

ВЛИЯНИЕ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Суяров А.А.¹, Киреев В.В.¹, Хатамов Х.М.¹, Очилов С.И.²

¹Институт иммунологии и геномики человека АН РУз,

²Ташкентский медицинский педиатрический институт

ХУЛОСА

Ушбу шарҳда ген-муҳандислик дори воситаларининг таснифи ва уларнинг ҳужайравий иммунитет кўрсаткичларига таъсирини муҳокамаси ва ушбу препаратларни қўллашга кўрсатмалари келтирилган.

Калит сўзлар: *ген-муҳандислик препаратлари, иммунологик кўрсаткичлар, ритуксимаб, инфликсимаб, тоцилизумаб, адалимумаб, этанерцепт, цертолизумаб, голимумаб, секунимаб, овализумаб.*

XXI век явился веком прорывных технологий в лечении большого числа различных заболеваний, включая различные аутоиммунные. Впервые удалось создать препараты, способные блокировать конкретное звено иммунопатогенеза заболевания, что делало невозможным дальнейшее его развитие, что приводило к развитию ремиссии. С развитием фармакологии и иммунологии становилось все больше препаратов, созданных методами генной инженерии и получивших название биологические генно-инженерные препараты (биосимиляры) (БГИП), которые широко применяются в различных областях медицины. В настоящее время их насчитывается несколько десятков с самыми различными механизмами действия, и применяются в онкологии, пульмонологии, ревматологии, гематологии, кардиологии и других сферах медицины. В рамках данного обзора нет никакой возможности привести характеристику всем биосимилярам, тем более что многие не зарегистрированы и не завозятся в республику Узбекистан. В условиях нашей республики их применение отчасти сдерживает высокая цена.

Наш обзор посвящается препаратам, применяемым в ревматологии и отчасти в пульмонологии и аллергологии.

В настоящее время по механизму действия все биосимиляры подразделяются на 3 группы.

1. Клеточные блокаторы – блокируют конкретные клетки иммунной системы. К ним относятся ритуксимаб (блокатор В-клеток), белимуаб (блокатор CD19) и др.

2. Антицитокиновые препараты – связывают определённые цитокины, важные для иммунопатогенеза заболевания. К ним относят инфликсимаб (ингибитор ФНО), адалимумаб (антагонист ИЛ4), тоцилизумаб (антагонист ИЛ1), секунимаб (антагонист

SUMMARY

This review provides a classification of genetically engineered drugs and examines the effect on cellular immunity, indications for their use.

Keywords: *genetically engineered drugs, immunological parameters, rituximab, infliximab, tocilizumab, adalimumab, etanercept, certolizumab, golimumab, secunimab, omalizumab.*

ИЛ 17), цертолизумаб, голимумаб, этанерцепт и т.д.

3. Блокаторы межклеточных взаимодействий – абатацепт (блокирует межклеточную кооперацию Т-клеток) и др.

Все биосимиляры влияют на конкретное звено иммунопатогенеза, делая невозможным развитие аутоиммунного воспаления на определенный период, что приводит к развитию ремиссии заболевания. Основные механизмы действия препаратов хорошо изучены и для многих описаны еще в прошлом веке. Ввиду сложности иммунопатогенеза в развитии воспаления принимают участие и другие компоненты иммунной системы, которые описываются гораздо реже или же вообще не описываются. Вот почему изучение влияния на другие компоненты иммунной системы БГИП при лечении аутоиммунных ревматических заболеваний представляется чрезвычайно актуальным.

Наш обзор приводится на сопоставлении собственного опыта лечения различных АРЗ биосимилярами. При этом для контроля эффективности лечения до и спустя 14 дней после введения проводилось иммунологическое исследование в периферической крови с оценкой лимфоцитов, CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD23, CD25, CD95 и CD45R.

Ритуксимаб - химерные моноклональные антитела к CD20 антигену В клеток состоит из полученных методом генной инженерии химерных (мышь -человек) анти-CD20 моноклональных антител. Препарат был создан в 2000 г для лечения В-клеточной лимфомы, а с 2002 г препарат стал применяться для лечения РА, несколько позднее – в лечении СКВ, ССД, системных васкулитов, а также болезни Крона, неспецифического язвенного колита, а также рассеянного склероза, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, а также некоторых других заболеваний с

аутоиммунным генезом.

