

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ИММУНОГЕННОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ КОСТНЫХ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

Урал Фаритович Мухаметов¹, Сергей Владимирович Люлин², Дмитрий Юрьевич Борзунов³, Ильгиз Фанилевич Гареев⁴

¹ Республиканская клиническая больница имени Г. Г. Куватова, Уфа, Россия

² Медицинский центр «Кармель», Челябинск, Россия

³ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

⁴ Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

¹ ufa.rkbkuv@doctorrb.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3694-3302>

² carmel74@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2549-1059>

³ borzunov@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3720-5467>

⁴ ilgiz_gareev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4965-0835>

Аннотация

Введение. Костные морфогенетические белки (BMPs) являются подгруппой суперсемейства белков трансформирующего фактора роста бета (TGF- β), где играют важную роль в формировании и восстановлении костной ткани. Рекombинантные костные морфогенетические белки человека (rhBMPs) в настоящее время проходят клиническую оценку в эффективности усиления процессов регенерации костной ткани после травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата. Клинические испытания сопровождались подробным определением безопасности с использованием анализов как *in vitro*, так и *in vivo*. Первоначально высказывались опасения по поводу иммуногенности некоторых терапевтических белков из-за их нечеловеческого происхождения. Однако белки, полученные из сыворотки или тканей человека, и продукты, полученные из рекомбинантной ДНК, такие как rhBMPs, идентичные или почти идентичные нативным человеческим белкам, также оказались иммуногенными. **Цель работы** – провести оценку возможных реакций со стороны иммунной системы при применении rhBMPs, уделяя особое внимание ADA и потенциальным стратегиям, направленным на минимизацию иммуногенности rhBMPs. **Материалы и методы.** Для всестороннего поиска оригинальных работ, обзоров литературы, клинических случаев и метаанализов, демонстрирующих возможные реакции со стороны иммунной системы при применении rhBMPs, использованы базы данных PubMed, Embase, Google Scholar, база Кокрановской библиотеки (Cochrane Database). **Результаты.** Проанализированы возможные реакции со стороны иммунной системы при применении rhBMPs как в клинических, так и в доклинических исследованиях. Было выявлено, что выработка антител является одним из побочных эффектов после применения rhBMPs. Тем не менее зарегистрированные случаи иммуногенности rhBMPs значительно различаются из-за отсутствия стандартизации методов. **Заключение.** В различных клинических испытаниях не наблюдались иммунологически связанные нежелательные явления, а образование антител никогда не оказывало отрицательного воздействия на формирование новой костной ткани и клинические исходы. **Ключевые слова:** костные морфогенетические белки, рекомбинантные костные морфогенетические белки человека, иммунитет, антитела, ADA, терапия, профилактика, rhBMP-2 и rhBMP-7

Для цитирования: Мухаметов У.Ф., Люлин С.В., Борзунов Д.Ю., Гареев И.Ф. Оценка потенциальной иммуногенности рекомбинантных человеческих костных морфогенетических белков. Уральский медицинский журнал. 2022;21(5):116-127. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2022-21-5-116-127>.

@ Мухаметов У.Ф., Люлин С.В., Борзунов Д.Ю., Гареев И.Ф.

@ Mukhametov U.F., Lyulin S.V., Borzunov D.Yu., Gareev I.F.

EVALUATION OF THE POTENTIAL IMMUNOGENICITY OF RECOMBINANT HUMAN BONE MORPHOGENETIC PROTEINSUral F. Mukhametov¹, Sergey V. Lyulin², Dmitry Yu. Borzunov³, Ilgiz F. Gareev⁴¹ G.G. Kuvatov Republican Clinical Hospital, Russia, Ufa, Russia² Carmel Medical Center, Chelyabinsk, Russia³ Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia⁴ Bashkir State Medical University, Ufa, Russia¹ ufa.rkbkuv@doctorr.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3694-3302>² carmel74@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2549-1059>³ borzunov@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3720-5467>⁴ ilgiz_gareev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4965-0835>**Abstract**

Introduction. Bone morphogenetic proteins (BMPs) are a subgroup of the transforming growth factor- β (TGF- β) superfamily where they play an important role in bone formation and repair. Recombinant human bone morphogenetic proteins (rhBMPs) are currently being clinically evaluated for their effectiveness in enhancing bone tissue regeneration processes after injuries and diseases of the musculoskeletal system. Clinical trials were accompanied by detailed safety assessments using both in vitro and in vivo assays. Concerns were initially raised about the immunogenicity of some therapeutic proteins due to their non-human origin. However, proteins derived from human serum or tissues and products derived from recombinant DNA, such as rhBMPs, identical or nearly identical to native human proteins, have also been shown to be immunogenic. **The purpose.** of this study is to review the potential immunogenicity of rhBMPs and compare the results of preclinical and clinical studies available to date between rhBMP-2 and rhBMP-7. **Materials and methods.** Using PubMed, Embase, the Cochrane Database, and Google Scholar, we conducted a comprehensive search for original papers, literature reviews, case reports, and meta-analyses demonstrating possible immune responses to rhBMPs. **Results.** This study analyzes possible reactions from the immune system when using rhBMPs in both clinical and preclinical studies. Antibody production has been found to be one of the side effects of rhBMPs. However, reported cases of immunogenicity of rhBMPs vary greatly due to the lack of standardization of methods. **Conclusion.** No immunologically related adverse events were observed in various clinical trials, and antibody formation never adversely affected new bone formation and clinical outcomes.

Keywords: bone morphogenetic proteins, recombinant human bone morphogenetic proteins, immunity, antibodies, ADA, therapy, prevention, rhBMP-2 and rhBMP-7

For citation:

Mukhametov U.F., Lyulin S.V., Borzunov D.Yu., Gareev I.F. Evaluation of the potential immunogenicity of recombinant human bone morphogenetic proteins. Ural medical journal. 2022;21(5):116-127. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2022-21-4-116-127>

ВВЕДЕНИЕ

Костные морфогенетические белки (BMPs) являются факторами роста и дифференцировки и образуют большое подсемейство белков трансформирующего фактора роста бета (TGF- β). Данные белки обеспечивают морфогенетические сигналы для развития костной ткани во время эмбриогенеза и ответственны за заживление переломов у взрослых путем повторения каскада клеточных событий, связанных с формированием эмбриональной кости [1]. Было идентифицировано более 20 различных BMPs, основанных на структурном сходстве, которые делятся на несколько подгрупп в зависимости от гомологии их аминокислотных последовательностей: группы BMP-2/BMP-4, BMP-5/BMP-6/BMP-7, BMP-9/BMP-10 и BMP-12/BMP-13/BMP-14, в то время как другие группы BMPs не обладают доказанной остеогенностью [2]. За последние несколько десятилетий рекомби-

нантные человеческие костные морфогенетические белки (rhBMPs) были широко изучены и использовались как остеоиндуктивные агенты для клинического применения в нейрохирургии и травматологии и ортопедии [3, 4]. На сегодняшний день rhBMP-2 и rhBMP-7 были одобрены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) для использования в клинической практике [3, 4]. Однако с учетом растущего числа недавних публикаций, связанных с возможными рисками развития осложнений после применения rhBMPs, существуют некоторые опасения по их использованию.

