

Медицинские средства защиты на основе вируссpezifических антител для экстренной профилактики и лечения заболевания, вызванного вирусом Эбола

Т.Е. Сизикова, В.Н. Лебедев, С.В. Борисевич

ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России, Сергиев Посад, Россия

Аннотация

Вирус Эбола (представитель рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae*) является этиологическим агентом особо опасного заболевания, летальность которого достигает 90%. Важнейшими компонентами спектра средств экстренной профилактики и лечения заболевания, вызванного вирусом Эбола, являются препараты на основе вируссpezifических антител (плазма реконвалесcentов, гетерологичные иммуноглобулины, моноклональные антитела). Целью настоящего обзора является анализ эффективности медицинских средств защиты на основе вируссpezifических антител для экстренной профилактики и лечения заболевания, вызванного вирусом Эбола. В обзоре рассмотрено использование различных классов препаратов на основе вируссpezifических антител и возможное совершенствование их состава и стратегии применения при экстренной профилактике и лечении заболевания, вызванного вирусом Эбола.

Ключевые слова: вирус Эбола, геморрагическая лихорадка, специфические антитела, плазма крови реконвалесcentов, гетерологичные иммуноглобулины, моноклональные антитела, экстренная профилактика и лечение.

Для цитирования: Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Медицинские средства защиты на основе вируссpezifических антител для экстренной профилактики и лечения заболевания, вызванного вирусом Эбола. *Терапевтический архив*. 2019; 91 (11): 98–104. DOI: 10.26442/00403660.2019.11.000164

The therapeutics, based on virus specific antibodies, for special prophylactic and current of disease, caused by Ebola virus

T.E. Sizikova, V.N. Lebedev, S.V. Borisevich

48 Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad, Russia

The Ebola virus (member of *Ebolavirus* genus *Filoviridae* family) is the etiologic agent of extremely hazard human disease with high mortality rates (up to 90%). The most important components of spectrum of therapeutics for special prophylactic and current of disease, caused by Ebola virus, are prepares, based on virus specific antibodies (convalescent's plasma, geterologic immunoglobulins, monoclonal antibodies). The use of different class therapeutics, based on virus specific antibodies, the possible improvements of its composition and strategy of its application for special prophylactic and current of disease, caused by Ebola virus, are considered in this review.

Keywords: Ebola virus, hemorrhagic fever, specific antibodies, convalescent's plasma of blood, geterologic immunoglobulin, monoclonal antibodies, special prophylactic and current.

For citation: Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V. The therapeutics, based on virus specific antibodies, for special prophylactic and current of disease, caused by Ebola virus. *Therapeutic Archive*. 2019; 91 (11): 98–104. DOI: 10.26442/00403660.2019.11.000164

АТ – антитела

БОЕ – бляшкообразующая единица вируса

ВНА – вируснейтрализующие антитела

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ЗВВЭ – заболевание, вызываемое вирусом Эбола

ИФА – иммуноферментный анализ

МКАт – моноклональные антитела

ЛД₅₀ МСВБ – доза вируса, вызывающая 50% гибель морских свинок при внутрибрюшинном инфицировании

МСЗ – медицинские средства защиты

нМФА – непрямой метод флюоресцирующих антител

ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
ОТ-ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени

п. и. – после инфицирования

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

Сt – величина порогового цикла заболевания (Cycle threshold)

ЕВОТАb – гетерологичный овечий иммуноглобулин

GP – гликопротеин

NPС-1 – внутриклеточный рецептор, расположенный на белке Неймана-Пика

Геморрагическая лихорадка, вызываемая вирусом Эбола (род *Ebolavirus* семейство *Filoviridae*), является особо опасным вирусным инфекционным заболеванием, характеризующимся летальным исходом в 50–90% случаев. Данная нозологическая форма впервые выявлена в 1976 г., пристальное внимание к заболеванию значительно усилилось после крупнейшей эпидемии лихорадки Эбола за всю историю наблюдений в странах Западной Африки (Гвинея, Сьерра-Леоне и Либерия в 2013–2016 гг.). Общее количество заболевших (подтвержденные случаи) с декабря 2013

по июнь 2016 г. составило 28 652 человека, из них погибли 11 325. В ходе данной эпидемии зарегистрированы случаи завоза заболевания из Западной Африки на все обитаемые континенты. Всего зарегистрировано 36 завозных случаев заболевания в эндемичных регионах [1].