Препарат блокирует синтез В-клеток, в первую очередь CD20, вызывая их истощение, а также блокируя их гиперактивацию на длительный срок. Также происходит блокировка межклеточных взаимодействий, что нарушает механизм иммунопатогенеза в течении аутоиммунных заболеваний [2].

Выбор CD20 молекулы в качестве мишени для моноклональных антител связан с особенностями дифференцировки В-клеток, которые в процессе созревания от стволовых клеток в плазматические клетки проходят несколько последовательных стадий, для каждой из которых характерна экспрессия определенных мембранных молекул. Считается, что способность ритуксимаба элиминировать В-клетки, реализуется за счет нескольких механизмов, в том числе комплемент-зависимой и антитело-зависимой клеточной цитотоксичности, а также индукции апоптоза.

Основным механизмом действия ритуксимаба является [1-6]:

1. Ослабление антиген-презентирующей функции В-клеток в отношении индукции пролиферации и синтеза цитокинов CD4+ Т клетками.
2. Деструкция aberrантных ростковых центров: снижение образования аутоантиген-специфичных В-клеток памяти, плазматических клеток и синтеза антител.
3. Истощение предшественников плазматических клеток: подавление синтеза антител и образования иммунных комплексов.
4. Модуляция активности других аутореактивных клеток за счет нарушения функции Т-клеток.
5. Активация Т-регуляторных клеток (CD4+ CD25+).

В настоящее время доказана большим числом клинических исследований возможность эффективного контроля аутоиммунных патологических состояний путем истощения (и/или модуляции функции) В-клеток. Об этом свидетельствует высокая эффективность ритуксимаба при РА и других аутоиммунных заболеваний, что послужило основанием для регистрации препарата для лечения этого заболевания. В настоящее время проведены и продолжаются исследования, подтвердившие высокую эффективность ритуксимаба при РА как у больных резистентных к терапии «стандартными» БПВП, так и ингибиторами ФНО-а, что позволяет рассматривать ритуксимаб как высокоэффективный базисный противовоспалительный генно-инженерный биологический препарат. При этом повторные курсы терапии ритуксимабом столь же эффективны, как и первый, а терапевтический эффект первого курса может сохраняться в среднем 40-50 недель. Эти данные свидетельствуют о том, что применение ритуксимаба позволяет максимально индивидуализировать лечение РА, и, тем самым, повысить эффективность и безопасность фармакотерапии в целом. На фоне повторных курсов

ритуксимаба не отмечено нарастания частоты побочных эффектов, включая инфекционные осложнения, а частота (и интенсивность) постинфузионных реакций достоверно снижается [2,21].

У больных с неэффективностью ингибиторов ФНО применение ритуксимаба в большей степени подавляет активность пораженных суставов (DAS 28) [17].

Показанием к назначению ритуксимаба является наличие РА средней и высокой степени активности, особенно на ранних стадиях заболевания, что позволяет остановить прогрессирование заболевания на ранней стадии, а на поздней – купировать воспалительную активность и значительно улучшить качество жизни пациентов РА. Ритуксимаб оказывается эффективным в случаях неэффективности ингибиторов ФНО и других антицитокиновых препаратов. Следует отметить, что риск развития оппортунистических инфекций при введении ритуксимаба крайне низок. Препарат применяется в комбинации с метотрексатом, азатиоприном и другими ИД, низкими дозами ГКС, позволяя весьма эффективно контролировать течение РА и других АРЗ. На фоне применения ритуксимаба снижается потребность в высоких дозах ГКС, МТ или же других ИД, что снижает частоту побочных эффектов данной категории ЛС. Это также свидетельствует о том, что препарат, вероятно опосредовано, восстанавливает чувствительность к ГК и ИД [6, 10, 11,17]. Авторы располагают большим опытом его применения (свыше 300 пациентов) в лечении РА, СКВ, ССД, анкилозирующего спондилоартрита, псориатического артрита, системных васкулитов, а также в единичном случае миастении.