Терапевтические препараты на основе белка – это новый класс лекарств, которые в отличие от низкомолекулярных препаратов не синтезируются химическим путем, а производятся в живых клетках или организмах [5]. Разработки

в области молекулярной биологии и биомедицинской инженерии за последние несколько десятилетий позволили создать новые биотерапевтические средства для широкого спектра заболеваний опорно-двигательного аппарата. Несмотря на потенциал терапевтических средств на основе белков, недостатком, часто связанным с ними, является образование антилекарственных антител (anti-drug antibodies – ADA), что снижает биологическую активность и эффективность терапевтического средства [6]. Анатомическими участками, где происходит развитие ADA, являются вторичные лимфоидные органы, включая лимфатические узлы и селезенку, которые являются центральными для гуморальных ответов на иммуногены и патогены [7]. Кроме того, образование антител против чужеродного белка может быть связано с серьезными побочными эффектами, включая инфузионные реакции, аллергические реакции, анафилаксию, замедленную гиперчувствительность и аутоиммунные реакции [6, 8]. Пациенты, у которых вырабатываются антитела, подвергаются более высокому риску инфузионных реакций и замедленной гиперчувствительности, опосредованной иммунными комплексами, которые откладываются в тканях. Кроме того, терапевтические препараты на основе белка имеют склонность к агрегации во время производства, доставки или хранения [9]. Присутствие агрегатов в белковых лекарственных препаратах может вызывать неблагоприятные иммунные реакции у пациентов, которые могут повлиять на безопасность и эффективность; поэтому это вызывает озабоченность как у производителей, так и у регулирующих органов [10]. Хотя rhBMPs оказались в целом менее иммуногенными, чем белки, изолированные из тканей животных, было показано, что большинство из них индуцируют антитела. Количество доклинических и клинических исследований по применению rhBMPs растет, но было лишь несколько отдельных сообщений об образовании антител. Точная частота и клиническое значение обнаруженных антител не были четко продемонстрированы.

Цель работы – провести оценку возможных реакций со стороны иммунной системы при применении rhBMPs, уделяя особое внимание ADA и потенциальным стратегиям, направленным на минимизацию иммуногенности rhBMPs.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мы провели всесторонний поиск оригинальных работ, обзоров литературы, клинических случаев и метаанализов, демонстрирующих возможные реакции со стороны иммунной системы при применении rhBMPs. Поиск проведен в базах данных PubMed, Embase, Google Scholar, базе Кокрановской библиотеки (Cochrane Database). Ключевые слова поиска: костные морфогенетические белки; рекомбинантные костные морфогенетические белки; факторы роста; семейство

TGF- β , иммунная система; антилекарственные антитела; антитела; иммунная реакция; осложнение и клинические исследования; доклинические исследования; белковые лекарственные препараты; механизм возникновения; побочный эффект. Кроме того, был выполнен поиск в списке литературы каждой найденной публикации для выявления других актуальных работ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Образование антилекарственных антител (ADA)

Молекулярный механизм

ADA к лекарственным средствам могут генерироваться зависимым от Т-клеток или независимым от Т-клеток путем активации В-клеток [11]. В пути, зависимом от Т-клеток, моноклональные антитела действуют как антигены и воспринимаются антигенпрезентирующими клетками (АПК), процессируются и распознаются Т-клеткам посредством родственного взаимодействия между молекулами главного комплекса гистосовместимости класса II и рецепторами Т-клеток [11, 12]. В зависимости от цитокиновой среды во время этого взаимодействия могут возникать несколько различных иммунных ответов. В зависимом от Т-клеток ADA генерируются, когда Т-хелперы (Th) дифференцируются в фенотип Th1 или Th2, и после их родственных взаимодействий с В-клетками индуцируют пролиферацию плазматических клеток, которые секретируют ADA [13]. Напротив, для пути, независимого от Т-клеток, моноклональные антитела с несколькими эпитопами (часть макромолекулы антигена, которая распознается иммунной системой) могут сшивать рецепторы В-клеток и стимулировать дифференцировку В-клеток в плазматические клетки с образованием ADA [14]. Ранее было продемонстрировано, что примеси моноклональных антител могут увеличивать количество соседних эпитопов на антитела, потенциально направляя иммунный ответ в сторону независимого от Т-клеток пути за счет перекрестного связывания В-клеток [15].

Белковые агрегаты

Неблагоприятные иммунные реакции на терапевтические препараты на основе белков хорошо задокументированы и могут клинически проявляться в виде снижения эффективности препаратов, инфузионных реакций, синдрома высвобождения цитокинов, анафилаксии или даже смерти [16]. Присутствие агрегатов в терапевтических препаратах на основе белков было связано с повышенным риском этих нежелательных явлений [16]. Хотя процессы очистки в промышленных масштабах обычно приводят к получению высокочистого «мономерного» белка при производстве лекарственных препаратов на основе белков, большинство, если не все такие препараты, со временем образуют чистые необратимые агрегаты [16, 17]. Считается, что несколько внутренних и внешних факторов ответственны за иммунный ответ на белковые

агрегаты [18–20]. Внутренние факторы включают размер и количество агрегатов, а также наличие эпитопов на поверхности агрегатов. Предполагается, что нативные агрегаты более иммуногенны, чем агрегаты, состоящие из полностью денатурированного белка, хотя лежащий в их основе механизм до сих пор неизвестен [18, 19]. Внешние факторы, такие как маршрут, введение, наличие примесей, частота дозирования, иммунная толерантность к мономерному белку, сопутствующие болезни пациента, прием иммуномодуляторов и иммуномодулирующая активность рассматриваемого белка, могут влиять на иммунный ответ хозяина [20].

