

В.Д. Москалюк, Б.В. Сирота

ЗАСТОСУВАННЯ ГЕННОІНЖЕНЕРНИХ ЗАСОБІВ У ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА COVID-19

Буковинський державний медичний університет

Однією з найбільш актуальних тем на сьогодні є коронавірусна інфекція, спричинена SARS-CoV-2, яка набула не тільки медичного, а й, безумовно, соціального значення. Всесвітньою організацією охорони здоров'я 11 березня 2020 р. оголошено пандемію COVID-19. Сучасні терапевтичні варіанти лікування COVID-19 поєднують застосування препаратів, що впливають як на сам вірус, так і на компоненти імунної відповіді організму. Незважаючи на те, що патогенетичні механізми інфекційного захворювання були частково досліджені, методи лікування все ще не виправдовують очікувань, що значною мірою зумовлено розвитком небажаних медикаментозних реакцій та суперечливими результатами лікування. Наразі, кількість експериментальних генно-інженерних молекул, запропонованих до лікування SARS-CoV-2, невпинно зростає, що зумовлює необхідність аналізу сучасних наукових джерел щодо перспектив, переваг та недоліків застосування віруснейтралізуючих моноклональних антитіл, натуральних кілерів, мезенхімальних стовбурових клітин і моноклональних антитіл до інтерлейкіну-6.

Ключові слова: COVID-19, моноклональні антитіла, мезенхімальні стовбурові клітини.

Інфікування високопатогенним SARS-CoV-2 інколи призводить до розвитку тяжкого захворювання (COVID-19), іноді зі смертельним вислідом [1]. Імунопатогенез COVID-19 пов'язаний з розвитком незбалансованої імунної відповіді, що супроводжується недостатнім синтезом інтерферону на початку захворювання, з подальшою гіперпродукцією прозапальних цитокінів, що призводить до розвитку неадекватної запальної реакції, яка лежить в основі гострого ураження легень. Наразі застосування набули моноклональні антитіла до вірусних поверхневих білків. Було доведено їх терапевтичну ефективність щодо низки вірусів і можливість використання в імунотерапії хворих на COVID-19 [2].

Дані про наявність нейтралізуючих антитіл у плазмі крові хворих дали поштовх до отримання гуманізованих або повністю людських моноклональних анти-

тіл, потенційно здатних стати основою для розробки препаратів таргетної терапії COVID-19. При використанні біологічної терапії створюється максимальна вибірковість впливу на імунну систему, що дає змогу усунути одну з ланок патогенетичного ланцюга, суттєво не впливаючи на клітини інших органів і систем.

Тактика лікування віруснейтралізуючими моноклональними антитілами в основному спирається на дані декількох невеликих завершених досліджень або нечисленних проміжних аналізів. Нейтралізуючі антитіла перешкоджають поширенню вірусу в організмі, блокуючи білки, необхідні для його проникнення в людські клітини, та стимулюють імунну відповідь щодо збудника. Загалом принцип їхньої роботи такий же, як і у реконвалесцентної плазми, що також містить антитіла до вірусу. Подібні методи належать до так званої «пасивної імунізації». Період напіввиведення антитіл становить близько трьох тижнів, тому, на відміну від вакцини, вони не здатні забезпечити довготривалий захист, а можуть лише перервати поточний активний інфекційний процес [2].

Створенням антитіл, що нейтралізують SARS-CoV-2, нині займаються багато світових фармкомпаній – наприклад, британсько-шведська Astra Zeneca, корейська Celltrion, американська Regeneron і японська Takeda. В основному вони можуть бути націлені на S-білок збудника, що запобігає входу вірусу в людські клітини, зокрема, на RBD-домен (receptor-binding domain) S-білка [3]. Моноклональне антитіло 47D11, отримане вченими з Нідерландів і Німеччини, впливає на S-білок, за допомогою якого збудник нового SARS-CoV-2 проникає у клітини людини – антитіло не дозволяє йому це здійснити. У дослідженні вказано, що таке антитіло здатне нейтралізувати не тільки SARS-CoV-2 (збудник COVID-19), але й родинний SARS-CoV, що викликає гострий респіраторний дистрес-синдром. Для синтезу 47D11 використовували генетично модифікованих мишей. Показано, що антитіло виявляє віруснейтралізуючу активність, після чого антитіло гуманізували, щоб створити його версію для людини [4].

