

## ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 ПРИ COVID-19

Нагуманов С.В., Абдрашитова А.А.

*ФГБОУ ВО Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, e-mail: vinn@inbox.ru*

Цель исследования: изучение уровня цитокинов интерлейкина-6, интерлейкина-10 и фактора некроза опухоли- $\alpha$  в сыворотке крови у пациентов с пневмонией, ассоциированной с новой коронавирусной инфекцией, на фоне применения трех различных ингибиторов интерлейкина-6. Проанализировано содержание цитокинов интерлейкина-6, интерлейкина-10 и фактора некроза опухоли- $\alpha$  в сыворотке крови у 147 пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением новой коронавирусной инфекции, находившихся на лечении в отделении интенсивной терапии инфекционного стационара, организованного на базе Александрo-Мариинской областной клинической больницы Астраханской области, в период с января по август 2021 года. С целью упреждения развития цитокинового шторма пациенты получили один из ингибиторов интерлейкина-6: Тоцилизумаб, Сарилумаб или Олокизумаб – и были разделены на три соответствующие группы (65, 26 и 56 пациентов соответственно). Введение препаратов осуществлялось на 2–4-е сутки от момента госпитализации, дозировка и способ введения были аргументированы действующими на момент проведения исследования Временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции. Уровни цитокинов измерялись методом иммуноферментного анализа при поступлении, спустя сутки после введения препарата и на 10-й день нахождения в стационаре. Провоспалительные цитокины (интерлейкин-6, фактор некроза опухоли- $\alpha$ ) и противовоспалительный цитокин (интерлейкин-10) продемонстрировали схожую динамику при использовании различных ингибиторов интерлейкина-6: увеличение уровня интерлейкина-6 и уменьшение уровня интерлейкина-10 и фактора некроза опухоли- $\alpha$  в первые сутки после введения, с последующим снижением уровня всех трех цитокинов на 10-е сутки. При тяжелых формах новой коронавирусной инфекции отмечается дисбаланс оппозиционных цитокиновых пулов; Тоцилизумаб, Сарилумаб и Олокизумаб оказывают схожее воздействие на данный дисбаланс, что позволяет с одинаковой эффективностью применять эти препараты.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, интерлейкин-6, интерлейкин-10, фактор некроза опухоли- $\alpha$ .

## FEATURES OF THE DYNAMICS OF CYTOKINE PROFILE INDICATORS AGAINST THE BACKGROUND OF THE USE OF INTERLEUKIN-6 INHIBITORS IN COVID-19

Nagumanov S.V., Abdrashitova A.A.

*Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: vinn@inbox.ru*

To study the level of cytokines interleukin-6, interleukin-10 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in serum in patients with pneumonia associated with a new coronavirus infection against the background of the use of three different interleukin-6 inhibitors. The content of cytokines interleukin-6, interleukin-10 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in the blood serum of 147 patients with moderate to severe course of new coronavirus infection who were treated in the intensive care unit of an infectious hospital organized on the basis of the Alexander-Mariinsky Regional Clinical Hospital of the Astrakhan region in the period from January to August 2021 was analyzed of the year. In order to prevent the development of a «cytokine storm», patients received one of the interleukin-6 inhibitors: Tocilizumab, Sarilumab or Olokizumab, and were divided into three corresponding groups (65, 26 and 56 patients, respectively). The drugs were administered on the 2nd-4th day from the moment of hospitalization, the dosage and method of administration were justified by the Temporary Methodological Recommendations for the prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection in force at the time of the study. Cytokine levels were measured by enzyme immunoassay upon admission, a day after administration of the drug and on the tenth day of hospital stay. Pro-inflammatory cytokines (interleukin-6, tumor necrosis factor- $\alpha$ ) and anti-inflammatory cytokine (interleukin-10) demonstrated similar dynamics when using various interleukin-6 inhibitors: an increase in the level of interleukin-6 and a decrease in interleukin-10 and tumor necrosis factor- $\alpha$  on the first day after administration, followed by a decrease in the concentration of all three cytokines on the 10th day. In severe forms of new coronavirus infection, an imbalance of oppositional cytokine pools is noted, Tocilizumab, Sarilumab and Olokizumab show similar effects on this imbalance, which allows the use of these drugs with equal effectiveness.