Известно, что BMPs, в частности BMP-2, имеет высокую склонность к агрегации при физиологических рН, что может усложнить разработку систем доставки данных белков [21]. Как правило, образование антител происходит либо зависимым от Т-клеток, либо независимым от Т-клеток образом. Как уже известно, антитела, образующиеся против белковой молекулы, называются ADA. Антиген, который вызывает образование ADA, относится к белковому агрегату, который несет один или несколько эпитопов Т- или В-клеток, и его не следует путать со специфическим доменом-мишенью ADA [22]. В зависимости от эпитопа ADA могут оказывать нейтрализующее действие на белок, что, в свою очередь, может влиять на его эффективность или фармакокинетику/динамику, или они могут связываться с областями белка, которые не влияют на безопасность или эффективность, практически без клинических проявлений [22]. Генерация ADA может быть особенно опасна в случае терапевтических средств, связанных с эндогенным белком. В этом случае они также смогут связываться и даже нейтрализовать этот нативный белок [23]. В этом ключе вышеупомянутые иммунные механизмы могут быть только преходящими и клинически незначимыми, если не установлен ответ ADA.

Одна из гипотез относительно механизма образования ADA заключается в том, что агрегаты распознаются и захватываются АПК, после чего происходит презентация линейных пептидных эпитопов Т-клеткам, которые затем вызывают активацию В-клеток и образование антител против мономерного белка через зависимый от Т-клеток механизм [24, 25]. Вторая гипотеза предполагает, что терапевтические белковые агрегаты, которые могут состоять из множества десятков мономеров, вероятно, следуют «иммунной» модели, в которой ответ независимым от Т-клеток образом может быть вызван перекрестным связыванием 12–16 антигенных рецепторов [24, 25]. Однако крупные белковые агрегаты не всегда могут быть достаточно регулярно и жестко упорядочены, чтобы вызвать ответ независимым от Т-клеток механизмом.

Иммуногенность носителей rhBMPs

Различные типы носителей были исследованы на предмет их способности доставлять rhBMPs и оценены на их общую эффективность

в достижении остеоиндукции. Носителей обычно классифицируют в соответствии с их природой происхождения и химическим составом на четыре основных класса: природные полимеры, синтетические полимеры, неорганические материалы и их композиты. Каждый класс имеет преимущества и недостатки по сравнению с другими [26]. Вот почему ни один из носителей для доставки BMPs не считается общепринятым.

Используемые в настоящее время rhBMP-2 и rhBMP-7 снабжены носителями на основе коллагена, но коллагеновые носители этих двух рекомбинантных белков получают из разных тканей. Рассасывающаяся коллагеновая губка rhBMP-2 (костный трансплантат INFUSE, Medtronic Sofamor Danek) изготовлена из бычьего коллагена типа I, полученного из ахиллова сухожилия, тогда как коллагеновая матрица rhBMP-7 получена из бычьей кости [27, 28]. Согласно ранее опубликованным результатам тестирования иммуногенности бычьего коллагена типа I, было выяснено, что носители более вероятно, чем сами rhBMPs, являются иммуногенными, но выработка антител, по-видимому, не мешает формированию костной ткани и не вызывает побочных эффектов [29]. Нет опубликованной информации о разнице между иммуногенностью коллагена, полученного из бычьих сухожилий, и коллагена, полученного из бычьих костей.

Клинические наблюдения показывают, что от 2 до 4 % всего населения земного шара обладают врожденным иммунитетом (аллергией) к бычьему коллагену I типа [30]. Burkus и соавт. предположили, что относительно высокая частота образования антител против бычьего коллагена связана с предыдущим воздействием либо клиническими, либо экологическими факторами [31]. С учетом возможности реакции гиперчувствительности многие врачи рекомендуют проводить кожные аллергические пробы перед лечением. Однако иммунный ответ на бычий коллаген типа I, используемый в качестве заменителя костного трансплантата, был ограничен сообщениями о повышенных уровнях циркулирующих антител без явного влияния на эффективность самого имплантата [32]. Дополнительным компонентом для носителя rhBMP-7 является карбоксиметилцеллюлоза, представляющая собой полусинтетический анионный водорастворимый полимер, полученный из целлюлозы, который был выбран для добавления к бычьему коллагену I типа для улучшения эксплуатационных свойств [33]. Этот физиологически инертный, биоразлагаемый полимер увеличивает вязкость и когезивность средства доставки, так что хирург может легко формовать материал. Иммуногенность карбоксиметилцеллюлозы не тестировалась в клинических испытаниях по использованию rhBMPs. Некоторые синтетические полимерные носители, такие как полимолочная кислота и полигликолевая кислота, связаны с воспалительными реакциями, но, скорее всего, это ре-

акции на инородные тела, а не иммунные реакции [34, 35].

Иммуногенность rhBMPs

RhBMPs имеют некоторые характерные особенности, которые отличают их от других терапевтических препаратов на основе белков в отношении иммуногенности. В то время как большинство препаратов используется для коррекции приобретенного или генетического дефицита, вызванного отсутствием или плохой экспрессией определенного нативного белка, rhBMPs были разработаны для стимуляции восстановления костных дефектов после травм или заболеваний опорно-двигательного аппарата [36]. То есть rhBMPs вводят локально для решения проблем, связанных с регенерацией и восстановлением костной ткани, в отличие от большинства других препаратов, которые вводятся системно. Путь введения может быть важным фактором, влияющим на частоту индукции антител, поскольку считается, что подкожное и внутримышечное введение терапевтических препаратов на основе белков может быть более иммуногенным, чем внутривенное, пероральное или аэрозольное введение [37].

BMPs представляют собой белки, секретируемые в виде растворимых факторов, обладающих аутокринным и паракринным действием [1]. Терапевтическое применение BMPs, по-видимому, не вызывает каких-либо системных токсических эффектов. Эта особенность может быть связана с наличием очень сложной ауторегуляторной системы, блокирующей действие BMPs на различных уровнях, и быстрым связыванием активных молекул BMP с внеклеточными факторами, модулирующими активность BMPs. Кроме того, некоторые исследования *in vivo* показывают, что rhBMP-2 и rhBMP-7 настолько быстро и интенсивно выводятся из кровотока, что его системное присутствие незначительно [38, 39]. Поскольку образование антител частично связано как с количеством используемого агента (дозировка), так и с продолжительностью воздействия, препараты, которые быстро выводятся из системного кровообращения, менее склонны стимулировать иммунный ответ, чем те, которые имеют более длительный период полураспада [38, 39].