Крім 47D11, в експерименті тестуються моноклональні антитіла S309 [5]; VHH-72 [6]; ADI55689/ADI56046 [7]. Всі вони, за винятком VHH-72, є повністю людськими молекулами IgG.

Дослідження, проведені на лабораторних тваринах, показали високу нейтралізуючу здатність і терапевтичний потенціал моноклонального антитіла BD-368-2 в лікуванні хворих на COVID-19.

BD-368-2 нейтралізує SARS-CoV-2, повністю блокуючи розпізнавання ACE2, оскільки займає всі три рецептори зв'язувального домена (RBDs) одночасно, незалежно від їх «висхідної» або «низхідної» конформації. BD-368-2 показав ефективність у лікуванні інфікованих тварин при використанні низьких доз з різними шляхами введення, на відміну від контрольної групи плацебо, у яких розвинулась тяжка інтерстиційна пневмонія [8].

Важливим є те, що застосування поодиноких моноклональних антитіл може активувати селективний тиск, що потенційно збільшує можливість мутаційного виходу цільового антигена. Цей ризик може бути знижений за рахунок комбінації декількох моноклональних антитіл, націлених на епітопи, що не перекриваються. На тваринній моделі показаний захисний ефект «коктейлю» з двох повністю гуманізованих моноклональних антитіл, що зв'язуються з різними ділянками спайкового протеїну SARS-CoV-2.

REGN-COV-2 є комбінацією двох моноклональних антитіл (REGN10933 і REGN10987) і був розроблений спеціально для терапії хворих на COVID-19 [9].

Baum A. та співавт. (2020) оцінили *in vivo* ефективність коктейлю антитіл REGN-COV2 як у макак, в яких моделювали легкий перебіг захворювання, так і у золотистих хом'яків, в яких моделювали тяжче захворювання. Макаки та золотисті хом'яки, що отримували REGN-COV2, мали значно нижчі рівні субгеномної вірусної мРНК як у профілактичних, так і в терапевтичних дозах. У макак зниження рівня мРНК спостерігалось в мазках з порожнини рота і носоглотки, а також при бронхоальвеолярному лаважі [10].

Дослідники компанії Regeneron Pharmaceuticals проводили випробування експериментальної сироватки з антитілами REGN-COV-2, та заявили про те, що цей препарат зменшує концентрацію SARS-CoV-2 у крові і має позитивний вплив на симптоматику негоспіталізованих пацієнтів.

У базі препринтів bioRxiv з'явилися результати перевірки ефективності комбінацій нейтралізуючих моноклональних антитіл REGN-COV-2 проти SARS-CoV-2 на лабораторних тваринах. REGN-COV-2 включає антитіла REGN10987 і REGN10933, розроблені компанією Regeneron Pharmaceuticals. Результати досліджень

свідчать, що REGN-COV-2 володіє чіткими профілактичними та терапевтичними властивостями: у тварин, які отримували антитіла, вірусне навантаження було нижче, а прояви інфекції – слабшими, порівняно з плацебо-групами. Раніше було показано, що амінокислотна заміна D614G в S-білку SARS-CoV-2 не впливає на нейтралізуючу здатність антитіл REGN10987 і REGN10933.

Нині тривають клінічні дослідження комбінації REGN10987+REGN10933 (NCT04426695, NCT04425629 і NCT04452318) [11].

