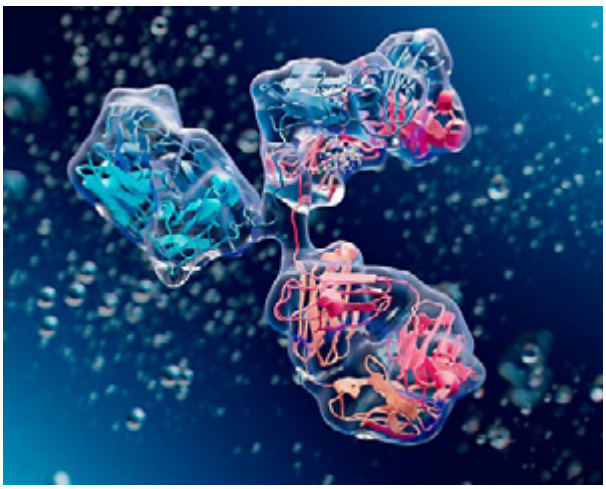
Бактериология, 2026, том 11, №3, с. 5–7
Bacteriology, 2026, volume 11, No 3, p. 5–7

Иммунобиологические средства для предэкспозиционной профилактики и лечения сибирской язвы



При лечении сибиреязвенной инфекции одним из важнейших элементов является нейтрализация токсина, выделяемого возбудителем в организме человека и являющегося основным фактором его патогенности. Для данной цели используются специфические антитела (нативные, моноклональные (МКА)) или их активные фрагменты.

Первое время, в начале пути развития иммунотерапии при сибирской язве, использовали гетерологичную сибиреязвенную сыворотку, которая нейтрализовала у морских свинок отечный фактор токсина и предотвращала гибель инфицированных обезьян. В медицинской практике использование сыворотки позволило резко снизить летальность при сибирской язве: с 50 до 3% при введении внутримышечно или внутривенно до 200–500 см^3 за один раз, повторяя через 1–2 дня до клинического улучшения состояния больных. Существенным недостатком использования сыворотки в качестве специфической терапии является сопутствующая сенсибилизация организма людей балластными сывороточными белками лошади, что может приводить к анафилактическому шоку. У лиц, ранее сенсибилизированных к этим белкам, нередко проявлялись аллергические реакции, иногда с очень тяжелой картиной анафилаксии. Поэтому с 1961 г. лечебную сыворотку в медицинской практике заменили противосибиреязвенным иммуноглобулином, используемым для серотерапии и серопрофилактики сибирской язвы.

Препарат иммуноглобулина представляет собой 10%-й раствор иммунологически наиболее активных белковых γ- и β-глобулиновых фракций, выделенных из сыворотки крови лошадей, иммунизированных вакцинным штаммом СТИ-1, авирулентным штаммом Ихтиман и специфическим токсином. С лечебной целью глобулин вводится внутримышечно немедленно по установлению диагноза, обычно в сочетании с антибиотиками, ежесуточно в количестве 30–50 см^3 при среднетяжелом и тяжелом течении болезни, а при крайне тяжелом течении и сепсисе – 75–100 см^3 в течение первых 3–4 суток болезни. При легком течении болезни глобулинотерапия не используется.

В развитие данного направления американские исследователи разработали новый препарат для лечения сибирской язвы – иммуноглобулин, получаемый из сыворотки крови людей, привитых против сибирской язвы. Иммуноглобулины получены из крови 75 американских солдат, иммунизированных вакциной AVA. При биотеррористическом эксцессе 2001 г. в США одному из больных с диагнозом «сибирская язва, легочная форма, тяжелое течение» одновременно с ципрофлоксацином вводили человеческий сибиреязвенный иммуноглобулин, проводили искусственную вентиляцию легких, дренирование плевральной полости с аспирацией плевральной жидкости. Несмотря на крайне тяжелое течение заболевания, своевременно начатая интенсивная терапия позволила спасти больному жизнь.