Заболевание, вызываемое вирусом Эбола (ЗВВЭ), является острой тяжелой вирусной инфекцией, часто сопровождавшейся внезапным проявлением лихорадки, сильной слабостью, мышечными болями, головной болью, болью в горле. Начало болезни острое и характеризуется лихорад-

кой, ознобом, миалгией и общим недомоганием. Позже, в среднем через 5 дней, могут развиваться симптомы поражения пищеварительной (тяжелая водянистая диарея, тошнота, рвота) и дыхательной (сухой кашель, колющие боли в груди, одышка) систем, нарушения функций почек и печени [2]. Общие симптомы заболевания: лихорадка (77,78%), утомляемость (64,93%), боли в брюшной полости (64,58%), головная боль (62,85%), диарея (61,81%) [3].

Важнейшим компонентом рассматриваемого Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) спектра медицинских средств экстренной профилактики и лечения ЗВВЭ на сегодняшний день являются препараты на основе вирусспецифических антител [плазма реконвалесцентов, гетерологичные иммуноглобулины с высоким титром вируснейтрализующих антител (ВНА), моноклональные антитела (МКАт)] [4].

Целью настоящего обзора является анализ эффективности медицинских средств защиты на основе вирусспецифических антител для экстренной профилактики и лечения ЗВВЭ. Использование различных классов препаратов на основе вирусспецифических антител в терапевтической практике будет рассмотрено в хронологической последовательности, в порядке поступления информации для экстренной профилактики и лечения ЗВВЭ.

Препараты на основе крови реконвалесцентов

Исторически самыми первыми специфическими средствами, использовавшимися для лечения больных с подозрением на лихорадку Эбола, были препараты плазмы (или цельной крови реконвалесцентов). R.T. Emond и соавт. описали опыт использования сыворотки реконвалесцентов при лечении заболевания, вызванного внутрилабораторным заражением вирусом Эбола в 1976 г., т.е. вскоре после первичного описания соответствующей нозологической формы заболевания [5].

Сотрудник лаборатории Портон-Дауна 5 ноября 1976 г. случайно уколол большой палец через резиновую перчатку во время гомогенизации печени морской свинки, инфицированной вирусом Эбола. Признаки заболевания появились 11 ноября, которые включали лихорадку, слабость, анорексию, абдоминальные боли, в дальнейшем (через трое суток после начала заболевания) рвоту, диарею, петехиальную сыпь, протеинурию.

Немедленно после появления первых признаков заболевания больному вводили интерферон в дозе 3×10^6 Ед каждые 12 ч в течение 14 сут. На 3-и сутки после начала заболевания, 13 ноября больному было введено 450 мл сыворотки реконвалесцента, полученной из Заира. Сыворотку перед введением прогревали в течение 1 ч при 60°C , проверяли на наличие антигена вируса гепатита В и антител к нему. Препарат внутривенно вводили в течение 4 ч. На 6-е сутки после начала заболевания, 16 ноября больному было введено 350 мл сыворотки реконвалесцента, полученной из Судана и приготовленной аналогичным образом.

Данные о влиянии вводимых содержащих антитела препаратов на уровень вирусемии в крови больного (выраженной в ЛД₅₀ МСВБ \times мл⁻¹ – величина ЛД₅₀ для морских свинок при внутрибрюшинном инфицировании) и титр

Таблица 1. Результаты выявления вируса Эбола и специфических антител к нему в клинических пробах при случае внутрилабораторного заражения [5]

Сутки после начала заболевания	Титр АТ в нМФА, обратная величина	Концентрация вируса ЛД ₅₀ МСВБ \times мл ⁻¹	
		в крови	в других пробах
1-е	0*	4×10^4	
2-е (до введения 450 мл сыворотки реконвалесцента)	< 2	6×10^4	
3-и	16	3–10	
4-е	16	3–10	
5-е	16	3–10	Нд
6-е (до введения 330 мл сыворотки реконвалесцента)	16	3–10	
7-е	8	3–10	
8-е	16		
9-е	32		
10–13-е	64		0* – в моче,
14, 16, 20-е	Нд	0*	кале, носоглоточных смывах
23, 27-е	128		
34-е	Нд		3–10 – в сперме
39-е	128		3–10 – в сперме
76-е	128		0* – в сперме

Примечание. 0* – не выявляется при использовании данного метода. Здесь и в табл. 2: Нд – нет данных.