При введении ритуксимаба наблюдалось небольшое снижение абсолютного показателя лимфоцитов после введения ритуксимаба и по сравнению со здоровыми лицами. Это обусловлено прямым действием ритуксимаба на лимфоциты, вызывая развитие лимфопении [5,6,16].

А относительный показатель CD 3% незначительно повышался после введения препарата, при этом данный показатель был достоверно снижен как до, так и после введения препарата по сравнению с контролем. Абсолютный же показатель CD3, наоборот, повышался после введения ЛС, при этом оставаясь достоверно низким как до, так и после лечения. Повышение числа Т-клеток, обусловлено нарушением межклеточной кооперации, в результате чего происходит перераспределение клеток и повышение их числа [11,17].

Выявлено достоверное снижение относительного и абсолютного показателя В-лимфоцитов (CD20) после применения ритуксимаба, при этом после введения этот показатель существенно не отличается от значений здоровых лиц. Снижение В-клеток обусловлено прямым действием препарата на В-клетки [2].

Сходная ситуация наблюдается и с относительным и абсолютным показателями CD4, при этом на-

блюдается достоверное снижение после использования ритуксимаба. Следует отметить, что как до, так и тем более после применения препарата, эти показатели достоверно снижены по сравнению со значениями здоровых лиц. Снижение CD4 связано за счет с одной стороны перераспределения Т-клеточного пула, а с другой – развитием лимфопении [6,11,17].

Выявляется достоверное снижение относительного и абсолютного показателя CD8, при этом если до введения препарата эти значения были достоверно повышены по сравнению со здоровыми лицами. Но после введения, эти показатели оказались достоверно сниженными. Снижение CD8 также обусловлено развитием лимфопении [10].

Значения ИРИ несколько снижались без существенных достоверных различий, но как до, так и после применения ритуксимаба этот показатель был достоверно сниженным по сравнению со здоровыми лицами.

При использовании ритуксимаба происходит существенное достоверное снижение относительного и абсолютного показателя естественных киллеров (CD16). Однако, как до, так и после введения эти показатели оказались достоверно повышены по сравнению со здоровыми лицами. Несмотря на то, что уровень CD16 остается повышенным, снижение их числа обусловлено прямым лизирующим действием на киллерные клетки, а также блокадой кооперации взаимодействия В-клеток и естественных киллеров при РА [17].

Значения показателя CD95 незначительно снижаются без достоверных различий, но остаются достоверно сниженными по сравнению со здоровыми лицами.

Обнаруживается небольшое достоверное снижение CD23 после введения ритуксимаба, при этом этот показатель оставался достоверно повышенным по сравнению со здоровыми лицами. Вероятно, это является результатом нарушения межклеточных взаимодействий в иммунном ответе при РА [17].

Значения показателя CD45 незначительно снижались, оставаясь при этом достоверно повышенными по сравнению со здоровыми лицами [16].

Таким образом, применение ритуксимаба оказывает иммунорегулирующее действие, вызывая достоверное снижение одних показателей и повышение других. Происходит изменение характера межклеточной кооперации иммунного ответа у больных РА и изменения рецепторов на поверхности лимфоцитов, что приводит к улучшению чувствительности к ГКС и ИД.

Следует отметить, что назначение ритуксимаба показано во всех случаях АРЗ с повышением уровня В-клеток, что позволяет значительно улучшить результаты лечения.

В 1995 г был создан первый антицитокиновый препарат – инфликсимаб (ремикейд), являющийся ингибитором ФНОα. Несмотря на солидный опыт его

применения, препарат продолжает широко использоваться в лечении РА, канализующего спондилоартрита, псориатического артрита, СКВ, системных васкулитов. Авторы располагают опытом его применения свыше 200 пациентов с различными АРЗ. Следует отметить, что в отличие от ритуксимаба, инфликсимаб не оказывает существенного влияния на клеточные иммунологические показатели. Отмечается тенденция к умеренному снижению числа всех клеточных показателей. Согласно общепринятым данным инфликсимаб не влияет на Т-клеточную популяцию. Однако исследование Р. Дален и соавт. (2013)[9] приводило к снижению экспрессии CD25 в популяциях Т-клеток CD4(+) и CD8(+) и ингибировало секрецию IFN-γ, IL-13, IL-17A, TNF, и подавлял пролиферацию Т-клеток CD4(+) и CD8(+). Инфликсимаб изменяет экспрессию регуляторных Т-клеток и ко-ингибиторных рецепторов на циркулирующих Т-клетках при псoriasisе. Показано, что инфликсимаб связывается с активированными Т-клетками периферической крови и собственной пластинки и индуцирует апоптоз посредством активации каспазы 3 [13]. Согласно работе S. DeMiguel доля В-клеток, экспрессирующих CD23, была выше до введения инфликсимаба, чем после лечения РА [14].

