

ОДА ВРОЖДЕННОМУ ИММУНИТЕТУ

Е.В. Воронина, Т.М. Андропова

ЗАО «Пептек», Москва, Россия

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,
Москва, Россия

Работа посвящена одному из актуальных вопросов современной иммунологии – проблемам врожденного иммунитета и его роли в разработке современных лекарственных препаратов, применяемых в клинической иммунологии при лечении больных с различными видами иммунопатологии.

Адрес для корреспонденции: *Е.В. Воронина*
ЗАО «Пептек» 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
Тел.: (495) 330-7456, E-mail: peptek@peptek.ru

Ключевые слова: *врожденный иммунитет, иммуномодуляторы, Липоид, муромилдипептиды.*

УДК 612.017.1

Революционные открытия последних двух десятилетий, пролившие свет на роль врожденного иммунитета в защите от царства «патогенов» и поставившие точку в научном споре двух Нобелевских лауреатов 1908 года Ильи Ильича Мечникова и Пауля Эрлиха «кто главный – приобретенный иммунитет или врожденный?», – были удостоены Нобелевской премии 2011 года по физиологии и медицине.

Премия была присуждена Жюлю Хоффманну (National Center of Scientific Research, Страсбург, Франция), Брюсу Бойтлеру (The Scripps Research Institute, Ла Джолла, США) и Ральфу Штайнману (Rockefeller University, Нью-Йорк, США) за открытия молекулярных механизмов врожденного иммунитета, переосмысления его роли в иммунологической защите и за оценку участия дендритных клеток во взаимодействии иммунитета врожденного с адаптивным.

Открытия Ж. Хоффмана, Б. Бойтлера и Руслана Меджитова показали, что система врожденного иммунитета у человека, позвоночных и беспозвоночных принципиально не отличается. По сути, был открыт новый путь иммунологического реагирования, перечеркнувший все старые представления о «неспецифичности» врожденного иммунитета.

Практически в одно время учеными были открыты и описаны однотипные рецепторы у мушек-дрозофил, мышей, а впоследствии и у человека, призванные «вылавливать» и распознавать бактерии, вирусы или грибы по их структурным элементам (любые компоненты клеточной стенки, нуклеиновые кислоты бактерий и вирусов и т. д.). Именно по этим структурным элементам врожденная иммунная система идентифицирует попадание «чужого» в организм. Рецепторы врожденного иммунитета расположены на поверхности или внутри профессиональных «пожирателей» всего чужеродного, основных клеток врожденной иммунной системы – фагоцитов (нейтрофилов, моноцитов и макрофагов и др.).

Фактически произошел революционный переворот в иммунологии, который дал ответ на многие насущные вопросы и доказал, что в защите от инфекций или биологической агрессии ведущую роль играет иммунитет врожденный, который руководит запуском адаптивного и его последующей работой.

Основные принципы работы врожденного иммунитета

Врожденная иммунная система	
○	Возраст – порядка 1,5 млрд лет (А.А. Ярилин, 2011)
○	Характерна для всех многоклеточных животных
○	Моментальное реагирование – минуты и часы
○	Функционирует всегда по одному и тому же сценарию
○	Функционирует с рождения
○	Консервативная – не изменяется в процессе жизни
○	Распознает универсальные структурные элементы патогенов с помощью специальных рецепторов

Инфекционные агенты и их структурные компоненты, добравшиеся до слизистых кишечника, носоглотки, легких или попавшие внутрь организма, «запускают» первую линию защиты – врожденный иммунитет. Происходит активация фагоцитов через рецепторы врожденного иммунитета и «удаление чужеродных агентов» из внутренней среды организма.

Рецепторы врожденного иммунитета – специальные белки, призванные выставлять первый заслон – «вылавливать» и распознавать все чужие и заведомо опасные молекулы, попавшие в организм. Ими могут быть структурные фрагменты бактерий, вирусов, грибов, простейших и паразитов (любые компоненты клеточной стенки, нуклеиновые кислоты бактерий и вирусов и т. д.). Первыми открытыми рецепторами врожденного иммунитета были так называемые Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors), позднее были идентифициро-

ваны другие семейства рецепторов – NOD-like и RIG-like, каждые из которых выполняют свою роль и распознают «предназначенные им» патогенные структуры.

