

Артемов А.В.¹, Салдан Й.Р.², Бурячковский Э.С.³, Салдан В.Й.¹

¹ Институт глазных болезней и тканевой терапии имени В.П. Филатова Национальной академии медицинских наук Украины, Одесса, Украина

² Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Винница, Украина

³ Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Artemov A.¹, Saldan Y.², Buryachkovsky E.³, Saldan V.¹

¹ Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Science of Ukraine, Odessa, Ukraine

² National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

³ Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Антицитокиновая терапия глазных заболеваний с использованием хелатных наноконплексов

Anti-cytokine therapy of ophthalmic diseases with the use of chelate nanocomplexes

Резюме

В офтальмологической практике антицитокиновая терапия затруднена из-за высокой стоимости, а также ограниченной эффективности препаратов, созданных по принципу моноклональных антител и нацеленных лишь на один белковый рецептор. Альтернативой может быть многоцелевая антицитокиновая терапия с использованием инновационных хелатных наноконплексов. Многоцелевая терапия у пациентов с глазными заболеваниями воспалительного характера показала эффективность хелатных наноконплексов, что сопровождается снижением активности провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α и предотвращением каскадных разрушающих биологических эффектов. Использование антицитокиновых препаратов на основе наноконплексов дает новые терапевтические возможности в комплексной терапии таких распространенных глазных патологий, как увеит, офтальмологический герпес, катаракта, глаукома, диабетическая ретинопатия.

Ключевые слова: антицитокиновая терапия, глазная патология.

Abstract

In ophthalmic practice anti-cytokine therapy is hampered by the high cost, as well as the limited effectiveness of drugs created by the principle of monoclonal antibodies and aimed only at one protein receptor. Multi-target anti-cytokine therapy, using an innovative chelate nanocomplexes, may be alternative. The use of multi-target therapy in ophthalmic patients has shown its effectiveness in reducing the activity of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α , which prevents from cascading destructive biological effects. This provides new therapeutic options in the complex therapy of such a common ocular pathology as uveitis, ophthalmic herpes, cataract, glaucoma, diabetic retinopathy.

Keywords: anti-cytokine therapy, eye pathology.

■ ВВЕДЕНИЕ

Важнейшими участниками воспалительных заболеваний и связанных с ними восстановительно-регенеративных процессов являются цитокины – протеиновые молекулы с небольшой молекулярной массой (до 30 килодальтон), выполняющие регуляторную функцию. Участие цитокинов доказано в патогенезе целого ряда заболеваний глаза [3]. С конца второй половины прошлого века цитокины как маркеры и предикторы патологических изменений широко используются в научно-исследовательских и диагностических целях. Дальнейшее выяснение патогенетической роли цитокинов способствовало распространению антицитокиновой терапии не только при воспалительных, но и при онкологических заболеваниях [5–7].

В офтальмологии особое внимание уделяется изучению провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α , рассматриваемых в качестве главных медиаторов развития, прогрессирования и терапевтического исхода не только воспалительных заболеваний (увеитов, офтальмогерпеса), но и такой патологии возрастного характера, как катаракта и глаукома, где цитокины выступают в качестве опосредованных патогенетических факторов [2–4]. В отмеченных работах подчеркивается связь продукции провоспалительных цитокинов с тканями глаза. Об этом свидетельствует высокое содержание цитокинов в передней камере глаза и в слезной жидкости, которое превосходит системные уровни продукции.

Хотя клинико-диагностические исследования указывают на необходимость антицитокиновой терапии, однако в офтальмологической практике ее сдерживают высокая стоимость брендовых препаратов, риск развития побочных эффектов и ограниченная эффективность, обусловленная ориентацией препаратов только на один белок-мишень. Альтернативой указанным препаратам может стать отечественный инновационный препарат MSC-428 (PC МОЗ Украины №UA6098/01/01), позиционируемый как антагонист трех белков-мишеней IL-1 β , IL-6, TNF- α . Действующее вещество препарата является низкомолекулярным координационным соединением хелатного типа, в котором центральный атом ртути связан с двумя молекулами L-цистеина. Общий размер молекулы составляет 1,2 нм, что позволяет встраиваться в активный сайт связывания рецептора клетки, а наличие атома металла предопределяет конформационные изменения в пространственной структуре белка-рецептора с потерей комплементарности – соответствие между лигандами (цитокинами) и их рецепторами из суперсемейства иммуноглобулинов. Несмотря на различия в аминокислотной последовательности рецепторов к IL-1 β , IL-6, TNF- α , их объединяет наличие трехмерной структуры, уникальность которой определяется дисульфидными (–S–S–) связями молекул цистеина. Молекулы препарата разрывают –S–S– связи в рецепторе, а ион металла обуславливает конформационную перестройку трехмерной структуры рецептора, нарушая тем самым комплементарность, т.е. пространственное соответствие рецептора своему лиганду – провоспалительному цитокину. В результате рецептор не может присоединить цитокин, и деструктивные сигналы, инициируемые провоспалительными цитокинами, в клетку не поступают. Таким образом, препарат осуществляет мультитаргетную терапию, направленную против