Keywords: new coronavirus infection, interleukin-6, interleukin-10, tumor necrosis factor- $\alpha$ .

## **Введение**

Предполагаемая роль синдрома выброса цитокинов в развитии тяжелых поражений легких и других органов при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) послужила основой для исследования эффективности различных антицитокиновых средств, включая ингибиторы интерлейкина-6 (IL-6) (Тоцилизумаб, Сарилумаб, Олокизумаб), интерлейкина-1 (IL-1) (Канакинумаб, Анакинра) и янус-киназ (Тофацитиниб, Барicitиниб) [1, 2]. Несмотря на то что ни один из указанных препаратов не получил официальной регистрации для лечения COVID-19, во многих странах ингибиторы IL-6 применяются в клинической практике у пациентов с тяжелыми формами заболевания [3, 4]. В связи с этим представляет научный интерес анализ уровней провоспалительных (IL-6, фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )) и противовоспалительных (интерлейкин-10 (IL-10)) цитокинов в сыворотке крови пациентов с пневмонией, связанной с новой коронавирусной инфекцией, при поступлении в стационар, а также их изменения в динамике в зависимости от применяемого антицитокинового препарата.

**Цель исследования:** провести изучение динамики содержания цитокинов IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у пациентов с пневмонией, ассоциированной с новой коронавирусной инфекцией, на фоне применения трех антицитокиновых препаратов.

## **Материалы и методы исследования**

Все пациенты проходили лечение в инфекционном стационаре на базе ГБУЗ АО «АМОКБ» (г. Астрахань) в период январь – август 2021 г. Критериями включения в исследование являлись: подписанное информированное согласие; возраст старше 18 лет; идентификация возбудителя новой коронавирусной инфекции (положительный результат мазков со слизистой поверхности носовой и ротовой полости на наличие вирусной РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)); использование одного из ингибиторов/блокаторов интерлейкина-6 (Тоцилизумаб, Сарилумаб, Олокизумаб) в составе терапии новой коронавирусной инфекции.

Пациенты, включенные в исследование, с упреждающей целью (купирование цитокинового шторма) получали один из ингибиторов/блокаторов интерлейкина-6: Тоцилизумаб (Актемра®, F.Hoffmann-La Roche, Ltd., Швейцария), Сарилумаб (Кевзара®, Sanofi, Франция), Олокизумаб (Артлегиа®, Р-Фарм АО, Россия). Препараты были назначены пациентам на 2–4-е сутки от момента госпитализации, в соответствии с действующими на момент проведения исследования Временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [5, 6]. Критерии исключения: отсутствие подписанного информированного согласия; отрицательный результат на наличие вирусной РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР; наличие противопоказаний к назначению одного из ингибиторов/блокаторов интерлейкина-6

(Тоцилизумаб, Сарилумаб, Олокизумаб) в составе терапии новой коронавирусной инфекции; беременные, роженицы.