Компанія Omeros досліджує експериментальний препарат narsoplimab для лікування пацієнтів із гострим респіраторним дистрес-синдромом на фоні коронавірусної хвороби. Нарсоплімаб – високоафінне повністю людське моноклональне IgG4-антитіло, що зв'язує лектин-асоційовану серинову протеазу-2 (MASP-2) та блокує лектиновий шлях активації системи комплементу. Лектиновий шлях є одним з основних шляхів комплементу та активується насамперед ушкодженням тканин і мікробною інфекцією. Пригнічення MASP-2 не впливає на класичний шлях активації комплементу як критично важливий компонент адаптивної імунної відповіді на інфекційні агенти. Оскільки MASP-2 також безпосередньо діє на коагуляційний каскад і контактну систему, розщеплюючи протромбін на тромбін і утворюючи фібринові згустки, його пригнічення за допомогою нарсоплімабу запобігає формуванню тромбів, пов'язаних з мікросудинним пошкодженням, і MASP-2-опосередкованою активацією [12].

Моноклональний антитіла тривалий час з успіхом застосовують у терапії аутоімунних захворювань, в онкології та онкогематології. Наразі на стадії клінічних досліджень знаходиться застосування моноклональних антитіл до інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) при лікуванні COVID-19. ІЛ-6 – ключовий медіатор системної запальної відповіді у стані гіперцитокінемії, що виявляють у пацієнтів з тяжким гострим респіраторним дистрес-синдромом при COVID-19. Вплив на нього дозволяє запобігти розвитку прозапального каскаду, в тому числі уникнути активації антигенпрезентувальних клітин, Т- і В-лімфоцитів, моноцитів і макрофагів, ендотеліальних клітин та фібробластів, що, у свою чергу, запобігає надмірному синтезу компонентів сполучної тканини [13].

Виокремлено декілька механізмів дії препаратів цієї групи:

- пригнічення цитокінів: сирукумаб, олокізумаб;
- блокування рецепторів ІЛ-6: тоцілізумаб, сарилумаб, левілімаб;
- пригнічення сигнальних шляхів (янус-кіназ): тофацитиніб, барицитиніб, упадацитиніб [14].

Інформація про окремі препарати, які перебувають на етапі клінічних досліджень

Тоцилізумаб. Виробником тоцилізумабу є американська біотехнологічна компанія *Genentech Roche Group*. Наразі Управління із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів, Агентство Міністерства охорони здоров'я США схвалили подвійне сліпе рандомізоване клінічне дослідження III фази препарату тоцилізумаб для застосування у стандартних схемах лікування дорослих з тяжкою пневмонією, спричиненою SARS-CoV-2.

Сарилумаб. Людське моноклональне антитіло (IgG) до рецептора ІЛ-6. Специфічно блокує як розчинні, так і мембранні рецептори та пригнічує ІЛ-6-опосередковану передачу сигналу із залученням убіквітарного сигнального глікопротеїда 130 та STAT-3 білків. У функціональних дослідженнях на людських клітинах було доведено, що препарат діє лише в присутності ІЛ-6 [15, 16].

Наразі розглядається можливість перекваліфікації існуючих препаратів для клітинної терапії. Зокрема на стадії клінічних випробувань перебувають препарати натуральних кілерів (NK), які у нормі зумовлюють лізис уражених вірусом клітин, що може бути застосовано у терапії хворих на COVID-19.

До таких препаратів належить *Taniraleucel* (CYNK-001). Виробництво CYNK-001 із стовбурових клітин плаценти здійснюють компанії *Sorrento Therapeutics* та *Celularity*, спектр застосування препарату включає онкогематологічну патологію, зокрема гострий мієлолейкоз і множинну мієлому. Наразі досліджується можливість застосування CYNK-001 для лікування хворих на COVID-19 [17]. У «Реєстрі препаратів – кандидатів для лікування і профілактики COVID-19» зареєстровано клінічні дослідження щодо застосування генно-інженерних NK-клітин, отриманих з крові імунізованих осіб.