белков-мишеней IL-1 β , IL-6 и TNF- α , что предопределяет более высокую эффективность по сравнению с традиционной антицитокиновой терапией, где ингибируется только один белок-мишень.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить в динамике лечения эффективность инновационного препарата на основе хелатных комплексов ртути с аминокислотами как средства мультитаргетной антицитокиновой терапии путем изучения функциональных и фенотипических изменений в субпопуляциях лимфоцитов крови у больных с различной патологией глаза.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ динамики иммунологических изменений с помощью специфических моноклональных антител к соответствующим CD факторам по ранее описанной стандартной методике [1]. Были изучены фенотипы лимфоцитов крови по экспрессии активационных маркеров CD25, CD38, CD45, CD54, CD95. Исследование терапевтического ответа на препарат проведено у 162 пациентов с различной глазной патологией, в том числе у 71 мужчины (средний возраст 57 \pm 7,3 лет) и 91 женщины (средний возраст 59 \pm 6,1 лет). Среди них больных с хорио-ретиальным воспалением было 23, офтальмогерпесом (герпетической болезнью глаза) – 38, старческой катарактой – 29, первичной открытоугольной глаукомой – 31, диабетической ретинопатией – 41. В контрольную группу вошло 30 человек (средний возраст 58 \pm 6,6 лет), у которых в анамнезе отсутствовали травмы, хронические воспалительные и аллергические заболевания глаз.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование терапевтического ответа на препарат было проведено у 162 пациентов с глазной патологией, у которых на начало приема был повышен уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α , подтверждением чему явилась гиперэкспрессия таких маркеров Т-лимфоцитов, как CD25, CD38, CD45, CD54, CD95. В патогенезе хронических воспалительных и дегенеративных заболеваний принимает участие широкий спектр цитокинов, которые поддерживают возникший порочный круг и становятся ключевым звеном в повреждении тканей, в том числе и глаза. Динамика изученных цитокинов в ходе лечения представлена ниже.

Ключевую роль в регулировании адаптивной иммунной системы через контроль выживания и пролиферации регуляторных Т-клеток, необходимых для поддержания иммунной толерантности, играет CD25, являющийся альфа-субъединицей рецептора интерлейкина-2 (IL-2R α). На экспрессию CD25 в значительной мере влияет высокий уровень провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF. Поэтому по динамике снижения экспрессии CD25 можно судить о способности препарата ингибировать повышенный уровень провоспалительных цитокинов. Применение препарата дало положительный эффект. Так, CD25 в исследовательской группе у 89% пациентов был значительно выше нормы (на 65,7%). В результате приема препарата у 74% пациентов он снизился до нормы.

CD38 положительно коррелирует с высоким содержанием провоспалительных цитокинов и при хроническом воспалении препятствует апоптозу активированных лимфоцитов, поддерживая воспалительный процесс. С клинической точки зрения CD38 можно рассматривать как показатель успешности противовоспалительной терапии. Терапевтический эффект препарата в отношении нормализации CD38 можно объяснить способностью препарата конкурировать за фосфатные группы кодируемой геном SYK нерецепторной тирозинкиназы. Активность последней связана с регуляцией экспрессии CD38, которая полностью блокируется при ингибировании SYK; медиатором транскрипции CD38 является NF- κ B. Таким образом, препарат способен снижать гиперэкспрессию CD38 двумя путями: прямо – через ингибирование SYK тирозинкиназы и опосредованно – через снижение выработки провоспалительных цитокинов, которые, в свою очередь, ответственны за гиперактивацию NF- κ B [5]. Маркер патологической активации клеток CD38 в исследовательской группе был повышен у 91% пациентов, причем уровень экспрессии зависел от тяжести заболевания. После приема препарата данный фактор восстановился до нормы у 78%.