Тоцилизумаб применяется в лечении РА и других АРЗ с 2006 г. Препарат показал свою эффективность в лечении РА, СКВ, ССД, системных васкулитов, анкилозирующего спондилоартрита. Пик «популярности» препарата пришелся на пандемию COVID-19, где препарат эффективно купировал цитокиновый шторм у пациентов с тяжелым течением заболевания. Авторы располагают опытом применения свыше 250 пациентов с различными АРЗ. Препарат усиливал гомеостаз В- и Т-клеток, регулируя дифференцировку В-клеток и ингибируя активацию лимфоцитов. ТЦЗ не влиял на количество CD68+макрофагов или CD20+В-клеток, но вызывал значительное снижение количества CD3+Т-клеток [8,12]. В наших исследованиях достоверных иммунологических изменений при применении тоцилизумаб не отмечалось, отмечалось лишь небольшое снижение всех субпопуляций CD-лимфоцитов.

Адалимумаб (хумира) – один из старейших препаратов в лечении РА. Адалимумаб влияет на количество и функцию регуляторных Т-лимфоцитов, а также на апоптоз иммунных клеток, эти эффекты носят временный характер, и их возможную причинно-следственную связь с терапевтической активностью этого биологического агента еще не определена. В лечении ЮРА хумира значительные изменения в числе В-клеток и Т-клеток с относительным снижением соотношений NK-клеток. Многолетнее применение хумиры вызывало повышенную экспрессию CD25/CD134 в CD4 + по сравнению с CD8 + Т-клетками как у пациентов, так и у контрольной группы. У пациентов с анкилозирующим спондилитом применение алалимумаба приводило к снижению пропорций наи-

вных клеток CD4 и CD8, увеличение частоты клеток Th1 и Th17 и более высокие соотношения Th1/Th2 у пациентов [20].

Этанерцепт применяется в лечении РА и других РЗ с 1998 г. Этанерцепт может снижать процент CD19 + общих В-клеток, CD19 + CD27 + В-клеток памяти и CD19 – CD27 + CD138 + плазматических В-клеток, снижать уровни TNF- α , BAFF, облегчать клинические и лабораторные показатели у пациентов с РА. Кроме того, этанерцепт может ингибировать пролиферацию В-клеток, сдерживать дифференциацию переходных В-клеток в зрелые В-клетки, снижать экспрессию TNFR2, TRAF2, P-38, P-65 в В-клетках [7,19]. Все эти изменения выявляются при длительном применении препарата, а в краткосрочных исследованиях существенных изменений иммунологических показателей выявлено не было. Авторы располагают значительным опытом применения этанерцепта в лечении РА и АС с минимальной степенью активности заболевания. Важной особенностью этанерцепта является его возможность применения при наличии сопутствующего гепатита В и С.

Цертолизумаб является пэгилированным соединением с длительным периодом его высвобождения и применяется с 2008 г в лечении РА, АС, псориатического артрита и болезни Крона и представляет собой ПЭГилизованный антигенсвязывающий фрагмент гуманизированного моноклонального антитела к ФНО. Как по литературным данным, так и по результатам собственных исследований не найдено значимого изменения иммунологических показателей при применении цертолизумаба. Авторы располагают опытом применения данного препарата у 50 пациентов с РА и АС с хорошим эффектом несмотря порой на его однократное введение в течение года.