Реакции гиперчувствительности могут не вызывать серьезного беспокойства при применении BMPs, поскольку они редко возникают с белками человеческого и рекомбинантного происхождения, особенно у пациентов с полностью функциональным эндогенным белковым аналогом. Как описано ранее, BMPs используются не для замены дефицитных белков, а для усиления регенерации костной ткани за счет более интенсивного рекрутирования клеток с остеогенным потенциалом [3, 4]. Таким образом, маловероятно, что BMPs будут выглядеть как чужеродные агенты для иммунной системы хозяина/пациента. Однако повторное введение BMPs не рекомендуется пациентам, у которых обнаружены антитела – из-за возможности раз-

вития иммунопатологических реакций [4].

Механизм, лежащий в основе индукции ADA против rhBMPs, включает «нарушение» иммунной толерантности к эндогенному белку, тогда как гуморальный ответ на нечеловеческие белки растительного или бактериального происхождения основан на классической реакции на чужеродный агент [22, 23]. Как нарушается иммунная толерантность к собственным антигенам, до конца не изучено, но один из установленных способов нарушения толерантности – это повторяющееся представление собственных антигенов. Хотя повторное введение других рекомбинантных белков человека, таких как инсулин и гормон роста, не повлияло на их терапевтическую активность, необходимо провести дальнейшие исследования клинических последствий повторного воздействия rhBMPs. Cargeon и соавт. недавно продемонстрировали, что многократное воздействие rhBMP-2 не приводило к клинически выявляемым аллергическим реакциям, хотя анализы на антитела не проводились [40]. Авторы сообщают об осложнениях в виде отека шеи, дисфагии и резорбции костей после введения rhBMP-2. Однако эти осложнения, по-видимому, связаны не с иммунными реакциями, а с высокими дозами и воспалительной реакцией. Клиническое значение иммунного ответа на экзогенно введенные rhBMPs остается неясным, и даже точная частота образования ненейтрализующих и нейтрализующих антител против rhBMP-2 и rhBMP-7 еще не выяснена. Однако, основываясь на последних результатах клинических исследований, связанных с использованием rhBMPs, маловероятно, что ADA, если они присутствуют, вызывают опасные для жизни осложнения, такие как чистая эритроцитарная аплазия, вызванная перекрестной реактивностью антител к эндогенному эритропоэтину. Одним потенциальным исключением может быть период беременности, при котором ADA к rhBMPs могут проникать через плаценту и потенциально повлиять на развивающийся плод. При этом *in vivo* было показано, что rhBMP-2 вырабатывает ADA, способные проникать через плаценту [41]. В другом доклиническом исследовании было продемонстрировано, что гипериммунизация rhBMP-7 беременных самок кроликов не приводила к рождению помета с какими-либо дефектами [42]. Поскольку влияние образования материнских антител против rhBMP-2 или rhBMP-7 на развитие плода неизвестно, использование rhBMPs противопоказано женщинам с детородным потенциалом.

Было проведено несколько клинических испытаний по использованию rhBMPs, в которых сообщались результаты тестирования на иммуногенность, большинство из которых продемонстрировали низкую скорость образования ADA. Продукция антител была временной и, по-видимому, не влияла на частоту побочных эффектов или на клинические исходы. Однако все исследования просто выявляли ненейтра-



Рис. 1. Факторы, влияющие на иммуногенность биологических агентов

лизирующие антитела методами ИФА без описания статистической значимости.

Сравнение иммуногенности между rhBMP-2 и rhBMP-7

В целом трудно сравнивать иммуногенность rhBMPs. Частота обнаружения антител сильно зависит от чувствительности и специфичности анализа. Не существует стандартизированных единиц или методов точного контроля для обнаружения антител против BMPs. Кроме того, частота обнаружения антител может зависеть от различных факторов (рис. 1). По этим причинам сравнение частоты встречаемости антител к rhBMP-7 с частотой встречаемости антител к rhBMP-2 может вводить в заблуждение, поскольку тесты проводились в разных лабораториях с использованием различных методов [43]. Еще в 2004 г. Mire-Sluis и соавт. опубликовали работу с рекомендациями по разработке иммунологических анализов [44]. Этим рекомендациям в настоящее время обычно следуют в промышленности, и ожидается, что они будут способствовать уменьшению расхождений между анализами, используемыми для оценки иммуногенности родственных терапевтических белков. Как было сказано выше, BMPs являются членами надсемейства TGF- β и как таковые имеют структурное сходство. Их можно разделить на три подкласса в соответствии с производными аминокислотными последовательностями. BMP-2 и BMP-7 принадлежат к разным подклассам, и между ними существует примерно 70%-ная идентичность аминокислот [2-4]. До сих пор неизвестно, влияет ли небольшое структурное различие между BMP-2 и BMP-7 на характер иммуногенности. Возможно, другие ранее упомянутые факторы оказывают более глубокое влияние на иммуногенность BMPs, чем сама их структура.

На иммуногенность биологического агента может влиять ряд факторов:

- факторы, относящиеся к самому лекарству (первичная последовательность, аллотип и посттрансляционные модификации, такие как гликозилирование),
- целевой антиген (растворимый или связанный с клеткой),
- конечный лекарственный препарат (состав, дозировка, способ введения, наличие примесей или агрегатов),
- факторы, связанные с пациентом (заболевание, которое лечат, активность заболевания, сопутствующая терапия и генетические факторы).

Было показано, что скорость образования ADA при использовании rhBMP-7 выше, чем при rhBMP-2 [45]. Причины высокой частоты образования антител к rhBMP-7 неизвестны. Walker и Wright предположили, что увеличенное время выведения из кровотока может быть ответственно за повышенное образование антител, но профили экскреции и кинетические свойства rhBMP-7 не отличались от таковых, описанных для rhBMP-2 в недавно проведенном экспериментальном исследовании *in vivo* с использованием модели поясничного спондилодеза [46]. Они также рекомендовали послеоперационное серологическое тестирование, особенно у пациентов, получающих rhBMP-7, из-за опасений, что последующее воздействие вызовет значительный иммунный ответ. Однако исследования безопасности повторного введения rhBMP-7 не проводились.

Доклинические и клинические исследования

Учитывая иммуногенность терапевтических средств на основе белков и их последствия, ис-



Рис. 2. Стратегии мониторинга лекарственных средств

следователи выступают за мониторинг сыровоточных уровней самих препаратов и ADA, хотя экономическая эффективность этой практики еще не была так убедительно продемонстрирована при применении rhBMPs. Теоретически измерение концентраций циркулирующего препарата может позволить клиницистам персонализировать дозировку, избегая как недостаточного воздействия препарата, что может снизить эффективность лечения, так и чрезмерного воздействия препарата, что может увеличить риск побочных эффектов. В сочетании с измерениями ADA измерения концентрации лекарственного средства также могут быть полезны при оценке отсутствия ответа на терапию (рис. 2).