Інший варіант клітинної терапії – застосування мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), що мають протизапальну та імуномодулювальну дію. У «Реєстрі препаратів – кандидатів для лікування і профілактики COVID-19» зареєстровано 16 клінічних досліджень щодо застосування МСК. Пропонується їх використання при гострому та хронічному ураженні легень і при гострому респіраторному дистрес-синдромі. Враховуючи патогенез і високу летальність при ураженні легень SARS-CoV-2, таку терапію можна вважати виправданою [18, 19]. Введення МСКAGEII мало позитивний ефект щодо лікування хворих з пневмонією, спричиненою SARS-CoV-2, особливо у випадку пацієнтів, чий стан був кри-

тичним. При цьому було встановлено зниження рівня прозапальних і підвищення – протизапальних цитокінів [20].

Сучасні терапевтичні варіанти лікування хворих на COVID-19 поєднують у собі різноманітний арсенал препаратів, спрямованих як на вірус, так і на імунну відповідь. Незважаючи на те, що патогенетичні механізми нової інфекції були частково розшифровані, нинішні методи лікування ще не виправдовують очікувань, що пов'язано з наявними побічними ефектами та загалом суперечливими результатами досліджень.

Число експериментальних молекул, запропонованих проти SARS-CoV-2, постійно зростає у спробі запропонувати короткострокові рішення, особливо для пацієнтів із тяжким перебігом недуги. У результаті численних клінічних досліджень було доведено, що ці варіанти є ефективними у лікуванні хворих на COVID-19, хоча вони можуть потребувати подальшого аналізу та адаптації щодо складного механізму розвитку цієї хвороби [21, 22]. Молекули, ефективні на одній стадії хвороби, можуть бути руйнівними на іншій. Отже, найкращим варіантом лікування, вірогідно, є молекула, що має здатність перешкоджати проникненню вірусу та розвитку непередбачуваної імунної відповіді. Саме тому основним напрямком роботи у довгостроковій перспективі стало створення вакцин [23, 24]. Хоча в короткостроковій перспективі розробка моноклональних антитіл є найкращим варіантом лікування, все ж вона потребує подальших поглиблених досліджень клітинної інвазії та імунної дисрегуляції [25].

Висновки

1. Стратегії, що передбачають використання вірус-нейтралізуючих моноклональних антитіл, натуральних кілерів, мезенхімальних стовбурових клітин і моноклональних антитіл до інтерлейкіну-6 є перспективними у лікуванні хворих на COVID-19.

2. Моноклональні антитіла розроблялися на основі антитіл із плазми крові реконвалесцентів, що блокують проникнення SARS-CoV-2 у клітини-мішені та призупиняють прогресування захворювання.

3. Моноклональні антитіла застосовують у хворих на COVID-19 з легким або середнім ступенем недуги у максимально ранні терміни при високому ризику прогресування до тяжкого захворювання (цукровий діабет, хронічні захворювання нирок, серцево-судинної системи, вагітність тощо).

