GATA3, rrjedhimisht zvogëlim të prodhimit të citokinave inflamatore nga qelizat Th2 dhe reduktim të infalamcionit [3]. Melitina, jo vetëm që rrit efikasitetin e siRNA, por gjithashtu minimizon citotoksicitetin, duke e bërë Tf-Mel-PEI një kandidat premtues në studimet potenciale klinike [17]. Studimet kanë treguar përmirësim të funksionit të mushkërive dhe ulje të inflamacionit në modelet e astmës dhe demonstrojnë potencialin e Tf-Mel-PEI si një terapi e qëndrueshme në patologjinë asmatike [3].

Poliplekset apo liposomet? Poliplekset, të tilla si Tf-PEI, ofrojnë disa avantazhe të stabilitetit ndaj liposomeve, veçanërisht në aplikimet si terapi inhalatore [19]. Ndërveprimet e forta elektrostatike midis polimerit kationik (PEI) dhe siARN-së të ngarkuar negativisht formojnë struktura kompakte që janë shumë të qëndrueshme dhe më pak të prira për t'u destabilizuar, duke i bërë ato më të besueshme për përdorim terapeutik [7,19].

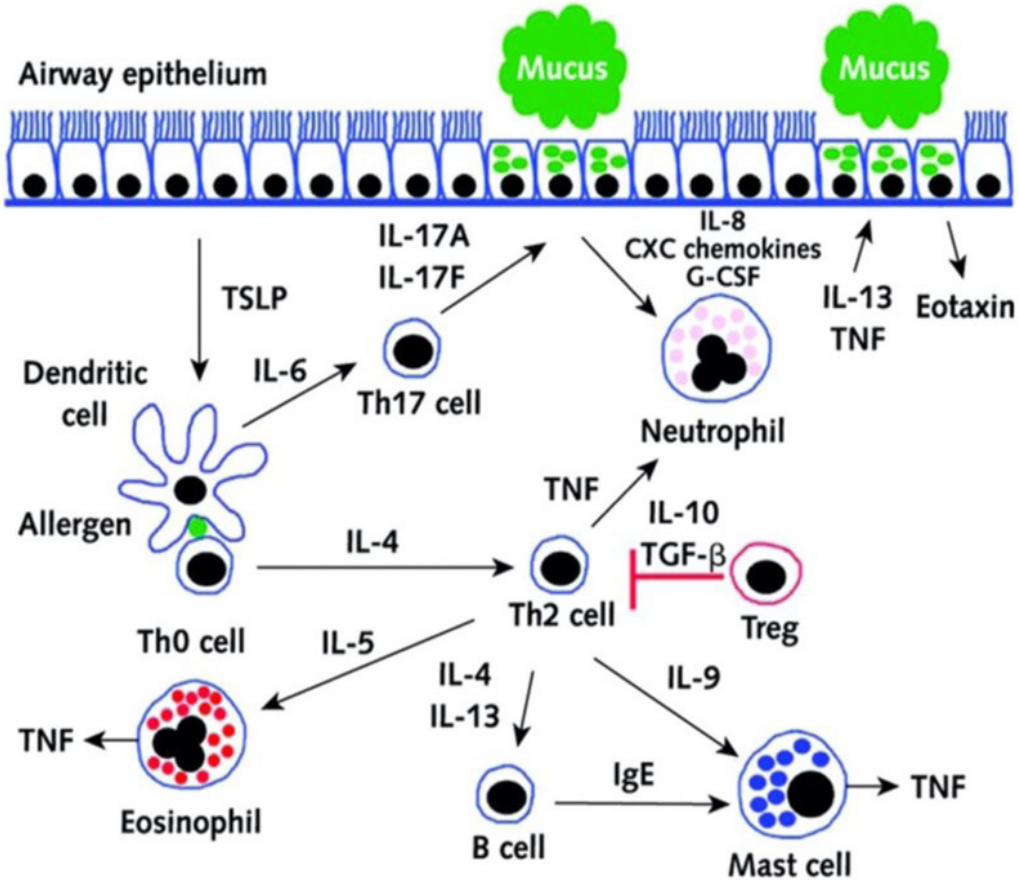

Figura 1. Patofiziologjia e astmës. Roli i qelizave T-helper 2 në patofiziologjinë e astmës. Marrë nga: Keil TWM, Baldassi D, Merkel OM. T-cell targeted pulmonary siRNA delivery for the treatment of asthma. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2020 Sep;12(5):e1634. doi: 10.1002/wnan.1634. Epub 2020 Apr 8. PMID: 32267622; PMCID: PMC7116616.