Потенциальный алгоритм принятия решения о мониторинге лекарственных средств, объединяющий информацию о концентрации лекарственного средства в плазме/сыворотке и иммуногенных реакциях, можно использовать для оценки пациентов, получающих лечение рекомбинантным человеческим костным морфогенетическим белком (rhBMP). Алгоритм также иллюстрирует, как анализы потенциально могут помочь в определении стратегии лечения. Например, если потеря эффективности rhBMP-2 связана с образованием антилекарственных антител (ADA), тогда эффективным может быть другой rhBMP, как например rhBMP-7. Однако если потеря эффективности не связана с развитием ADA, то лучшей стратегией может быть переход на другой терапевтический класс.

Многие отчеты доклинических и клинических испытаний фактически содержат только краткие сведения о результатах обнаружения антител без подробностей о чувствительности или селективности используемых аналитических методов [47–49]. В своей работе Poynton и Lane заявили, что образование антител против rhBMP-2 и его носителя абсорбируемой колла-

геновой губки (АКГ) изучалось после имплантации крысам, собакам и нечеловекообразным приматам [50]. Было замечено, что у собак и приматов были обнаружены ADA против rhBMP-2. При этом образование антител против бычьего коллагена типа I наблюдались лишь у нечеловекообразных приматов. В целом все иммунные ответы были преходящими, а титры ADA низкими. Ни у одного животного с антителами к rhBMP-2 или бычьему коллагену I типа не развилось клинических симптомов или аллергических реакций. Присутствие антител, по-видимому, не влияло на эффективность rhBMP-2. Freire и соавт. в своей работе *in vitro* показали, что ряд антител против BMP-2 образовывали иммунные комплексы с BMP-2, которые могут связываться с клеточным рецептором BMP, тогда как другие комплексы BMP-2/анти-BMP-2 не связывались [51]. Чтобы исследовать, способны ли данные антитела против BMP-2 запустить опосредованную антителами костную регенерацию *in vivo*, антитела против BMP-2 иммобилизовали на АКГ и хирургическим путем помещали в область дефекта свода черепа. Микрокомпьютерный томографический анализ через 2, 4 и 6 недель показал, что некоторые антитела против BMP-2, иммобилизованные на носителе, опосредовали значительную регенерацию кости, тогда как другие клоны не опосредовали какую-либо регенерацию кости.

В первом клиническом испытании применения rhBMP-2 на носителе АКГ был проведен серийный анализ крови у 11 пациентов для обнаружения антител против rhBMP-2 и бычьего коллагена I типа [52]. Антитела к rhBMP-2 не вырабатывались ни у одного из этих пациентов. Также ни у одного из пациентов не вырабатывались антитела против носителя, что свидетельствует об отсутствии перекрестной реактивности с бычьим коллагеном. Однако методы анализа и точные временные точки испытаний

Клинические исследования, в которых проводился анализ возможной иммуногенности при использовании rhBMP-2 и rhBMP-7

Источник	Тип rhBMP	Количество пациентов		Дозировка, мг	Кол-во пациентов с антителами		Концентрация rhBMP в плазме/сыворотке, мг/мл	Сроки отслеживания	Метод анализа
		Исследуемая группа	Контрольная группа		абс.	%			
Hwang и др. [1]	rhBMP-7	144	58	7,0	37	25,6	-	6 недель, 3 месяца, 6 месяцев, 12 месяцев и 24 месяца после операции	ИФА
Kim и др. [2]	rhBMP-2	65	62	0,5–2,0	-		-	4 недели после операции	-
Burkus и др. [3]	rhBMP-2	239	224	4,2–40,0	2–15	0,8–6,4	1,5–2,0	1,5 месяца, 3 месяцев, 6 месяцев и 12 месяцев после операции	ИФА
Jones и др. [4]	rhBMP-2	13	10	12,0	0	0	1,5	12 месяцев после операции	ИФА
Sauerborn и др. [5]	rhBMP-7	89	231	3,5	62	70	-	6 недель, 3 месяца, 6 месяцев, и 12 месяцев после операции	ИФА
Moshel и тд. [6]	rhBMP-2	1	1	-	1	100	-	5 месяцев после операции	Иммуноблоттинг
Boden и др. [7]	rhBMP-2	11	отсутствуют	1,3 и 2,6	0	0	1,5	-	-
Govender и др. [8]	rhBMP-2	300	150	6,0 и 12,0	1	0,7	0,75 и 1,5	6 и 20 недель после операции	-
Friedlaender и тд. [9]	rhBMP-7	63	61	7,0	6	9,5	-	6 недель, 3 месяца, 6 месяцев, 12 месяцев и 24 месяца после операции	ИФА
Vaccaro и др. [10]	rhBMP-7	207	86	7,0	53	25,6	0,875	6 недель, 3 месяца, 6 месяцев, 12 месяцев, 24 месяца и 36 + месяцев после операции	ИФА, биопроба

Примечание: - в данном исследовании не указано; ИФА – иммуноферментный анализ.

не были указаны. В таблице 1 представлены клинические исследования, в которых проводился анализ возможной иммуногенности со стороны использования rhBMP-2 [53–58]. Тем не менее эти исследования показывают, что образование ADA против rhBMP-2 происходит редко и без клинических последствий. Важно отметить, что неблагоприятные клинические эффекты не были связаны с этим образованием антител. Иммунологически связанных нежелательных явлений, включая реакции гиперчувствительности, не сообщалось. Хотя ни одно из исследований не тестировало нейтрализующие

антитела, частота образования самих антител была настолько низкой, что нейтрализующей активностью также можно было пренебречь. Эти результаты согласуются с известными характеристиками BMPs в отношении иммуногенности, описанными выше.

Geesink и соавт. впервые анализировали иммуногенность rhBMP-7 и его носитель бычий коллаген I типа у 6 пациентов, получавших rhBMP-7 на носителе, и у 6 пациентов, получавших бычий коллаген I типа по поводу дефекта малоберцовой кости критического размера [59]. Образцы сыворотки у данных пациентов были

собраны до операции и через одну и 10 недель после операции. У двух пациентов, получавших только бычий коллаген I типа, через 10 недель после операции выработались антитела против коллагена. Ни у одного пациента не обнаружили антитела против rhBMP-7. Никаких местных реакций в месте дефекта малоберцовой кости не наблюдалось, и о нежелательных явлениях не сообщалось. В другом проспективном рандомизированном клиническом исследовании, в котором rhBMP-7 сравнивали с аутооттрансплантатом при лечении несращения большеберцовой кости, все 124 пациента прошли скрининг на наличие антител к rhBMP-7 и его носителю, бычьему коллагену I типа, с помощью ИФА в 1, 2, 3, 6, 9, 12 и 24 месяца после операции [60].