К семейству тирозиновых протеинфосфатаз, которые являются компонентами сигнальных путей клетки, регулирующих рост, дифференцировку и злокачественное перерождение, принадлежит CD45. Тирозиновые протеинфосфатазы являются важнейшим регулятором передачи сигнала от T- и B-клеточных рецепторов антигена. Потеря экспрессии CD45 на поверхности T-лимфоцитов ведет к иммунодефициту, а гиперэкспрессия активирует JAK-киназы, что усиливает воспалительный процесс и вызывает повреждение тканей. До лечения у 38% пациентов CD45 был снижен, у 57%, наоборот, был повышен, что можно объяснить индивидуальными мутациями в IL-7R, JAK1 или LCK [6]. После приема препарата отмечался смарт-эффект на терапию, характеризовавшийся тем, что у 79% пациентов с низким уровнем CD45 имело место повышение до нормы, а у 81% пациентов с первично высокой экспрессией CD45, наоборот, произошло снижение до нормы.

При стимуляции цитокинами IL-1 и TNF- α на цитоплазматической мембране резко увеличивается экспрессия CD54 – ICAM-1. Эта молекула является лигандом интегринового рецептора LFA-1, расположенного на эндотелии. При помощи комплекса ICAM-1/LFA-1 лейкоциты проникают в ткань. Гиперэкспрессия адгезивных молекул ICAM-1 на эндотелии и лейкоцитах сопровождается миграцией иммунных клеток с последующим возникновением некротических или дистрофических изменений. Неконтролируемая гиперпродукция может стать ключевым моментом последующего повреждения тканей глаза с развитием более тяжелых форм заболеваний. Уровень CD54 (ICAM-1) до приема препарата был повышен у 97% пациентов. При приеме препарата у 84% пациентов произошло снижение CD54 до нормы, что коррелирует с уменьшением воспаления, снижением уровня провоспалительных цитокинов и уменьшением миграции лимфоцитов в очаг воспаления.

Важную роль в таких физиологических функциях апоптоза, как удаление активированных T-клеток в конце иммунного ответа, элиминация зараженных вирусом или инициирующих воспаление клеток, играет CD95. Однако повышенная экспрессия CD95 вызывает

Таблица

Изменение фенотипических маркеров лимфоцитов у офтальмологических больных в динамике лечения препаратом MSC-428

Фенотипический маркер	Пациенты с отклонением от нормы (%)		Эффективность терапии (%)
	До лечения	После лечения	После приема
CD25	89	15	74
CD38	91	13	78
CD45	92	19	73
CD54	97	15	82
CD95	91	9	82

противоположный эффект – выживание активных Т-лимфоцитов (развитие аутоиммунных патологий или усиление воспалительного ответа организма), дальнейший рост опухолевых клеток [5-6]. Высокий уровень CD95, как правило, указывает на тяжесть патологического процесса и отражает как изменение провоспалительных цитокинов, так и активацию Т-клеток, предопределяющую негативный исход заболевания. Fas/APO-1 (поверхностный рецептор CD95), содержащий внеклеточный домен, богатый цистеином, представляет химически уязвимую мишень для препарата. Таргетный эффект препарата обеспечивается за счет тропности наноконплекса к цистеину, в результате чего рецептор утрачивает комплементарность к своему лиганду (TNF) с последующим ингибированием активности киназы JNK. Это приводит к снижению экспрессии CD95 и физиологическому апоптозу Т-клеток в очаге воспаления. Прием препарата сопровождался снижением CD95 до физиологической нормы у 82% пациентов с одновременной тенденцией к уменьшению воспаления. Динамика изменений фенотипических маркеров представлена в таблице.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение антицитокиновых препаратов в офтальмологии сдерживается не только высокой стоимостью брендовых препаратов, но и риском развития побочных эффектов и ограниченной эффективностью. Инновационный препарат таргетной терапии на основе хелатных конплексов ртути с аминокислотами, являющийся антагонистом трех белков-мишеней, представляющих рецепторы к IL-1β, IL-6, TNF-α, не вызвал побочных эффектов или непереносимости за все время наблюдений. Прицельно воздействуя на три белка-мишени, препарат препятствует деструктивному каскаду биологических эффектов, опосредованных ими, что открывает дополнительные возможности в терапии ряда глазных заболеваний, где присутствуют факторы воспаления.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Artemov A., Buryachkovskii E. (2016) *Osobennosti svyazivaniya rtut'soderzhaschih konплексов s signal'nim retseptorom limfotsitov u patsientov s razlichnimi tipami zlokachestvennih opuholei* [Features of binding of mercury-containing complexes with the signal receptor of lymphocytes