Противосибиреязвенный иммуноглобулин, как и другие гетерогенные сывороточные препараты, обладает сенсибилизирующими свойствами и способен вызывать у людей тяжелые анафилактические реакции. Так, из 29 человек у 7 после введения глобулина наблюдали реакцию в виде резко зудящей сыпи типа крапивницы, а также незначительной болезненности регионарных лимфатических узлов. Двое были госпитализированы с жалобами на слабость, головокружение, повышение температуры тела. Кроме того, сыворотка или иммуноглобулин не всегда оказывали лечебное

действие, особенно при позднем введении на стадии выраженной токсемии, а иногда даже ускоряли летальный исход. Поэтому лошадиный поливалентный иммуноглобулин против сибирской язвы применять у людей небезопасно. При анализе большого клинического материала отрицательное действие иммуноглобулина при лечении заметил крупный российский эпидемиолог Б.Л.Черкасский, рекомендовавший воздержаться от его использования.

В ГНЦ ПМБ была проведена большая научно-исследовательская работа в направлении оценки отрицательного действия иммуноглобулина из сыворотки крови лошади на организм лабораторных животных. Было показано, что антитела к III домену протективного антигена возбудителя, присутствующие в иммуноглобулине, усиливают действие летального фактора, с чем и связано его отрицательное действие. Как было установлено, механизм потенцирования действия летального токсина МКА 1F2 и 1D6 (получены направленно к эпитопам III домена) состоит в Fc-рецепторном усилении эндоцитоза комплекса летального токсина в чувствительную клетку-мишень.

По-видимому, в разных сериях лошадиного иммуноглобулина присутствует разное количество таких «вредных» антител и их отрицательное действие при лечении проявляется в разной степени, а стандартизация по данному показателю препарата не проводится.

В связи с этим постоянно ведется поиск новых специфических лечебных иммунобиологических лекарственных средств, безвредных и высокоэффективных при использовании на стадии токсемии сибиреязвенной инфекции.

В этом направлении в свое время в ГНЦ ПМБ был разработан метод получения укороченных противосибиреязвенных антител из сыворотки крови гипериммунизированных кроликов и из коммерческого противосибиреязвенного иммуноглобулина. Путем контролируемого расщепления IgG пепсином и гель-фильтрации на сефадексе были выделены F(ab`)2-фрагменты антител, которые обладали в реакции диффузионной преципитации иммунохимической активностью по отношению к токсину. При испытаниях в острых опытах по заражению выжило 90% животных при гибели всех контрольных, что свидетельствует о высокой эффективности препарата, примененного на стадии развитой токсемии.

В НИИ микробиологии МО РФ были отработаны параметры технологического процесса лабораторного получения из коммерческого противосибиреязвенного иммуноглобулина очищенного препарата F(ab`)2-фрагмента. Эффективность этого препарата в сравнении с противосибиреязвенным иммуноглобулином была оценена в экспериментах на кроликах, зараженных подкожно вирулентным штаммом в дозе 100 LD_{50}. Оказалось, что при разных способах введения эффективность препарата была в два и более раза выше, чем у глобулина. При этом эффект обеспечивался в дозе, более чем на порядок меньшей, чем у иммуноглобулина. Высокая эффективность препарата при лечении генерализованной формы сибирской язвы была установлена в экспериментах на кроликах и обезьянах павианах гамадрилах в случаях применения препарата F(ab`)2-фрагмента в сочетании с доксициклином. Таким образом, при лечении разных форм сибирской язвы, вызванной в т.ч. антибиотикорезистентными вариантами возбудителя, наряду с антибиотиками резерва в острой фазе токсемии могут быть использованы препараты на основе F(ab`)2-фрагментов.

Недостатком таких фрагментов антител является их короткое время пребывания в организме, что делает практически невозможным использование для предэкспозиционной профилактики, когда есть опасность заражения сибирской язвой. Кроме того, при получении F(ab`)2-фрагментов из сыворотки иммунизированных людей или коммерческого иммуноглобулина препарат будет содержать большое количество таких фрагментов к различным антигенам возбудителя сибирской язвы, а не только к токсину, что для терапии не очень обосновано в силу описанного выше эффекта влияния некоторых антител на усиление действия токсина.

В России был получен противосибиреязвенный иммуноглобулин человека для внутривенного введения и изучены его иммунохимические и протективные свойства. Иммунную плазму заготавливали от доноров, вакцинированных комбинированной сибиреязвенной вакциной. Эффективность применения иммуноглобулина была изучена на базе ГНЦ ПМБ. Препарат защищал от гибели 10% белых мышей, 50% морских свинок и 80% кроликов. Иммуноглобулин является гомологичным для человеческого организма, не токсичен, не пирогенен и по основным параметрам соответствует требованиям, предъявляемым к внутривенным препаратам. Такой препарат может быть полезен, однако его получение в больших количествах для формирования запаса представляется сложной задачей в связи с проблемой с донорами.