Специфичность ответа была подтверждена с помощью вестерн-блоттинга для тех пациентов, которые демонстрировали положительную активность в скрининговом анализе. ADA к rhBMP-7 образовались у 10 % пациентов, а антитела к носителю были обнаружены у 5 % пациентов, получавших этот матрикс. Все реакции антител на rhBMP-7 были преходящими, и все титры были низкими. У всех пациентов с реакцией выработки ADA против rhBMP-7 через 24 месяца после операции был эффект сращения дефекта большеберцовой кости. В таблице 1 представлены клинические исследования, в которых проводился анализ возможной иммуногенности со стороны использования rhBMP-7 [60–63]. В работах с rhBMP-7 высокая частота выявления антител к данному rhBMP в предоперационный момент времени позволяет предположить, что либо чувствительность анализа, используемого в этих исследованиях, слишком высока, либо субпопуляция пациентов, ранее не подвергавшихся лечению, является носителем существовавших ранее анти-антител к rhBMP-7. Кроме того, эти данные свидетельствуют о том, что нейтрализующая активность достигает пика после того, как продукт удаляется с участка и начинается формирование кости. Следовательно, маловероятно, что rhBMP-7 будет нейтрализован, поскольку считается, что rhBMP-7 инициирует каскад формирования новой костной ткани, который начинается в течение первых часов после имплантации. Таким образом, считается, что

BMP-опосредованный процесс формирования кости инициирован и идет полным ходом, прежде чем через несколько недель появятся антитела.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опасения по поводу иммуногенности терапевтических препаратов на основе белков возникли с тех пор, как стал доступен для клинического применения первый препарат. Появление технологии рекомбинантной ДНК сделало возможным производить большое количество препаратов, которые идентичны или почти идентичны нативным белкам человека. Однако образование ADA может происходить даже с этими рекомбинантными белками. Иммунологические исследования перед разработкой новых терапевтических препаратов на основе белков являются обязательными, и на сегодняшний день существует ряд рекомендаций и стратегий для анализа обнаруженных антител против данных типов препаратов. Тем не менее зарегистрированные случаи иммуногенности конкретного белка сильно различаются из-за отсутствия стандартизации методов. Кроме того, иммуногенность зависит от множества факторов, которые могут быть связаны непосредственно с пациентом, сопутствующим лечением или дозировкой используемого лекарственного средства. Сегодня два коммерчески доступных rhBMP – такие как rhBMP-2 и rhBMP-7, используются в травматологии и ортопедии, нейрохирургии и ЧЛХ. Исходя из данных, представленных в этой работе, мы пришли к заключению, что в различных клинических испытаниях не наблюдались иммунологически связанные нежелательные явления, а образование ADA никогда не оказывало отрицательного воздействия на формирование новой костной ткани и клинические исходы. Тем не менее клиницисты должны знать о возможных клинических последствиях, вызванных иммуногенностью BMPs, причем необходимо дальнейшее изучение профиля безопасности у беременных женщин и плода, а также реакции иммунной системы на повторные введения rhBMPs.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sampath T.K., Reddi A.H. Discovery of bone morphogenetic proteins – A historical perspective. *Bone*. 2020;140:115548. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115548>.
2. Gomez-Puerto M.C., Iyengar P.V., García de Vinuesa A. et al. Bone morphogenetic protein receptor signal transduction in human disease. *J Pathol*. 2019;247(1):9–20. <https://doi.org/10.1002/path.5170>.
3. Lykissas M., Gkiatas I. Use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in spine surgery. *World J Orthop*. 2017;8(7):531–535. <https://doi.org/10.5312/wjo.v8.i7.531>.
4. Lowery J.W., Rosen V. Bone Morphogenetic Protein-Based Therapeutic Approaches. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10(4):a022327. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022327>.
5. Dimitrov D.S. Therapeutic proteins. *Methods Mol Biol*. 2012;899:1–26. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-921-1_1.
6. de Spéville B.D., Moreno V. Antidrug Antibodies and Drug Development: Challenges in the Immunotherapy Era. *Clin Cancer Res*. 2021;27(10):2669–2671. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-0168>.
7. Bloem K., Hernández-Breijo B., Martínez-Feito A., Rispens T. Immunogenicity of Therapeutic Antibodies: Monitoring Antidrug Antibodies in a Clinical Context. *Ther Drug Monit*. 2017;39(4):327–332. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000404>.
8. Garcês S., Demengeot J. The Immunogenicity of Biologic Therapies. *Curr Probl Dermatol*. 2018;53:37–48. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9888-8_1.

org/10.1159/000478077.