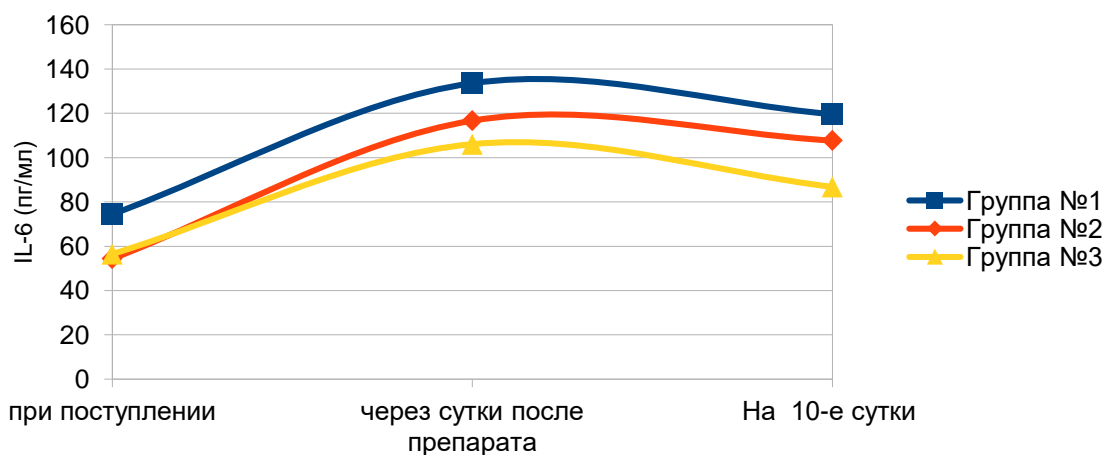
В соответствии с полученным препаратом были сформированы 3 группы: группа № 1 (Тоцилизумаб) – 65 пациентов, группа № 2 (Сарилумаб) – 26 пациентов, группа № 3 (Олокизумаб) – 56 пациентов. Группы были сопоставимы по возрасту, полу и клинико-лабораторным характеристикам. Забор крови для определения уровня цитокинов в динамике производился при поступлении в стационар, на 1-е сутки после введения препарата и на 10-й день пребывания пациента в стационаре. Изучение содержания уровня цитокинов в сыворотке крови проводили с помощью наборов для количественного определения IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Статистическая обработка данных была выполнена с использованием программы IBM SPSS Statistics 22 (Chicago, USA). Для проверки нормальности распределения количественных переменных применялись частотные гистограммы, а также критерии Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении переменные представляются в виде среднего значения и среднеквадратичного отклонения; в случае ненормального распределения – в виде медианы (Me) и межквартильного интервала (Q25-Q75). Сравнение групп по количественным признакам проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования и их обсуждение**

У пациентов с пневмонией, ассоциированной с COVID-19, при госпитализации в стационар медианное значение IL-6 составило 68,3 [42,5; 85,2] пг/мл, для IL-10 – 53,3 [37,2; 74,7] пг/мл и для TNF- $\alpha$  – 21,3 [18,7; 24,5] пг/мл соответственно.

Как видно из рисунка 1, уровень IL-6 при поступлении в группе № 1 был равен 74,5 [54,3; 94,6] пг/мл, с последующим увеличением до 133,6 [99,8; 167,3] пг/мл через сутки после введения препарата. На 10-й день после применения антицитокинового препарата отмечено снижение уровня IL-6 до 119,6 пг/мл [90,7; 148,4] ( $p < 0,05$ ). В группе № 2 уровень IL-6 при поступлении составлял 54,4 [38,9; 69,8] пг/мл, с последующим статистически значимым увеличением до 116,7 [77,8; 125,5] пг/мл через сутки после введения ингибитора IL-6. На 10-й день после применения антицитокинового препарата отмечено снижение уровня IL-6 до 107,7 пг/мл [81,7; 118,3] ( $p > 0,05$ ). В группе № 3 уровень IL-6 при поступлении был равен 56,5 [41,9; 71] пг/мл, с последующим увеличением до 106,1 [74,6; 137,5] пг/мл через сутки после введения препарата. На 10-й день после применения ингибитора IL-6 зафиксировано снижение уровня IL-6 до 86,8 пг/мл [63,5; 124,7] ( $p < 0,05$ ).