специфических антител [определенный с помощью непрямого метода флюоресцирующих антител (нМФА)], представленные в табл. 1, в известной мере следует рассматривать в качестве опорных при разработке проведения диагностических исследований в случае внутрилабораторных заражений вирусом Эбола. При этом необходимо иметь в виду, что во время проведения указанных исследований для вируса Эбола не был еще разработан метод негативных колоний, еще не была изобретена полимеразная цепная реакция (ПЦР), тем не менее, представленные в табл. 1 данные позволяют ориентировочно определить в исследуемых пробах рибонуклеиновую кислоту (РНК) вируса Эбола (с помощью ОТ-ПЦР), антигена вируса Эбола и антител к нему с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Представленные данные также указывают длительное (по крайней мере до 40-х суток после начала заболевания) сохранение биологически активного вируса в сперме пациента, что, во-первых, определяет продолжительность карантинных мероприятий, а во-вторых, может указывать на недостаточную эффективность плазмы реконвалесцентов в качестве профилактического средства.

Во время вспышки ЗВВЭ в 1995 г. констатировано, что 7 из 8 больных, которым была проведена трансфузия крови реконвалесцентов, выжили [6].

Однако данные, полученные J. Van Griensven и соавт., не позволяют дать однозначную оценку эффективности плазмы

Сведения об авторах:

Сизикова Татьяна Евгеньевна – к.б.н., н. с. ФГБУ «48 ЦНИИ» МО России, ORCID: 0000-0002-1817-0126

Лебедев Виталий Николаевич – д.б.н., проф., в.н.с. ФГБУ «48 ЦНИИ» МО России, ORCID: 0000-0002-6552-4599

Контактная информация:

Борисевич Сергей Владимирович – д.б.н., проф., член-корр. РАН, начальник ФГБУ «48 ЦНИИ» МО России, тел.: 8(496)552-12-06; e-mail: 48cnii@mail.ru; ORCID: 0000-0002-5742-3919

реконвалесцентов при лечении больных с подтвержденным диагнозом ЗВВЭ [7]. В проведенном авторами эксперименте по оценке эффективности плазмы реконвалесцентов опытная группа представлена 99 больными различного возраста (в том числе беременными женщинами). Больным проведено две трансфузии плазмы в объеме от 200 до 250 мл. Первая трансфузия проведена в двухдневный период (0–2-е сутки) после постановки диагноза. Контрольную группу представляли 418 больных, проходивших лечение в том же медицинском центре в предшествующие 5 мес.

Уровень летальности в опытной группе составил 31%, в контрольной группе – 38%. С учетом выравнивания опытной и контрольной групп по возрасту и пороговому индексу инфекции (который был выше в опытной группе) различия между группами по показателю летальности составили всего 3%. Авторами сделан вывод о том, что введение плазмы реконвалесцентов больным с подтвержденным диагнозом ЗВВЭ не приводит к существенному снижению летальности. Однако необходимо отметить, что эффективность применения препарата в лечебных целях может зависеть от тяжести заболевания конкретного больного, которая может быть охарактеризована величиной порогового цикла заболевания [англ. Cycle threshold (Ct)], определяемого для каждого больного индивидуально. Величина Ct для здорового человека составляет не менее 40, критической величины Ct для заболевших лихорадкой Эбола является величина Ct менее 20 [8]. Кроме того, в качестве объективного показателя тяжести инфекционного процесса может быть рекомендован уровень вирусемии, определенный с помощью количественной ОТ-ПЦР-РВ. Если указанная величина превышает 1×10^9 геном-эквивалентов РНК в 1 мл, выздоровление больного маловероятно [9].

Доклинические исследования по лечебной эффективности в отношении ЗВВЭ препаратов на основе крови реконвалесцентов проведены с использованием в качестве лабораторной модели низших приматов – животных, у которых патогенез и соответственно проявления инфекции приближаются к течению заболевания у человека [10]. В силу этого низшие приматы являются признанным золотым стандартом среди лабораторных животных при исследовании защитной эффективности препаратов при экспериментальном ЗВВЭ [11].