9. Wang W, Roberts C.J. Protein aggregation - Mechanisms, detection, and control. *Int J Pharm.* 2018;550(1-2):251–268. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.08.043>.
10. Pham N.B., Meng W.S. Protein aggregation and immunogenicity of biotherapeutics. *Int J Pharm.* 2020;585:119523. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119523>.
11. Vultaggio A., Perlato M., Nencini F. et al. How to Prevent and Mitigate Hypersensitivity Reactions to Biologicals Induced by Anti-Drug Antibodies? *Front Immunol.* 2021;12:765747. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.765747>.
12. Meunier S., de Bourayne M., Hamze M. et al. Specificity of the T Cell Response to Protein Biopharmaceuticals. *Front Immunol.* 2020;11:1550. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01550>.
13. Cassotta A., Mikol V., Bertrand T. et al. A single T cell epitope drives the neutralizing anti-drug antibody response to natalizumab in multiple sclerosis patients. *Nat Med.* 2019;25(9):1402–1407. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0568-2>.
14. McMaster M., Mohr K., Page A. et al. Epitope characterization of anti-drug antibodies—a tool for discovery and health: an overview of the necessity of early epitope characterization to avoid anti-drug antibodies and promote patient health. *Expert Opin Biol Ther.* 2021;21(6):705–715. <https://doi.org/10.1080/14712598.2021>.
15. Vaisman-Mentesh A., Gutierrez-Gonzalez M., DeKosky B.J., Wine Y. The Molecular Mechanisms That Underlie the Immune Biology of Anti-drug Antibody Formation Following Treatment With Monoclonal Antibodies. *Front Immunol.* 2020;11:1951. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01951>.
16. Mukherjee J., Gupta M.N. Protein aggregates: Forms, functions and applications. *Int J Biol Macromol.* 2017;97:778–789. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.014>.
17. Baum J., Raleigh D. Protein Aggregation. *Protein Sci.* 2018;27(7):1149–1150. <https://doi.org/10.1002/pro.3446>.
18. Devi S., Chaturvedi M., Fatima S., Priya S. Environmental factors modulating protein conformations and their role in protein aggregation diseases. *Toxicology.* 2022;465:153049. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.153049>.
19. Kraus T., Winter G., Engert J. Test models for the evaluation of immunogenicity of protein aggregates. *Int J Pharm.* 2019;559:192–200. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.01.015>.
20. Nabhan M., Pallardy M., Turbica I. Immunogenicity of Bioproducts: Cellular Models to Evaluate the Impact of Therapeutic Antibody Aggregates. *Front Immunol.* 2020;11:725. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00725>.
21. Sundermann J., Zagst H., Kuntsche J. et al. Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2) Aggregates Can be Solubilized by Albumin—Investigation of BMP-2 Aggregation by Light Scattering and Electrophoresis. *Pharmaceutics.* 2020;12(12):1143. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121143>.
22. Lundahl M.L.E., Fogli S., Colavita P.E., Scanlan E.M. Aggregation of protein therapeutics enhances their immunogenicity: causes and mitigation strategies. *RSC Chem Biol.* 2021;2(4):1004–1020. <https://doi.org/10.1039/d1cb00067e>.
23. Arslan F.B., Ozturk Atar K., Calis S. Antibody-mediated drug delivery. *Int J Pharm.* 2021;596:120268. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120268>.
24. Sensi M., Berto M., Gentile S. et al. Anti-drug antibody detection with label-free electrolyte-gated organic field-effect transistors. *Chem Commun (Camb).* 2021;57(3):367–370. <https://doi.org/10.1039/d0cc03399e>.
25. Zhang P., Jain P., Tsao C. et al. Proactively Reducing Anti-Drug Antibodies via Immunomodulatory Bioconjugation. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2019;58(8):2433–2436. <https://doi.org/10.1002/anie.201814275>.
26. Kowalczewski C.J., Saul J.M. Biomaterials for the Delivery of Growth Factors and Other Therapeutic Agents in Tissue Engineering Approaches to Bone Regeneration. *Front Pharmacol.* 2018;9:513. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00513>.
27. Galimberti F., Lubelski D., Healy A.T. et al. A Systematic Review of Lumbar Fusion Rates With and Without the Use of rhBMP-2. *Spine (Phila Pa 1976).* 2015;40(14):1132–1139. <https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000000971>.
28. Schierano G., Canuto R.A., Mauthe von Degerfeld M. et al. Role of rhBMP-7, Fibronectin, And Type I Collagen in Dental Implant Osseointegration Process: An Initial Pilot Study on Mini-pig Animals. *Materials (Basel).* 2021;14(9):2185. <https://doi.org/10.3390/ma14092185>.
29. Yang W., Gomes R.R., Brown A.J. et al. Chondrogenic differentiation on perlecan domain I, collagen II, and bone morphogenetic protein-2-based matrices. *Tissue Eng.* 2006;12(7):2009–2024. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2009>.
30. Lynn A.K., Yannas I.V., Bonfield W. Antigenicity and immunogenicity of collagen. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004;71(2):343–354. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30096>.
31. Burkus J.K., Sandhu H.S., Gornet M.F., Longley M.C. Use of rhBMP-2 in combination with structural cortical allografts: clinical and radiographic outcomes in anterior lumbar spinal surgery. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87(6):1205–1212. <https://doi.org/10.2106/JBJS.D.02532>.
32. Schmidt T., Stachon S., Mack A. et al. Evaluation of a thin and mechanically stable collagen cell carrier. *Tissue Eng Part C Methods.* 2011;17(12):1161–1170. <https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2011.0201>.
33. Pluhar G.E., Turner A.S., Pierce A.R. et al. A comparison of two biomaterial carriers for osteogenic protein-1 (BMP-7) in an ovine critical defect model. *J Bone Joint Surg Br.* 2006 Jul;88(7):960–966. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.88B7.17056>.
34. Agrawal V., Sinha M. A review on carrier systems for bone morphogenetic protein-2. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2017;105(4):904–925. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33599>.
35. Begam H., Nandi S.K., Kundu B., Chanda A. Strategies for delivering bone morphogenetic protein for bone healing. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017;70(1):856–869. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.09.074>.
36. Halloran D., Durbano H.W., Nohe A. Bone Morphogenetic Protein-2 in Development and Bone Homeostasis. *J Dev Biol.* 2020;8(3):19. <https://doi.org/10.3390/jdb8030019>.
37. Hamuro L., Kijanka G., Kinderman F. et al. Perspectives on Subcutaneous Route of Administration as an Immunogenicity Risk Factor for Therapeutic Proteins. *J Pharm Sci.* 2017;106(10):2946–2954. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.05.030>.
38. Louis-Ugbo J., Kim H.S., Boden S.D. et al. Retention of 125I-labeled recombinant human bone morphogenetic protein-2 by biphasic calcium phosphate or a composite sponge in a rabbit posterolateral spine arthrodesis model. *J Orthop Res.* 2002;20(5):1050–1059. [https://doi.org/10.1016/S0736-0266\(02\)00011-6](https://doi.org/10.1016/S0736-0266(02)00011-6).
39. Chen F., Bi D., Cao G. et al. Bone morphogenetic protein 7-transduced human dermal-derived fibroblast cells differentiate into osteoblasts and form bone in vivo. *Connect Tissue Res.* 2018;59(3):223–232. <https://doi.org/10.1080/03008207.2017.13>

53085.