*Рис.1. Динамика уровня IL-6 у пациентов с пневмонией, ассоциированной с COVID-19, на фоне применения ингибиторов IL-6*

Как следует из рисунка 2, уровень IL-10 при поступлении в группе № 1 был равен 66,3 [55,4; 77,1] пг/мл, с последующим снижением до 40,1 [28,5; 51,6] пг/мл через 1 сутки после введения препарата. На 10-й день наблюдения отмечено продолжение снижения уровня IL-10 до 29,1 [21,4; 36,7] пг/мл ( $p < 0,05$ ). В группе № 2 уровень IL-10 при поступлении был равен 41,5 [26,8; 56,1] пг/мл, с последующим статистически значимым снижением до 26,1 [14,8; 37,3] пг/мл через сутки после введения препарата. На 10-й день наблюдения сохранялось продолжение снижения уровня IL-10 до 21,1 [13,5; 28,6] пг/мл ( $p < 0,05$ ). Уровень IL-10 при поступлении у пациентов группы № 3 был равен 60,4 [46,5; 74,2] пг/мл с последующим снижением до 38,7 [29,1; 48,2] пг/мл через сутки после введения препарата. На 10-й день наблюдения отмечено продолжение снижения уровня IL-10 до 30,7 [23,7; 37,6] пг/мл ( $p < 0,05$ ).

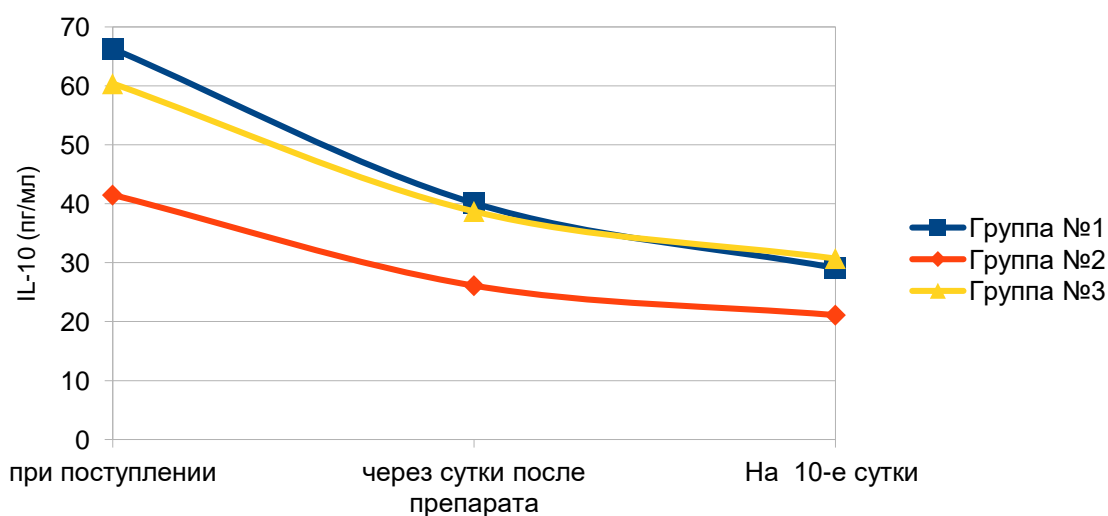


Рис.2. Динамика уровня IL-10 у пациентов с пневмонией, ассоциированной с COVID-19, на фоне применения ингибиторов IL-6

Как показано на рисунке 3, уровень TNF-α у пациентов из группы № 1 при поступлении был равен 23,5 [21,7; 25] пг/мл. Через сутки после введения препарата наблюдалось статистически значимое снижение уровня TNF-α до 21,3 [19,5; 23,0] пг/мл. На 10-й день наблюдения также отмечено продолжение снижения уровня TNF-α до 18,1 [16,6; 19,3] пг/мл ( $p < 0,05$ ). В группе № 2 уровень TNF-α при поступлении составлял 22,1 [19,8; 24,1] пг/мл. Через 1 сутки после введения ингибитора IL-6 зафиксировано статистически значимое снижение уровня TNF-α до 19,9 [18,1; 21,6] пг/мл. На 10-й день наблюдения также отмечено статистически значимое продолжение снижения уровня TNF-α до 17,2 [15,9; 18,2] пг/мл ( $p < 0,05$ ). В группе № 3 уровень TNF-α при поступлении был равен 21,2 [18,7; 23,6] пг/мл. Через 1 сутки после введения антицитокинового препарата зафиксировано статистически значимое снижение уровня TNF-α до 19,1 [17,6; 20,5] пг/мл. На 10-й день наблюдения также отмечено продолжение снижения уровня TNF-α до 17,3 [16,4; 18,1] пг/мл, но без достоверного подтверждения ( $p = 0,07$ ).