Рецепторы врожденного иммунитета расположены на поверхности или внутри профессиональных «пожирателей» всего чужеродного, основных клеток врожденной иммунной системы – фагоцитов (нейтрофилов, моноцитов и макрофагов, дендритных клеток и др.). Последние играют роль посредников между врожденным и адаптивным иммунитетом; за открытие этой взаимосвязи была присуждена третья часть Нобелевской премии 2011 года Ральфу Штайнману.

В своей работе Ж. Хофман «вывел» серию мутантных мушек-дрозофил с искусственной мутацией Toll-рецептора. Дрозофилы с «выключенным» рецептором «зарастали» грибами и погибали, в то время как «дикий тип» дрозофил чувствовал себя вполне комфортно.

Основные принципы работы адаптивного иммунитета

Адаптивная иммунная система	
○	Филогенетически более молодая – около 500 млн лет назад (А.А. Ярилин, 2011)
○	Появилась у высших позвоночных
○	«Интеллектуальная», точно настраиваемая
○	Требует времени для развития ответа – от трех дней и выше
○	«Формируется» и меняется в процессе жизни
○	Формирует «иммунологическую память»

Если выведение возбудителя не произошло, наступает очередь более тонко и долго настраиваемой второй линии защиты – адаптивного иммунитета, заканчивающийся образованием цитотоксических лимфоцитов, антител и клеток-памяти.

Иммунологическая революция: новый взгляд на лекарства – активаторы врожденного иммунитета

В свете открывшихся новых знаний о ведущей роли одной из самых древних защитных систем организма и механизмах его работы уже произошло переосмысление механизмов работы некоторых хорошо известных лекарственных препаратов. Но, пожалуй, самый важный итог «иммунологической революции» – изменение взглядов на вопрос лечения инфекционных болезней и роли лекарственных препаратов – активаторов врожденного иммунитета в нем.

В 2006 году Национальная академия наук США и Комитет по новым направлениям в изучении антимикробной терапии изложил и обосновал принципиально новую концепцию стратегических подходов и научной разработки инновационных лекарственных препаратов для лечения инфекционных заболеваний – активаторов врожденного иммунитета (Committee on New Directions in the Study of Antimicrobial Therapeutics: Immunomodulation. National Academies Press, 2006).

- Лечение инфекционных заболеваний путем модулирования иммунной системы

“One workshop focused on potential new classes of antibiotics, while the other explored the possibility of treating infectious diseases by modulating the immune system” – Summary, p. 1

- Большинство антимикробных агентов, которые совершили революцию в лечении инфекционных заболеваний в последние десятилетия, получены от бактериальных продуктов

“Most of the antimicrobial agents that have revolutionized the treatment of infectious diseases in the past several decades are derived from bacterial products...” – Summary, p. 1-2

- Иммуномодуляторы могут быть не в состоянии вылечить болезнь непосредственно, но могут быть эффективными в сочетании с традиционными антибактериальными и противовирусными препаратами.

“...The immunomodulation committee noted that many immunomodulators may not be able to cure disease directly, but could be effective in combination with traditional antimicrobials” – Summary. p. 5

“Immunomodulatory interventions will probably... most promisingly as adjuncts to therapeutics—such as antibiotics and antivirals—that target the microorganism directly” – p. 38

- Врожденный иммунитет, как и антибактериальная терапия, имеет быстрое начало действия (от нескольких минут до нескольких часов), после активации действует на разнообразные микроорганизмы

“Innate immunity shares with conventional antimicrobial therapy a rapid onset of action (within minutes to hours) and a relatively low specificity: once activated, it can act on diverse microorganisms” - p.44

Потенциальные преимущества использования модуляторов иммунного ответа по сравнению с использованием традиционных антибиотиков.