Korrespodenca:
burim.neziri@uni-pr.edu

Funksioni i DNAzyme - DNAzyme janë molekula katalitike të ADN-së të afta për të prerë sekuenca specifike të ARN-së, duke zvogëluar kështu ekspresionin e gjenit target [21]. Stabiliteti i tyre në mjediset biologjike i bën ato veçanërisht të favorshme për aplikime afatshkurtra ku kërkohet heshtja (silencing) e përkohshme e gjeneve [21,22]. Për shembull, DNAzyme që targetojnë mRNA e GATA3 kanë treguar aftësi në terapinë e astmës përmes modifikimit të përgjigjes imune dhe reduktimit të inflamacionit [21,22]. Gavitt et al. zhvilluan nanokapsula të acidit nukleik të cilat përmbajnë DNAzyma që targetojnë në mënyrë specifike GATA3. Këto nanoformulime, demonstruan stabilitet në serum dhe shkallë më të ulët degradimi se sa siRNA [22]. Megjithatë, DNAzyme shpesh kanë efekte më të shkurtra në heshtjen e gjeneve, pikërisht kjo edhe kufizon përdorimin në kushte kronike si astma ku kërkohet një reduktim në ekspresion të GATA3 afatgjate dhe të vazhdueshme [21,22,23].

Diskutimi

Zhvillimi i nanogrimcave të ngarkuara me siRNA që targetojnë GATA3 përfaqëson një qasje terapeutike premtuese për astmën, veçanërisht për pacientët me astmë rezistente ndaj kortikosteroideve, të cilët shfaqin përgjigje të kufizuar ndaj trajtimeve konvencionale [3,4,9,11] Studimet mbi formulimet e nanogrimcave Tf-PEI dhe Tf-Mel-PEI kanë demonstruar reduktim të dukshëm në ekspresionin e GATA3, duke rezultuar në ulje të niveleve të citokinës Th2, si IL-4, IL-5 dhe IL-13 [2,3,7]. Kjo shtypje e qëllimshme e inflamacionit të ndërmjetësuar nga Th2 është thelbësore për kontrollimin e episodeve përkeqësuese të astmës, duke ndikuar në bazën patofiziologjike të sëmundjes. [8,9,10].

Efikasiteti dhe specificiteti - Efikasiteti dhe specificiteti i nanogrimcave të ngarkuara me siRNA, veçanërisht Tf-PEI dhe Tf-Mel-PEI, janë dokumentuar mirë. Nanogrimcat Tf-PEI shfrytëzojnë receptorin e transferrinës, të mbishprehur në qelizat T të aktivizuara, për të drejtuar siRNA në mënyrë specifike në këto qeliza dhe duke minimizuar ndërveprimet me qelizat jo objektive [2,3].

Sfidat e aplikimit dhe absorbimit - Aplikimi efektiv i siRNA në indet e mushkërive përballet me disa sfida, kjo për shkak të mekanizmave mbrojtës të sistemit të frymëmarrjes. Këto përfshijnë pastrimin mukociliar, degradimin enzimatik dhe praninë e makrofagëve alveolarë të cilët fagocitojnë grimcat e huaja [8,9,10,11]. Sistemet e aplikimit me bazë nanogrimcash, të tilla si poliplekset me bazë PEI, ndihmojnë në tejkalimin e këtyre barrierave duke stabilizuar siRNA kundër degradimit enzimatik, dhe zgjasin kohën e gjysmë jetës brenda ambientit mushkëror [2,3,7]. Për më tepër, formulimet farmaceutike në formë të thatë të Tf-PEI dhe Tf-Mel-PEI përmirësojnë disponueshmërinë dhe stabilitetin, gjë që është veçanërisht e vlefshme në trajtimin e kushteve kronike si astma [2,3].