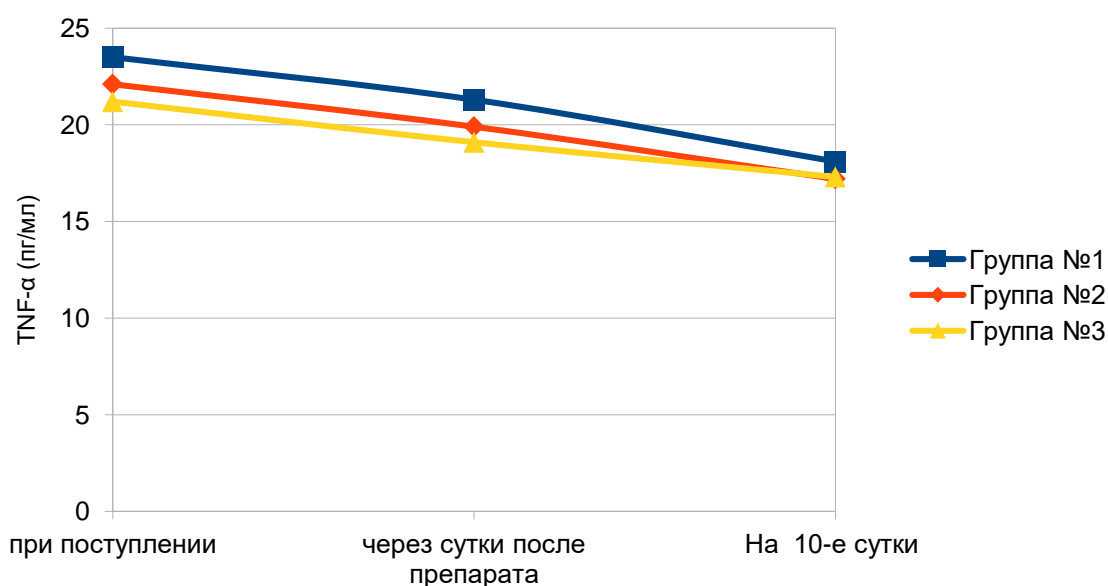


Рис. 3. Динамика уровня TNF-α у пациентов с пневмонией, ассоциированной с COVID-19, на фоне применения ингибиторов IL-6

Цитокины представляют собой ключевые иммуномодулирующие медиаторы, участвующие в различных аутокринных, паракринных и эндокринных сигнальных механизмах, которые определяют характер и интенсивность воспалительных и иммунных реакций в организме. IL-6 относится к провоспалительным цитокинам и вырабатывается