40. Carreon L.Y., Glassman S.D., Brock D.C. et al. Adverse events in patients re-exposed to bone morphogenetic protein for spine surgery. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2008;33(4):391–393. <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181642a49>.
41. US Food and Drug Administration: Information on Premarket Approval Applications. INFUSE Bone Graft. Rockville, MD: US Food and Drug Administration, 2002 URL: <http://www.fda.gov/cdrh/pdf5/p050053.html> (Accessed 12 February 2009).
42. Pierce A.R., Alaoui-Ismaili M.H., Denison N. et al. Teratology studies in NZW rabbits following immunization with bone morphogenetic protein-7 (BMP-7). *Toxicol Sci*. 2007; 96:444.
43. Nencini F., Pratesi S., Petroni G. et al. Assays and strategies for immunogenicity assessment of biological agents. *Drug Dev Res*. 2014;75(1):4–6. <https://doi.org/10.1002/ddr.21184>.
44. Mire-Sluis A.R., Barrett Y.C., Devanarayan V. et al. Recommendations for the design and optimization of immunoassays used in the detection of host antibodies against biotechnology products. *J Immunol Methods*. 2004;289(1–2):1–16. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2004.06.002>.
45. Cortez M.A., Masrorpour F., Ivan C. et al. Bone morphogenetic protein 7 promotes resistance to immunotherapy. *Nat Commun*. 2020;11(1):4840. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18617-z>. Erratum in: *Nat Commun*. 2020;11(1):5144.
46. Walker D.H., Wright N.M. Bone morphogenetic proteins and spinal fusion. *Neurosurg Focus*. 2002;13(6):e3. <https://doi.org/10.3171/foc.2002.13.6.4>.
47. Makhni M.C., Caldwell J.M., Saifi C. et al. Tissue engineering advances in spine surgery. *Regen Med*. 2016;11(2):211–222. <https://doi.org/10.2217/rme.16.3>.
48. Lee K.B., Taghavi C.E., Murray S.S. et al. BMP induced inflammation: a comparison of rhBMP-7 and rhBMP-2. *J Orthop Res*. 2012;30(12):1985–1994. <https://doi.org/10.1002/jor.22160>.
49. Kim R.Y., Seong Y., Cho T.H. et al. Local administration of nuclear factor of activated T cells (NFAT) c1 inhibitor to suppress early resorption and inflammation induced by bone morphogenetic protein-2. *J Biomed Mater Res A*. 2018;106(5):1299–1310. <https://doi.org/10.1002/jbma.a.36332>.
50. Poynton A.R., Lane J.M. Safety profile for the clinical use of bone morphogenetic proteins in the spine. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2002;27(16):40–48. <https://doi.org/10.1097/00007632-200208151-00010>.
51. Freire M.O., You H.K., Kook J.K. et al. Antibody-mediated osseous regeneration: a novel strategy for bioengineering bone by immobilized anti-bone morphogenetic protein-2 antibodies. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(23–24):2911–2918. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0584>.
52. Hwang C.J., Vaccaro A.R., Lawrence J.P. et al. Immunogenicity of bone morphogenetic proteins. *J Neurosurg Spine*. 2009;10(5):443–451. <https://doi.org/10.3171/2009.1.SPINE08473>.
53. Kim H.J., Chung J.H., Shin S.Y. et al. Efficacy of rhBMP-2/Hydroxyapatite on Sinus Floor Augmentation: A Multicenter, Randomized Controlled Clinical Trial. *J Dent Res*. 2015;94(9):158–165. <https://doi.org/10.1177/0022034515594573>.
54. Burkus J.K., Gornet M.F., Glassman S.D. et al. Blood serum antibody analysis and long-term follow-up of patients treated with recombinant human bone morphogenetic protein-2 in the lumbar spine. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2011;36(25):2158–2167. <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3182059a8c>.
55. Jones A.L., Bucholz R.W., Bosse M.J. et al. BMP-2 Evaluation in Surgery for Tibial Trauma-Allgraft (BESTT-ALL) Study Group. Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2006;88(7):1431–1441. <https://doi.org/10.2106/JBJS.E.00381>.
56. Moshel Y.A., Hernandez E.I., Kong L. et al. Acute renal insufficiency, supraventricular tachycardia, and confusion after recombinant human bone morphogenetic protein-2 implantation for lumbosacral spine fusion. *J Neurosurg Spine*. 2008;8(6):589–593. <https://doi.org/10.3171/SPI.2008.8/6/589>.
57. Boden S.D., Zdeblick T.A., Sandhu H.S., Heim S.E. The use of rhBMP-2 in interbody fusion cages. Definitive evidence of osteoinduction in humans: a preliminary report. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2000;25(3):376–381. <https://doi.org/10.1097/00007632-200002010-00020>.
58. Govender S., Csimma C., Genant H.K. et al. BMP-2 Evaluation in Surgery for Tibial Trauma (BESTT) Study Group. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *J Bone Joint Surg Am*. 2002;84(12):2123–2134. <https://doi.org/10.2106/00004623-200212000-00001>.
59. Geesink R.G., Hoefnagels N.H., Bulstra S.K. Osteogenic activity of OP-1 bone morphogenetic protein (BMP-7) in a human fibular defect. *J Bone Joint Surg Br*. 1999;81(4):710–718. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.81b4.9311>.
60. Friedlaender G.E., Perry C.R., Cole J.D. et al. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J Bone Joint Surg Am*. 2001;83(2):151–158.
61. Hwang C.J., Vaccaro A.R., Hong J. et al. Immunogenicity of osteogenic protein 1: results from a prospective, randomized, controlled, multicenter pivotal study of uninstrumented lumbar posterolateral fusion. *J Neurosurg Spine*. 2010;13(4):484–493. <https://doi.org/10.3171/2010.4.SPINE09957>.
62. Sauerborn M., van de Vosse E., Delawi D. et al. Natural antibodies against bone morphogenic proteins and interferons in healthy donors and in patients with infections linked to type-1 cytokine responses. *J Interferon Cytokine Res*. 2011;31(9):661–669. <https://doi.org/10.1089/jir.2010.0075>.
63. Vaccaro A.R., Whang P.G., Patel T. et al. The safety and efficacy of OP-1 (rhBMP-7) as a replacement for iliac crest autograft for posterolateral lumbar arthrodesis: minimum 4-year follow-up of a pilot study. *Spine J*. 2008; 8(3): 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2007.03.012>.

Сведения об авторах

У. Ф. Мухаметов – кандидат медицинских наук;
С. В. Люлин – доктор медицинских наук;
Д. Ю. Борзунов – доктор медицинских наук, доцент;
И. Ф. Гареев – старший научный сотрудник.

Information about the authors

U. F. Mukhametov – Ph.D. in medicine;
S. V. Lyulin – Doctor of Science (Medicine);
D. Yu. Borzunov – Doctor of Science (Medicine),
Associate Professor;
I. F. Gareev –Senior Researcher.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflicts of interests. The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.
Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза не применима.
Ethics approval is not applicable.

Информированное согласие не требуется.
Informed consent is not required.

Статья поступила в редакцию 01.04.2022; одобрена после рецензирования 05.07.2022; принята к публикации 26.09.2022.
The article was submitted 01.04.2022; approved after reviewing 05.07.2022; accepted for publication 26.09.2022.