Література

- Kokudo, N., & Sugiyama, H. (2020). Call for international cooperation and collaboration to effectively tackle the COVID-19 pandemic. *Global Health & Medicine*, 2(2), 60-62.
- Saba, S., Maryam, K., Zelal, J. K. (2020). Potential strategies for combating COVID-19. *Arch Virol.*, 165(11): 2419–2438. doi: 10.1007/s00705-020-04768-3.
- Valdez-Cruz, N. A., García-Hernández, E., Espitia, C., Cobos-Marín, L., Altamirano, C., Bando-Campos, C. G., ... & Trujillo-Roldán, M. A. (2021). Integrative overview of antibodies against SARS-CoV-2 and their possible applications in COVID-19 prophylaxis and treatment. *Microbial cell factories*, 20(1), 1-32. doi: 10.1186/s12934-021-01576-5.
- Wang, C., Li, W., Drabek, D., Okba, N., van Haperen, R., Osterhaus, A. D., ... & Bosch, B. J. (2020). A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nature communications*, 11(1), 1-6. doi: 10.1038/s41467-020-16256-y.
- Pinto, D., Park, Y. J., Beltramello, M., Walls, A. C., Tortorici, M. A., Bianchi, S., ... & Corti, D. (2020). Structural and functional analysis of a potent sarbecovirus neutralizing antibody. *BioRxiv*. doi: 10.1101/2020.04.07.023903.
- Wrapp, D., De Vlieger, D., Corbett, K. S., Torres, G. M., Wang, N., Van Breedam, W., ... & McLellan, J. S. (2020). Structural basis for potent neutralization of betacoronaviruses by single-domain camelid antibodies. *Cell*, 181(5), 1004-1015.
- Wec, A. Z., Wrapp, D., Herbert, A. S., Maurer, D. P., Haslwanter, D., Sakharkar, M., ... & Walker, L. M. (2020). Broad neutralization of SARS-related viruses by human monoclonal antibodies. *Science*, 369(6504), 731-736.
- Du, S., Cao, Y., Zhu, Q., Yu, P., Qi, F., Wang, G., ... & Qin, C. (2020). Structurally resolved SARS-CoV-2 antibody shows high efficacy in severely infected hamsters and provides a potent cocktail pairing strategy. *Cell*, 183(4), 1013-1023. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.035
- Baum, A., Ajithdoss, D., Copin, R., Zhou, A., Lanza, K., Negron, N., ... & Kyrtatsous, C. A. (2020). REGN-COV2 antibodies prevent and treat SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques and hamsters. *Science*, 370(6520), 1110-1115.
- Weinreich, D. M., Sivapalasingam, S., Norton, T., Ali, S., Gao, H., & Bhore, R. (2021). REGN-COV2, un cóctel de anticuerpos neutralizantes, en pacientes ambulatorios con Covid-19. *N Engl J Med*, 384(3), 238-251.
- Baum, A., Ajithdoss, D., Copin, R., Zhou, A., Lanza, K., Negron, N., ... & Kyrtatsous, C. A. (2020). REGN-COV2 antibodies prevent and treat SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques and hamsters. *Science*, 370(6520), 1110-1115.
- Du, S., Cao, Y., Zhu, Q., Yu, P., Qi, F., Wang, G., ... & Qin, C. (2020). Structurally resolved SARS-CoV-2 antibody shows high efficacy in severely infected hamsters and provides a potent cocktail pairing strategy. *Cell*, 183(4), 1013-1023. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.035
- Coomes, E. A., & Haghbayan, H. (2020). Interleukin-6 in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Reviews in medical virology*, 30(6), 1-9. doi: 10.1002/rmv.2141.
- Weinreich, D. M., Sivapalasingam, S., Norton, T., Ali, S., Gao, H., Bhore, R., ... & Yancopoulos, G. D. (2021). REGN-COV2, a neutralizing antibody cocktail, in outpatients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 384(3), 238-251. doi: 10.1056/NEJ-Moa2035002.
- Flude, B. M., Nannetti, G., Mitchell, P., Compton, N., Richards, C., Heurich, M., ... & Bassetto, M. (2021). Targeting the complement serine protease MASP-2 as a therapeutic strategy for coronavirus infections. *Viruses*, 13(2), 312.
- Zhu, J., Pang, J., Ji, P., Zhong, Z., Li, H., Li, B., & Zhang, J. (2020). Elevated interleukin-6 is associated with severity of COVID-19: a meta-analysis. *Journal of medical virology*. doi: 10.1002/jmv.26085
- Lescure, F. X., Honda, H., Fowler, R. A., Lazar, J. S., Shi, G., Wung, P., ... & Boell, B. (2021). Sarilumab in patients admitted to hospital with severe or critical COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*, 9(5), 522-532.
- Li, H., Liu, S. M., Yu, X. H., Tang, S. L., & Tang, C. K. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *International journal of antimicrobial agents*, 55(5), 105951. doi: 10.1016/j.ijantimicag.
- Golchin, A., Seyedjafari, E., & Ardeshiryajimi, A. (2020). Mesenchymal stem cell therapy for COVID-19: present or future. *Stem cell reviews and reports*, 16(3), 427-433.
- Bari, E., Ferrarotti, I., Saracino, L., Perteghella, S., Torre, M. L., & Corsico, A. G. (2020). Mesenchymal stromal cell secretome for severe COVID-19 infections: premises for the therapeutic use. *Cells*, 9(4), 924.
- Zhao, R. C. (2020). Stem cell-based therapy for coronavirus disease 2019. *Stem Cells and Development*, 29(11), 679-681. doi: 10.1089/scd.2020.0071.
- Gediz Erturk, A., Sahin, A., Bati Ay, E., Pelit, E., Bagdattli, E., Kulu, I., ... & Yildirim, T. (2021). A multidisciplinary approach to Coronavirus disease (COVID-19). *Molecules*, 26(12), 3526. doi:10.3390/molecules26123526
- Gralinski, L. E., & Menachery, V. D. (2020). Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*, 12(2), 135. doi: 10.3390/v12020135.
- Peng, X. L., Cheng, J. S. Y., Gong, H. L., Yuan, M. D., Zhao, X. H., Li, Z., & Wei, D. X. (2021). Advances in the design and development of SARS-CoV-2 vaccines. *Military Medical Research*, 8(1), 1-31. doi:10.1186/s40779-021-00360-1
- Owji, H., Negahdaripour, M., & Hajighahramani, N. (2020). Immunotherapeutic approaches to curtail COVID-19. *International immunopharmacology*, 88, 106924. doi: 10.1016/j.intimp.