in patients with various types of malignant tumors]. *Zbirn. tez naukovih robit uchasnikov mizhnarodnoi naukovo-praktichnoi konferentsii «Medichna nauka ta praktika XXI stolittya» [Collection of theses of scientific works of participants of the international scientific-practical conference «Medical science and practice of the XXI century»].* Kiiiv, pp. 8–11.

2. Erichev V., Petrov S., Subbot A. (2017) Rol' tsitokinov v patogeneze glaznih boleznei [The role of cytokines in the pathogenesis of ophthalmic diseases]. *Natsional'nyi zhurnal glaucoma*, vol. 16, no 1, pp. 85–99.
3. Shaimova V. (2005) Rol' provospalitel'nih tsitokinov pri zabolevaniyah glaz [The role of proinflammatory cytokines in ophthalmic diseases]. *Tsitokini i vospalenie*, vol. 4, no 2, pp. 13–15.
4. Cherednichenko L., Baricheva L., Bernovskaya A. (2013) Znachenie provospalitel'nih tsitokinov v razvitii pervichnoi otkritougol'noi glaukomi [The value of proinflammatory cytokines in the development of primary open angle glaucoma]. *Meditinskii vestnik severnogo Kavkaza*, vol. 8, no 2, pp. 52–54.
5. Saborit-Villarroya I., Vaisitti T., Rossi D., D'Arena G., Gaidano G., Malavasi F., et al. (2011) E2A is a transcriptional regulator of CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, vol. 25, pp. 479–488. doi: 10.1038/leu.2010.291.
6. Porcu M., Kleppe M., Gianfelici V., Geerdens E., De Keersmaecker K. (2012) Mutation of the receptor tyrosine phosphatase PTPRC (CD45) in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, vol. 119 (19), pp. 476–9.

Поступила/Received: 14.06.2018
Контакты/Contacts: art_onlol@ukr.net

ФАВУЛЕНЗ

БРИНЗОЛАМИД/ТИМОЛОЛ
(10мг/5мг)/1мл во флаконах 5 мл



ДВОЙНАЯ СИЛА КАПЛИ!

Показания к применению:

снижение повышенного внутриглазного давления при внутриглазной гипертензии, открытоугольной глаукоме у взрослых пациентов, у которых монотерапия обеспечивает недостаточное снижение внутриглазного давления

- Стойкий гипотензивный эффект¹
- Превосходит бринзоламид 1% и тимолол 0,5% в монотерапии¹
- Благоприятный профиль переносимости¹
- Улучшает показатели скорости кровотока и пульсационный индекс центральной артерии сетчатки²
- Нормализует офтальмотонус¹
- Увеличивает центральную светочувствительность сетчатки¹
- Уменьшает прогрессирование нарушений полей зрения в течение 5 лет³



1. Сборник научных статей IX Международной конференции. Опыт двухлетнего применения фиксированной комбинации 1% бринзоламида и 0,5% тимолола при псевдоэкзофиативной глаукоме. Рожко Ю.И., Марченко Л.Н. ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель; УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск.

2. Инструкция по медицинскому применению лекарственного средства.

3. A.Martinez and M.Sanchez-Salorio. Predictors for visual field progression and the effects of treatment with dorzolamide 2% or brinzolamide 1% each added to timolol 0,5% in primary open-angle glaucoma. Glaucoma Department, Galician Institute of Ophthalmology, Santiago de Compostela, La Coruna, Spain, 2 Acta.

На правах рекламы. Лекарственное средство. Имеются противопоказания и побочные действия. Не следует использовать во время беременности, кроме тех случаев, когда это явно необходимо.



Производитель: Иностранное производственно-торговое унитарное предприятие «Реб-Фарма», Минская область, Червенский р-н, г.п. Смилевичи, ул. Садовая, 1, тел./факс: 8 (017) 240-26-35.

www.rebpharma.by