– иммуномодуляторы не действуют на микроорганизмы непосредственно, они могут обходить проблему развития резистентности;

– иммуномодуляторы могут расширить возможности лечения для пациентов с ослабленным иммунитетом, в которых традиционные препараты зачастую работают плохо;

– иммуномодуляторы обладают потенциалом широкого спектра действия против вирусных и грибковых, а также бактериальных заболеваний,

Promising Approaches to the Development of Immunomodulation for the Treatment of Infectious Diseases: Report of a Workshop, p. 37–38

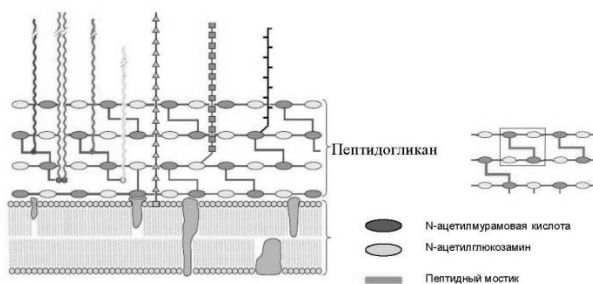
Комитет определил круг потенциальных «молекул» – активаторов врожденного иммунитета, и это, прежде всего – агонисты Toll-рецепторов, и других рецепторов врожденного иммунитета (NOD-рецепторы), включая структурную единицу пептидогликана – мурамилдипептид.

“The Committee identified three potential boosters of innate immunity as having particular promise: TLR agonists and agents that modulate the TLR response pathway, cationic host-defense peptides, and direct expansion of the effector cells normally activated by the innate immune system... Other modulators acting through PRRs include the peptidoglycan subunit muramyl dipeptide”, – p. 45

Мурамилдипептиды

Мурамилпептиды – это название целого класса веществ, с которыми, по сути, мы близко знакомы и сталкиваемся каждый день.

Каждая микробная клетка «надевает» на себя внешний защитный слой под названием «клеточная стенка», значительную часть которой составляет пептидогликан. Последний состоит из регулярно повторяющихся фрагментов, которые образуют каркас, придающий клетке прочность и упругость одновременно.



Клеточная стенка грамположительной бактерии в разрезе.

ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептид), относящийся к классу мурамилпептидов и есть тот самый, множество раз повторяющийся фрагмент пептидогликана. В то время как минимальной структурной субъединицей пептидогликана является еще более мелкая структура – мурамилдипептид (МДП).

ГМДП образуется в естественных условиях при действии различных гидролитических ферментов, расщепляющих бактериальную клеточную стенку. При очень приблизительном подсчете в пептидогликане Грам+ бактерии содержится более 1 000 000 таких фрагментов.

Пептидогликан, его структурные компоненты, с одной стороны, защищают бактериальную клетку, а с другой стороны «выдают» ее принадлежность к микробному миру.

Пептидогликан распознается Toll-рецепторами II и IV типов, теми самыми, который открыл Ж. Хофман у дрозофилы, Б. Бойтлер – у мышей, а Р. Меджитов – у человека. Пептидогликан «отлавливается», распознается рецептором и начинает «дробиться», «перевариваться» фагоцитами. После расщепления до минимальных «структурных фрагментов», последние распознаются внутриклеточным NOD-2 рецептором, служащий «оповестителем» о несанкционированном вторжении внутрь клетки или побега из фаголизомы фагоцита. Своеобразная двойная защита, созданная эволюционно.



Ученые, впервые синтезировавшие и описавшие МДП и ГМДП. Эдгар Ледепер (Institute of Chemistry of Natural Substances, CNRS, France) – синтезировал и описал МДП. Татьяна Михайловна Андропова (Институт биохимии АН СССР) – синтезировала и описала ГМДП.

Мурамилпептиды – естественные активаторы врожденной иммунной системы через рецептор врожденного иммунитета NOD-2. Но, главное, это не чужеродные молекулы, с ними наш организм встречается каждый день, отражая атаки «болезнетворных» микробов, перерабатывая, отработавшее свое «полезные» бактерии, несущих в своих клеточных стенках ГМДП. Т.е. потенциально различные аналоги могут стать «молекулой» лекарственного препарата – активатора врожденного иммунитета при подтверждении его безопасности при клиническом применении.

Какие же эффекты оказывают мурамилпептиды на человеческий организм? Помимо повышения функциональной активности «главных» клеток врожденной иммунной системы – фагоцитов, известны и другие полезные свойства представителей этого класса – противовоспалительный и антимагистатический эффекты, адьювантные свойства (усиление выработки антител при иммунизации, что особенно важно при введении убитых или «ослабленных» антигенов).

В настоящий момент в 31 стране мира зарегистрированы различные аналоги мурамилдипептида (табл. 1). В России с 1995 года в качестве лекарственного препарата зарегистрирован аналог МДП – глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) с торговым названием Ликопид®.