TREATMENT OF PEOPLE WITH COVID-19 WITHIN THE USAGE OF GENETICALLY ENGINEERED MEANS

V.D. Moskaliuk, B.V. Syrota

Bukovynian State Medical University

SUMMARY. One of the most relevant topics today is a viral infection caused by the coronavirus SARS-CoV-2, which has acquired not only medical but also social significance. The World Health Organization declared COVID-19 pandemic on March 11, 2020. Modern therapeutic options for the treatment of COVID-19 combine using drugs that affect both the virus and the components of the body's immune response. Despite the fact that pathogenetic mechanisms of infectious diseases have been partially studied, the treatment still does not live up to expectations, mainly due to the development of adverse drug reactions and conflicting treatment outcomes. Currently, the number of experimental genetically engineered molecules, proposed for the treatment of SARS-CoV-2, are growing steadily, which necessitates the analysis of modern scientific sources on the prospects, advantages and disadvantages of virus-neutralizing monoclonal antibodies, natural killers, mesenchymal stem cells and monoclonal antibodies to interleukin-6.

Key words: COVID-19, monoclonal antibodies, mesenchymal stem cells.

Відомості про авторів:

Москалюк Василь Деонісійович – д. мед. н, професор, завідувач кафедри інфекційних хвороб та епідеміології Буковинського державного медичного університету; e-mail: vdmoskaliuk@ukr.net

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4104-8153>

Сирота Борис Володимирович – к. мед. н, асистент кафедри інфекційних хвороб та епідеміології Буковинського державного медичного університету; e-mail: sirota.boris@ukr.net

Information about the authors:

Moskaliuk V. – MD, Professor, Head at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Bukovynian State Medical University; e-mail: vdmoskaliuk@ukr.net

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4104-8153>

Syrota B. – Assistant at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Bukovynian State Medical University; e-mail: sirota.boris@ukr.net

Конфлікт інтересів: немає.

Author has no conflict of interest to declare.

Отримано 25.02.2022 р.