Различные виды специфических МКА, химерных, германизированных или полностью человеческих, проявляют существенную эффективность при нейтрализации токсина в организме, так как препятствуют самосборке компонентов этого белка в токсический комплекс. Кроме того, они лишены многих недостатков, присущих другим иммунопрепаратам: долго циркулируют в крови, не вызы-

вают сенсибилизации и анафилаксии, обладают в ряде случаев антимикробным действием, хорошо переносятся при лечении.

Эффективным барьером на ранних стадиях сибиреязвенной инфекции являются антитела к поверхностным антигенам спор. Это было подтверждено на мышиной модели с использованием МКА к спорам *Bacillus anthracis*, когда МКА предотвращали прорастание спор в вегетативные клетки in vitro, усиливали фагоцитоз спор и гибель вегетативных клеток в макрофагах, что привело к 90%-й выживаемости мышей, инфицированных штаммом *B. anthracis* Ames. Эти наблюдения позволили предположить, что иммунный ответ, возникающий в результате такой вакцинации, способен предотвратить летальную интоксикацию, а также бороться с сибиреязвенной инфекцией уже на начальном этапе заражения возбудителем.

В ГНЦ ПМБ в течение многих лет ведется работа по получению МКА к значимым антигенам возбудителя сибирской язвы. Были получены мышиные МКА к вегетативным клеткам и спорам, использованные для конструирования диагностических систем в форматах иммунохроматографических тестов, иммуноферментных тест-систем, иммуно-ПЦР-тест-систем. Такие системы зарегистрированы, но на постоянной основе выпускаются только наиболее востребованные быстрые иммунохроматографические тесты.

Наиболее значимым результатом наших исследований явилась разработка терапевтических МКА для купирования токсических состояний при сибиреязвенной инфекции у людей. Эти МКА можно производить при культивировании штаммов-продуцентов и создавать стабильные лекарственные формы.

При разработке основу составляли сведения о иммунохимических особенностях протективного антигена (PA) возбудителя сибирской язвы. У *B. anthracis* присутствуют бинарные токсины, состоящие из субъединиц A и B. Субъединица A обладает ферментативной активностью, содержит летальный фактор (LF) и отечный фактор (EF), субъединица B выполняет функции связывания с рецепторами и формирования пор. В результате взаимодействия LF с PA образуется летальный токсин, а при связывании EF с PA – отечный токсин. Наиболее значимым в патогенезе является летальный токсин.

В результате длительных молекулярно-генетических исследований и генно-инженерных разработок в ГНЦ ПМБ было создано химерное МКА xi1E10, специфически взаимодействующее с протективным антигеном и способное нейтрализовать летальный токсин. Токсиннейтрализующая активность МКА xi1E10 в дозе 100 мкг/мышь (в/в) приводила к 100%-й выживаемости при внутрибрюшинном введении 4 LD_{50} летального токсина. Это очень хороший практический результат.

Была дана полная характеристика МКА xi1E10: определение класса антитела (IgG1), специфичности (IV домен PA), аффинность связывания с PA ($KDxi1E10 = 1{,}2663 \cdot 10^{-9}$ M), длительности циркуляции МКА (не менее 28 дней) и токсиннейтрализующей активности. Кроме того, разработана реакторная технология получения данного продукта в необходимых для создания лекарственного средства количествах.

При определении механизма нейтрализации летального токсина МКА xi1E10 было показано, что летальный токсин без добавления антитела проникает внутрь клетки, а с добавлением антитела – нет. Также был показан процесс деградации молекул летального токсина, связавшихся с МКА xi1E10, в лизосомах.

Таким образом, создание препаратов для предэкспозиционной профилактики и лечения сибирской язвы на основе различных типов антител и их фрагментов находится в постоянном развитии и идет по пути разработки эффективных и безопасных средств. Для обеспечения биологической безопасности следует проводить дальнейшие исследования и разработки для создания препаратов и технологий их производства, отвечающих современным требованиям к иммунобиологическим лекарственным средства такого уровня.

Главный редактор, академик РАН И.А.Дятлов