Ликопид® – активатор врожденного иммунитета

Ликопид® является лекарственной формой ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептида) – повторяющегося структурного фрагмента пептидогликана и, пожалуй, одним из ярких примеров того, как открытие, подкрепленное многолетними фундаментальными научными исследованиями, может послужить на благо человеку.



Первые таблетки ГМДП (Ликопида®) датского производства, которые были использованы в первых клинических исследованиях.

Ликопид® (ГМДП) – немногий в ряду иммуномодуляторов, имеющий неоспоримое преимущество – известный и предсказуемый механизм действия. Для которого большим числом научных исследований зарубежных и отечественных, доказано, что фармакологическая активность препарата реализуется посредством связывания его действующего начала – ГМДП с рецептором врожденного иммунитета NOD2 (Girardin S.E., 2003; Meshcheryakova E., 2007). Воздействуя на ключевую молекулярную мишень (рецептор) в иммунной системе, Ликопид® «имитирует» естественный процесс обнаружения фрагментов пептидогликана микроорганизмов, т. е. действие препарата максимально приближено к естественной иммунорегуляции.

Таблица 1

Аналоги мурамидипептида, зарегистрированные и исследуемые в качестве лекарственных препаратов в мире

МНН	Торговое название	Компания	Область применения	Страна	Стадия разработки	Год
Зарегистрированные лекарственные препараты						
МДП-Lys(L18)	Noria®	Daiichi Pharmaceutic	Онкология	Япония	Зарегистрирован	1991
ГМДП	Ликопид®	Пептек, Россия	Иммунология, Инфекционные болезни	Россия	Зарегистрирован	1995
ГМПШ	Лиастен®	Технолог, Украина	Инфекционные болезни, онкология	Украина	Зарегистрирован	2000
Л-МТП-ФЭ	Меракт®	Takeda Pharmaceutical	Онкология	27 стран Европейского Союза, включая Исландия, Лихтенштейн и Норвегия	Зарегистрирован	2009
Л-МТП-ФЭ	Меракт®	Takeda Pharmaceutical	Онкология	Мексика	Зарегистрирован	2010
Клинические исследования II-III фазы						
Л-МТП-ФЭ	Меракт®	Millennium Pharmaceuticals, Inc.	Онкология	Австрия	III фаза	2010 октябрь – 2018 июль
Л-МТП-ФЭ	Меракт®/	Millennium Pharmaceuticals, Inc.	Онкология	США (FDA)	II фаза/	2008 март – 2012 февраль
ДТП-ГДП	ImmTher®	Endorex corp.	Онкология	США (FDA)	II фаза	2002 май

Ликопид® (ГМДП): от эмпирических исследований до NOD-2 рецепторов

Предысторией создания Ликопида® можно считать противоопухолевый препарат бластолизин. В 1960-х годах болгарский ученый И. Богданов, основываясь на идеях Ильи Ильича Мечникова о важной роли молочнокислых продуктов в профилактике рака, получил из *Lactobacillus bulgaricus* смесь гликопептидов, названную бластолизином. Изучение биологической активности бластолизина, определение его химической структуры в Институте биоорганической химии АН СССР привело к идентификации ГМДП и синтезу обширной серии производных мурамиддипептида.

Практически десятилетний период ушел на «тестирование» и исследование различных аналогов МДП для выявления одинаково эффективных и безопасных молекул, финалом чего стало начало разработки в 1989 году ГМДП в качестве лекарственного препарата. Стало яс-

но, что ГМДП, в дальнейшем - действующее начало лекарственного препарата Ликопид®, удачно совмещает в себе биологическую активность и хороший профиль безопасности (низкая пирогенность; крайне низкая токсичность, что по существующим государственным отраслевым стандартам позволяет отнести вещество к классу «мало опасные»). К примеру, в ходе доклинических исследований, стало ясно, чтобы действительно попробовать «навредить» с помощью Ликопида (ГМДП) практически нужно превысить почти в десяток тысяч раз дозу, которая нужна нам для лечения или для профилактики.

Параллельно с процессом исследований «молекулы» шел поиск ответов на вопрос как же ГМДП взаимодействует с человеческим организмом или, попросту говоря, каков механизм взаимодействия. Поначалу полагали, что это может быть рецептор, находящийся на поверхности клетки. Но, уже в 1991 году был описан внутриклеточный рецептор с полной специфичностью к

мурамилпептидам. Авторы этих работ – группа ученых под руководством профессора В.А. Несмеянова, руководителя лаборатории иммунохимии ИБХ РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова.