Близким по действию является голимумаб, также применяемый с 2009 г в лечении РА, АС, язвенного колита, препарат человеческих моноклональных антител класса IgG1 κ , полученных от линии клеток мышиной гибридомы рекомбинантным путём, связывает и нейтрализует по реакции «антиген-антитело» и растворимые, и мембранно-связанные формы ФНО. Ингибирует экспрессию молекул адгезии, в том числе Е-селектина, молекул адгезии сосудистых клеток (VCAM-1) и молекул межклеточной адгезии (ICAM-1), на поверхности эндотелиальных клеток, ингибирует индуцированную ФНО α секрецию интерлейкина-6, интерлейкина-8 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человеческими эндотелиальными клетками. В доступной литературе не найдено данных, посвященных влиянию голимумаба на иммунологические показатели.

Секунумаб используется с 2015 г в лечении анкилозирующего спондилита и псориатического артрита и является ингибитором ИЛ 17 и по механизму действия близок к голимумабу. Применяется в лечении АС и псориатического артрита. Авторы располагают опытом его применения у 50 пациентов.

В литературе не найдено данных о влиянии секунумаба на клеточные иммунологические показатели.

В настоящее время БГИП находят свое место в лечении аллергических заболеваний и бронхиальной астмы. К таким препаратам относятся омализумаб (омализумаб) являющийся антагонистом IgE. Омализумаб связывается с IgE и предотвращает его взаимодействие с высокоаффинным Fc ϵ RI-рецептором, приводя к снижению уровня свободного IgE, который является пусковым фактором для каскада аллергических реакций. При применении препарата омализумаба происходит подавление IgE-опосредованного воспаления, что снижает содержание эозинофилов в крови и тканях, а также снижает выработку медиаторов воспаления, в том числе IL-4, IL-5 и IL-13. При применении препарата у пациентов с atopической бронхиальной астмой (БА) отмечается заметное уменьшение количества Fc ϵ RI-рецепторов на поверхности базофилов. Препарат применяется в лечении атипической бронхиальной астмы, аллергического ринита, полипы носа, идиопатической крапивницы. Препарат применяется с 2003 г в США, с 2005 г в Евросоюзе, в Российской Федерации с 2007 г. В литературе не найдено сведений о его влиянии на иммунные показатели.

Таким образом, в представленном обзоре принята попытка охарактеризовать влияние БГИП, применяемых нами, на иммунологические показатели.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеева А.С., Кусевич Д.А. Роль лабораторных биомаркеров в прогнозировании эффективности терапии ритуксимабом при ревматоидном артрите (новые данные). //Научно-практическая ревматология. 2017; 55(3): 295-303.
2. Лучихина Е.Л. Ритуксимаб: современная терапия ревматоидного артрита //Современная ревматология. – 2008. – № 2. – С.74-78.
3. Меснянкина А.А., Соловьев С.К., Асеева Е.А. и др. Влияние генно-инженерных биологических препаратов на субпопуляции В-лимфоцитов у больных системной красной волчанкой. // Современная ревматология. 2019;13(1):35–43.
4. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А. Аутоиммунные ревматические заболевания – проблемы иммунопатологии и персонализированной терапии. //Вестник РАМН. 2015; 70 (2): 169–182. doi: 10.15690/vramn.v70i2.1310
5. M. Barrett. R. FoaJoerg. M Susan O'Brien. N. Valente. M. Wenger. D. G. Maloney. Rituximab in B-cell hematologic malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience // Gilles SallesAdvTher (2017) 34:2232–2273.
6. Bergantini L, d'Alessandro M, Cameli P, Vietri L, Vagaggini C, Perrone A, Sestini P, Frediani B, Bargagli E. Effects of rituximab therapy on B cell differentiation and depletion. //ClinRheumatol. 2020