Siguria dhe imunogjeniciteti - Një nga konsideratat kryesore në terapitë e bazuara në siRNA është siguria, veçanërisht për sa i përket imunogjenicitetit të shoqëruar me administrime të përsëritura. Poliplekset si Tf-PEI tregojnë imunogjenicitet të reduktuar në krahasim me liposomet tradicionale, pasi struktura e tyre kompakte dhe veshjet biokompatibile ulin gjasat për një përgjigje imune [19]. Megjithatë, përgjigjet imune mund të ndodhin ende me formulimet e bazuara në PEI, edhe modifikime të mëtejshme për të reduktuar citotoksicitetin dhe imunogjenicitetin e natyrshëm të PEI janë nën studim të vazhdueshëm [2,3,19]. Qasjet, si përfshirja e mbështjellësve biokompatibil, ose modifikimet në strukturën e polipleksit, po hulumtohen për të zbutur më tej përgjigjet imune, duke shtuar siguri afatgjate në mjediset klinike [2,3,19].

Përdorimi klinik - Riprodhueshmëria e formulimeve të nanogrimcave dhe ruajtja e cilësisë së vazhdueshme, sidomos në rastet e prodhimit në masë janë thelbësore për zbatimin klinik. Sigurimi i pajtueshmërisë rregullatore dhe vendosja e protokolleve të standardizuara të prodhimit janë po aq thelbësore për pranimin klinik të këtyre trajtimeve [24].

Krahasimi i siRNA dhe DNAzyme dhe aplikimet në të ardhmen - Nanogrimcat e bazuara në siRNA sigurojnë zvogëlim të qëndrueshëm të ekspresionit të gjeneve, ndërsa DNAzyme trajtojnë një qasje alternative në shtypjen e ekspresionit të gjeneve në astmë [2,3,21,22]. DNAzyme janë veçanërisht të përshtatshme për situatat që kërkojnë efekte të shpejta dhe të përkohshme [21,22]. Zhvillimi i mbështjellësve biokompatibil ose materialeve alternative për të reduktuar imunogjenicitetin pa kompromentuar

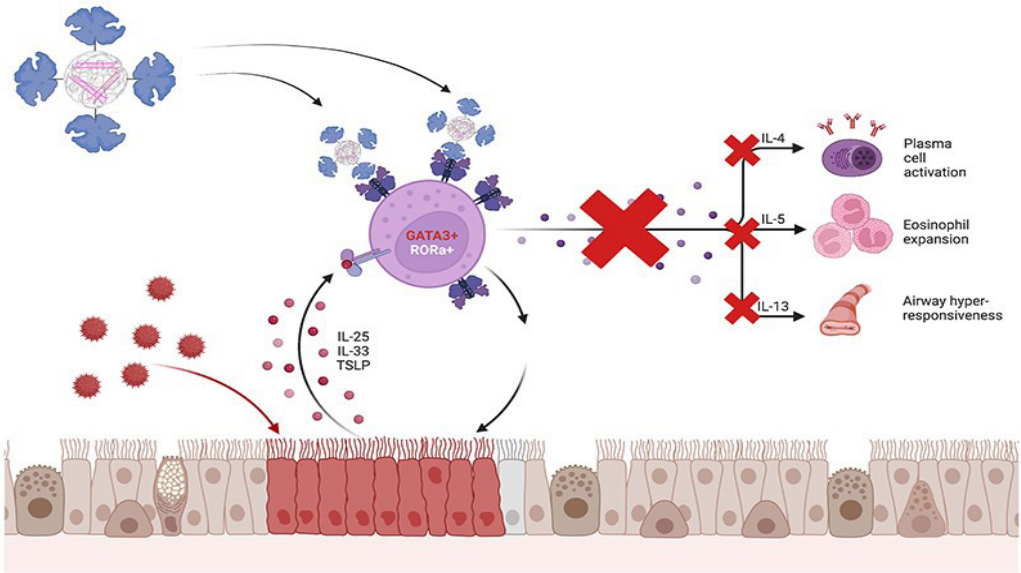

Figura 2. Aplikimi i siRNA të mbështjella me poliplekset Tf-Mel-PEI dhe targetimi i gjenit GATA3, zvogëlimi i sekretimit të citokinave inflamatore. Marrë nga: Kandil R., Baldassi D., Böhlen S., Müller JT., Jürgens DC., Bargmann T., Dehmel S., Xie Y., Mehta A., Sewald K., Merkel OM. Targeted GATA3 knockdown in activated T cells via pulmonary siRNA delivery as novel therapy for allergic asthma. J Control Release. 2023 Feb;354:305-315. doi: 10.1016/j.jconrel.2023.01.014. Epub 2023 Jan 13. PMID: 36634709; PMCID: PMC7614985.

efikasitetin do të jetë thelbësor [2,3,7].