Еще одно замечательное предвиденье, подтвержденное экспериментально, но получившее фундаментальное научное подтверждение только спустя 12 лет, когда стало ясно, что внутриклеточный рецептор, описанный В.А. Несмеяновым, и есть тот самый рецептор врожденного иммунитета NOD-2. Этот вывод позволил привести в систему целый ряд ранее полученных экспериментальных данных, касающихся Ликопида® (ГМДП), научно обосновать существующие и открыть новые перспективы его использования в клинике.

Ликопид® (ГМДП) – защита, созданная природой

Ликопид®, пожалуй, один из ярких примеров того, как открытие, подкрепленное многолетними фундаментальными научными исследованиями, может послужить на благо человеку. Но, чтобы стать лекарством, «молекуле» необходимо пройти долгий и тернистый путь исследований и доказать не только эффективность, но и безопасность применения не в эксперименте, а в человеческом организме.

Доклинические и клинические исследования Ликопида® (ГМДП) проходили в Великобритании (Toxicol Laboratories Ltd, The Royal Masonic Hospital), Австралии (UNSW Department of Surgery and Department of Oncology, The St. George Hospital), в Латвии (Латвийский Институт биоорганического синтеза) и в России, где основная часть исследований проходила в Институте иммунологии ФМБА РФ.

Прежде всего необходимо четко очертить круг проблем, при которых назначение Ликопида® доказано принесет значительную пользу. Это ситуации вирусных и грибовых, а также бактериальных заболеваний, осо-

бенно с частыми рецидивами в течение года. Это касается: повторяющихся и длительно протекающих заболеваний дыхательного тракта у детей и взрослых, включая профилактический прием этими пациентами в осенне-зимний сезон подъема заболеваемости; гнойно-воспалительных заболеваний кожи, мягких тканей и послеоперационных осложнений; вирусных инфекций (герпесвирусные и папилломавирусные); комплексное лечение туберкулеза легких и псориаза.

Новые перспективные направления научных разработок

Понимание молекулярных механизмов действия Ликопида (ГМДП) проливают свет на полученные ранее в клинических исследованиях данные на эффективность Ликопида в лечении atopических заболеваний (бронхиальная астма и atopический дерматит).

Другое направление перспективных научных разработок – систематизация данных экспериментальных и клинических исследований по противоопухолевому и антиметастатическому эффектам ГМДП.

Недавно получены данные, требующие пристального и углубленного изучения в рамках клинических исследований:

- под действием ГМДП увеличивается количество специфических белков на опухолевых клетках, облегчающих распознавание опухоли иммунной системой;
- повышение чувствительности опухолевых клеток к действию цитостатиков при совместном введении с ГМДП.

Все это делает дальнейшую научную разработку этих направлений крайне перспективными. Мурамилпептиды являются объектом фундаментальных научных исследований последние тридцать лет. Интерес к мурамилпептидам, безусловно, будет расти, так как они являются собой модель для изучения врожденного иммунитета.

Литература

1. Козлов И.Г., Андропова Т.М. «Лекарственные воздействия через рецепторы врожденного иммунитета.» *Аллергология и иммунология* **14(4)**: 254-259, 2013.
2. Сепиашвили Р.И. «Иммунотропные препараты: классификация, проблемы и перспективы.» *Аллергология и иммунология* **2(1)**: 39-45, 2001.
3. Сепиашвили Р.И. «Классификация и показания к применению иммунотропных препаратов» *International Journal on Immunorehabilitation (Международный журнал по иммунореабилитации)* **3(3)**: 7-13, 2001.
4. Сепиашвили Р.И. «Основные принципы классификации и применения иммуномодулирующих препаратов в клинической практике.» *International Journal on Immunorehabilitation (Международный журнал по иммунореабилитации)* **4(2)**: 209-213, 2002.

Ode to innate immunity

E.V. Voronina, T.M. Andronova

CJSC “Peptek”; M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia

The paper is devoted to one of the urgent problems of modern immunology, problems of innate immunity and its role in the development of modern drugs used in clinical immunology in the treatment of patients with different types of immunopathology.

Key words: innate immunity, immunomodulators, Licopid, muramyl dipeptides..