- May;39(5):1415-1421. doi: 10.1007/s10067-020-04996-7.
7. Cai X-Y, Zhu Y, Wang C, Tang X-Y, Han L, Shu J-L, Zhang X-Z, Liang F-Q, Ge J-R, Xu L, Mei D, Zhang L-L and Wei W (2020) Etanercept Inhibits B Cell Differentiation by Regulating TNFR2/ TRAF2/NF- κ B Signaling Pathway in Rheumatoid Arthritis. // *Front. Pharmacol.* 11:676. doi: 10.3389/fphar.2020.00676
8. Chatzidionysiou K., Circiumaru A., Rethi B., Joshua V., Engstrom M., Hensvold A., afKlint E., Catrina A. Tocilizumab decreases T cells but not macrophages in the synovium of patients with rheumatoid arthritis while it increases the levels of serum interleukin-6 and RANKL: // *RMD Open* 2021; 7: e001662.
9. Dahlén R, Strid H, Lundgren A, Isaksson S, Raghavan S, Magnusson MK, Simrén M, Sjövall H, Öhman L. Infliximab inhibits activation and effector functions of peripheral blood T cells in vitro from patients with clinically active ulcerative colitis. // *Scand J Immunol.* 2013 Sep;78(3):275-84. doi: 10.1111/sji.12081
10. Feist E, Dörner T.Z Rituximab//*Rheumatol.* 2010 Sep;69(7):594-600. doi: 10.1007/s00393-009-0528-1.
11. Felberg A, Taszner M, Urban A, Majeranowski A, Jaskuła K, Jurkiewicz A, Stasiłojć G, Blom AM, Zaucha JM Okro' j M. Monitoring of the complement system status in patients with B-cell malignancies treated with rituximab. // *Front. Immunol.* 2020 11:584509.13P. doi: 10.3389/fimmu.2020.584509.
12. Liu Y, Zhang H, Zhang TX, Yuan M, Du C, Zeng P, Huang Z, Jia D, Yang G, Shi FD, Zhang C. Effects of Tocilizumab Therapy on Circulating B Cells and T Helper Cells in Patients With NeuromyelitisOptica Spectrum Disorder. // *Front Immunol.* 2021 Jul 29;12:703931.
13. MeednuN., BarnardJ., CallahanK., CocaA., Marston B., ThieleR. et al. Activated peripheral blood B cells in rheumatoid arthritis and their relationship to anti-tumor necrosis factor treatment and response: A randomized clinical trial of the effects of anti-tumor necrosis factor on B cells//*Arthritis Rheumatol*2022 Feb;74(2):200-211.doi: 10.1002/art.41941.. DOI: 10.1002/art.41941
14. De Miguel S., Jover J.A., Vellido C., Judez E., Loza E., Fernandez-Gutierrez B. B cell activation in rheumatoid arthritis patients under infliximab treatment // *Clinical and Experimental Rheumatology.* 2003; 21: 726-732.
15. Nagy A, Mosdosi B, Simon D, Dergez T and Berki T (2020) Peripheral Blood Lymphocyte Analysis in Oligo- and Polyarticular Juvenile Idiopathic Arthritis Patients Receiving Methotrexate or Adalimumab Therapy: A Cross-Sectional Study. //*Front. Pediatr.* 8:614354
16. Ramwadhoebe T. H., van Baarsen L. G. M., Boumans M. J. H., Bruijnen S. T. G., et al. Effect of rituximab treatment on T and B cell subsets in lymph node biopsies of patients with rheumatoid arthritis // *Rheumatology.* 2019;58:1075-1085.
17. Rougé L, Chiang N, Steffek M, Kugel C, Croll T.I, et al. Structure of CD20 in complex with the therapeutic monoclonal antibody rituximab. //*Science.* 2020 Mar 13;367(6483):1224-1230. doi: 10.1126/science.aaz9356.
18. Shen C., Maerten Ph., Geboes K., . Van Assche G, Rutgeerts P, Ceuppens J. L. Infliximab induces apoptosis of monocytes and T lymphocytes in a human-mouse chimeric model //*Clinical Immunology.* Volume 115, Issue 3, June 2005, P. 250-259
19. Sieper J., Van Den Brande J Diverse effects of infliximab and etanercept on T lymphocytes //*Seminars in Arthritis and Rheumatism* April 2005Volume 34, Issue 5, Supplement 1, P. 23-27
20. Vigna-Pérez M, Abud-Mendoza C, Portillo-Salazar H, Alvarado-Sánchez B, Cuevas-Orta E, Moreno-Valdés R, Baranda L, Paredes-Saharopulos O, González-Amaro R. Immune effects of therapy with Adalimumab in patients with rheumatoid arthritis. // *ClinExpImmunol.* 2005 Aug;141(2):372-80.
21. Weiner GJ. Rituximab: mechanism of action. // *SeminHematol.* 2010 Apr;47(2):115-123. doi: 10.1053/j.seminhematol.2010.01.011.