Përfundimi

Nanogrimcat e ngarkuara me siRNA që targetojnë GATA3 paraqesin një strategji premtuese terapeutike për astmën, veçanërisht për personat me raste rezistente ndaj kortikosteroideve. Formulimet si Tf-PEI dhe Tf-Mel-PEI demonstrojnë reduktim efektiv në ekspresionin e GATA3 dhe citokinave inflamatore të prodhuara nga qelizat Th2, duke ndihmuar në menaxhimin e simptomave të astmës në bazën molekulare. Me gjithë sfidat e aplikimit dhe shpërndarjes, këto poliplekse rrisin stabilitetin dhe specificitetin siRNA, ndërsa shtimi i melitines shmang degradimin endo-lisosomal, duke përmirësuar kështu heshtjen e GATA3. Imunogjeniteti mbetet një pengesë, megjithatë mbështjellësit biokompatibil dhe modifikimet strukturore mund të zbusin përgjigjet inflamatore. Një koncept i mundshëm do të ishte aplikimi sinergjik i DNAzyme dhe siRNA, pasi që DNAzyme mundësojnë supresion të shpejtë dhe të përkohshëm të gjeneve, ndërsa siRNA redukton ekspresionin e gjenit për kohë më të gjatë. Hulumtime të mëtutjeshme, sidomos ato klinike do të përcaktojnë vlefshmërinë terapeutike të siRNA në sëmundjen e astmës.

Referencat:

1. Barnes PJ. Th2 cytokines and asthma: an introduction. Respir Res. 2001;2:64.

2. Kandil R. T cell targeted nanoparticles for pulmonary siRNA delivery as novel asthma therapy.

3. Kandil R, Merkel OM. siRNA delivery with nanoparticle-based systems for asthma treatment. Mol Pharm. 2023;20(3):687-95.

4.Zhang H, Wang Q, Lin T, Wang J. Advances in nanoparticle-based siRNA delivery systems for overcoming challenges in asthma therapy. Nanomedicine. 2020;15(12):1145-59.

5.Chakraborty S, Veettil SK, Patel KD. DNAzymes: Therapeutic potential and recent advances in gene silencing approaches. Mol Biotechnol. 2020;62(10):453-67.

6.Oh CK, Leigh R, McLaurin KK, et al. A randomized, controlled trial to evaluate the effect of an anti-interleukin-9 monoclonal antibody in adults with uncontrolled asthma. Respir Res. 2013;14(1):93.

7. Keil TW, Baldassi D, Merkel OM. T-cell targeted pulmonary siRNA delivery for the treatment of asthma. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology. 2020 Sep;12(5):e1634.

8.Habib N, Pasha MA, Tang DD. Current Understanding of Asthma Pathogenesis and Biomarkers. Cells. 2022;11(17):2764.

9.Pelaia C, Heffler E, Crimi C, Maglio A, Vatrella A, Pelaia G, et al. Interleukins 4 and 13 in asthma: Key pathophysiologic cytokines and druggable molecular targets. Front Pharmacol. 2022;13:851940.

10. Wang Y, Liu L. Immunological factors, important players in the development of asthma. BMC Immunol. 2024;25:50.

11. Wenzel SE. Current concepts of severe asthma. J Clin Invest. 2012;122(4):876-88.

12.Hu B, Zhong L, Weng Y, Peng L, Huang Y, Zhao Y, Liang XJ. Therapeutic siRNA: state of the art. Signal Transduct Target Ther. 2020 Jun 19;5(1):101. doi: 10.1038/s41392-020-0207-x. PMID: 32561705; PMCID: PMC7305320.

13.Agrawal N, Dasaradhi PVN, Mohmmed A, Malhotra P, Bhatnagar RK, Mukherjee SK. RNA interference: biology, mechanism, and applications. Microbiol Mol Biol Rev. 2003;67(4):657-85.