различными клетками, включая Т-лимфоциты, моноциты и эндотелиальные клетки. Он активирует синтез острофазовых белков, таких как гаптоглобин и С-реактивный белок, которые, в свою очередь, способствуют усилению воспалительного процесса, регулируют иммунный ответ и способствуют активации лимфоцитов, инициирующих выработку необходимых на данный момент иммуноглобулинов и антител. TNF- $\alpha$  является одним из основных многофункциональных провоспалительных цитокинов, который преимущественно синтезируется макрофагами. В нормальных физиологических условиях он регулирует широкий спектр процессов, включая обмен липидов, свертывание крови, деление, созревание и апоптоз клеток. Уровень TNF- $\alpha$  может увеличиваться при различных аутоиммунных, ревматологических и инфекционных заболеваниях, а также при наличии злокачественных опухолей. IL-10 обладает выраженными противовоспалительными свойствами и играет значительную роль в контроле воспалительного процесса, предотвращая тем самым чрезмерное повреждение тканей. Его действие снижает синтез других воспалительных цитокинов. Дисрегуляция IL-10 ассоциируется с развитием аутоиммунных и инфекционных заболеваний, а также с воспалением эндотелия сосудов, что может ухудшать течение сахарного диабета, сердечно-сосудистой патологии и др. Для обеспечения нормальной жизнедеятельности организму необходимо поддержание гомеостатического баланса уровней оппозиционных цитокиновых пулов, поскольку нарушение гомеостаза цитокинов может нанести значительный вред организму [7, 8, 9]. Во время пандемии было установлено, что при COVID-19 отмечается сбой иммунной регуляции, который в некоторых случаях может приводить к развитию опасного для жизни состояния, вызванного неконтролируемой секрецией провоспалительных цитокинов в больших количествах, – цитокиновому шторму. В ряде проведенных исследований было установлено, что IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , GM-CSF и IFN- $\gamma$  являются наиболее важными провоспалительными цитокинами, которые в избыточном количестве выделяются у пациентов при тяжелом течении заболевания [10, 11]. Учитывая важную роль IL-6 как ключевого фактора, влияющего на воспалительный статус при COVID-19, в терапии тяжелых форм стали широко использовать ингибиторы IL-6 в виде моноклональных антител, нацеленных на IL-6 или на соответствующий рецептор к нему [3, 4].

При изучении особенностей динамики про- и противовоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-10 и IL-6) у пациентов с пневмонией, ассоциированной с COVID-19, авторами было обнаружено, что все три рассматриваемых цитокина имеют схожие профили изменения своего содержания в сыворотке крови независимо от использованного препарата (Тоцилизумаб, Сарилумаб, Олокизумаб). Через 1 сутки после введения одного из антицитокиновых препаратов отмечалось увеличение уровня IL-6, в то время как у IL-10 и TNF- $\alpha$  было

зафиксировано снижение уровней. На 10-й день наблюдения все три показателя демонстрировали тенденцию к снижению.

Таким образом, изучая изменения показателей цитокинов на фоне применения антицитокиновых препаратов, авторы наблюдают временное, первоначальное повышение уровня IL-6, что может быть обусловлено тем фактом, что данные препараты блокируют как растворимые, так и мембранные рецепторы к IL-6 (Тоцилизумаб, Сарилумаб), а также непосредственно сам IL-6 (Олокизумаб), препятствуя его дальнейшему метаболизму, и, как следствие, приводят к увеличению уровня IL-6 в сыворотке крови. Наблюдение авторов согласуется с наблюдениями других отечественных исследователей, где также было продемонстрировано схожее проявление дисбаланса цитокинов на фоне применения антицитокинового препарата [12, 13]. Также нужно отметить, что по результатам некоторых работ было показано, что повышенное содержание IL-6 может наблюдаться в течение длительного времени после введения антицитокинового препарата [14].

### **Выводы**

1. IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  имеют схожие профили изменения концентрации независимо от использованного ингибитора IL-6 (Тоцилизумаба, Сарилумаба, Олокизумаба).
2. При тяжелых формах COVID-19 отмечается дисбаланс оппозиционных цитокиновых пулов, при этом Тоцилизумаб, Сарилумаб и Олокизумаб оказывают аналогичное влияние на цитокиновый профиль, что позволяет с одинаковой эффективностью применять эти препараты у пациентов с пневмонией, ассоциированной с COVID-19.

### **Список литературы**

1. Conti P., Ronconi G., Caraffa A. L., Gallenga C. E., Ross R., Frydas I., Kritas S. K. Induction of pro-inflammatory cytokines (IL-1 and IL-6) and lung inflammation by Coronavirus-19 (COVI-19 or SARS-CoV-2): anti-inflammatory strategies // J Biol Regul Homeost Agents. 2020. Vol. 34. Is. 2. P. 327-331. DOI: 10.23812/CONTI-E.
2. Kritas S. K., Ronconi G., Caraffa A. L., Gallenga C. E., Ross R., Conti P. Mast cells contribute to coronavirus-induced inflammation: new anti-inflammatory strategy // J Biol Regul Homeost Agents. 2020. Vol. 34. Is. 1. P. 9-14. DOI: 10.23812/20-Editorial-Kritas.
3. Di Giambenedetto S., Ciccullo A., Borghetti A., Gambassi G., Landi F., Visconti E., Gasbarrini A. Off-label use of tocilizumab in patients with SARS-CoV-2 infection // Journal of medical virology. 2020. Vol. 92. Is. 10. P. 1787. DOI: 10.1002/jmv.25897.

4. Levi M. Tocilizumab for severe COVID-19: A promising intervention affecting inflammation and coagulation // *European Journal of Internal Medicine*. 2020. Vol. 76. P. 21-22. DOI: 10.1016/j.ejim.2020.05.018.
5. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Версия 10 (08.02.2020). [Электронный ресурс]. URL: [https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/054/662/original/Временные\\_МР\\_COVID-19\\_%28v.10%29.pdf](https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/054/662/original/Временные_МР_COVID-19_%28v.10%29.pdf) (дата обращения: 12.09.2024).
6. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Версия 11 (07.05.2021). [Электронный ресурс]. URL: [https://medkirovdp.ru/uploads/docs/2021/временные\\_методические\\_рекомендации\\_covid\\_19\\_v11.pdf](https://medkirovdp.ru/uploads/docs/2021/временные_методические_рекомендации_covid_19_v11.pdf) (дата обращения: 12.09.2024).
7. Каштальян О.А., Ушакова Л.Ю. Цитокины как универсальная система регуляции // *Медицинские новости*. 2017. №. 9. С. 3-7.
8. Murakami M., Kamimura D., Hirano T. Pleiotropy and specificity: insights from the interleukin 6 family of cytokines // *Immunity*. 2019. Vol. 50. Is 4. P. 812-831. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.027.
9. Dinarello C. A. Historical insights into cytokines // *European journal of immunology*. 2007. Vol. 37. Is. S1. P. S34-S45. DOI: 10.1002/eji.200737772.
10. Mohseni Afshar Z., Barary M., Babazadeh A., Tavakoli Pirzaman A., Hosseinzadeh R., Alijanpour A., Ebrahimpour S. The role of cytokines and their antagonists in the treatment of COVID-19 patients // *Reviews in medical virology*. 2023. Vol. 33. Is. 1. P. e2372. DOI: 10.1002/rmv.2372.
11. Dharra R., Sharma A. K., Datta S. Emerging aspects of cytokine storm in COVID-19: The role of proinflammatory cytokines and therapeutic prospects // *Cytokine*. 2023. P. 156287. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156287>.
12. Lebedeva A, Molodtsov I, Anisimova A, Berestovskaya A, Dukhin O, Elizarova A, Fitzgerald W, Fomina D, Glebova K, Ivanova O, Kalinskaya A, Lebedeva A, Lysenko M, Maryukhnich E, Misyurina E, Protsenko D, Rosin A, Sapozhnikova O, Sokorev D, Shpektor A, Vorobyeva D, Vasilieva E, Margolis L. Comprehensive Cytokine Profiling of Patients with COVID-19 Receiving Tocilizumab Therapy // *Int. J. Mol. Sci*. 2022. Vol. 23. P. 7937. DOI: 10.3390/ijms23147937.
13. Сизякина Л.П., Скрипкина Н.А., Антонова Е.А. Закурская В.Я., Сизякин Д.В. Динамика показателей иммунного статуса у пациентов с COVID-19, получающих терапию с включением антагониста рецептора ИЛ-6 // *Иммунология*. 2022. № 43(2) С. 188–196. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-43-2-188-196.



14. Nishimoto N., Terao K., Mima T., Nakahara H., Takagi N., Takeuchi T. Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti-IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2008. Vol. 112. Is. 10. P. 3959-3964. DOI: 10.1182/blood-2008-05-155846.