P.B. Jahrling и соавт. провели трансфузию крови иммунных макаков резусов животным вскоре после инфицирования их вирусом Эбола [12]. Кровь, содержащая специфические антитела к возбудителю лихорадки Эбола, получена от животных того же вида. Три макаки резус, выжившие после инфицирования вирусом Эбола, спустя 4–5 лет были повторно инфицированы патогеном в дозе 1×10^3 БОЕ [бляшкообразующая единица (вируса) – количество вируса, необходимое для формирования одной негативной колонии на монослойной культуре клеток под агаровым покрытием]. Ни у одного из животных не зарегистрировано признаков заболевания или вирусемии. Одно из этих трех животных было первоначально инфицировано адаптированным для белых мышей штаммом вируса Эбола и впоследствии выжило после инфицирования «диким» штаммом вируса Эбола-Заир, вторая была сначала иммунизирована инактивированным γ -облучением вирусом Эбола-Заир, а потом нативным штаммом. Третий донор представлял собой крайне редкий случай выживания низших приматов после инфицирования возбудителем лихорадки Эбола. Кровь у животных-доноров брали спустя 30 сут после введения нативного вируса. Титр ИФА-антител (АТ) составлял 1:100 000. Титр ИФА АТ у животных после перфузии составлял соответственно 1:3200, 1:100, 1:100.

Перфузию проводили немедленно после инфицирования животных. Вводили 6 мл кг^{-1} обработанных цитратом фосфатом аденина цельной крови от животных-доноров. Два животных-реципиента получили вторую трансфузию на 3-й, два – на 4-й день после инфицирования. В качестве контроля использовали животное, которому после инфицирования и через трое суток вводили кровь, не содержащую специфических антител к вирусу Эбола, и животное после инфицирования, не получившее перфузию крови.

Несмотря на то, что титр ВНА (вируспециализующие антитела) в крови у инфицированных животных был сопоставим с таковым у иммунных животных, у всех животных, которым проведена трансфузия иммунной крови, развилась выраженная симптоматика заболевания и они погибли на 8–9-е сутки после инфицирования, что соответствует среднему сроку жизни до гибели инфицированных контрольных животных (без лечения). Полученные данные ставят под сомнение ценность пассивной иммунотерапии при лечении ЗВВЭ.

Однако в дальнейшем J.M. Dye и соавт. установлено, что гибель обезьян при перфузии крови иммунных животных обусловлена неудачной схемой введения (немедленно после инфицирования) [13]. Макакам резус, внутримышечно инфицированным вирусом Эбола-Заир, штамм Киквит, в дозе 1×10^3 БОЕ вводили по 200...250 мл плазмы реконвалесцентов от разных доноров. При введении препарата на 2-, 4- и 8-е сутки у одной из трех инфицированных обезьян развилось легкое заболевание, закончившееся выздоровлением, у 2 обезьян признаков заболевания не выявлено. У животных, не получавших плазму реконвалесцентов, отмечена 100% гибель. Полученные результаты указывают на необходимость определения рациональной схемы применения защитных препаратов на основе антител.

Существенными преимуществами препаратов на основе крови реконвалесцентов перед другими видами медицинских средств защиты (МСЗ) на основе вируспецифических антител являются видовая совместимость донора и реципиента; полноценность спектра вируспецифических антител: иммуноглобулины, полученные от реконвалесцентов, могут обеспечить больший защитный эффект по сравнению с иммуноглобулинами, полученными от животных, в организме которых не происходило репродукции вируса [14]; сопутствующее добавление в организм элементов крови, утраченных в процессе заболевания.

Однако есть и существенные недостатки, к которым относятся практическая недоступность данных препаратов в эндемичных регионах; проблемы стандартизации препаратов; недопустимо высокий риск наличия в крови реконвалесцентов вирусов иммунодефицита человека, гепатитов В и С с учетом их высокого уровня распространения в эндемичных по ЗВВЭ регионах. Так как препараты на основе крови реконвалесцентов не в полной мере способны обеспечить полную безопасность человека, в последнее время становится все более актуальным вопрос целесообразности поиска и разработки альтернативных источников специфических антител для создания на их основе препаратов для экстренной профилактики и лечения ЗВВЭ, в качестве которых могут рассматриваться *препараты на основе гетерологичных иммуноглобулинов*.

Сотрудниками ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России впервые показана возможность использования лошадей в качестве продуцентов гипериммунной сыворотки против вируса Эбола. После первичного введения возбудителя в дозе от $2,5 \times 10^7$ до $6,0 \times 10^9$ БОЕ титры специфических ВНА в сыворотке крови животных колебались от 1:4 до 1:64. Повторные введения возбудителя лихорадки Эбола в тех же

дозах позволили значительно повысить уровень иммунного ответа и получать гипериммунные сыворотки с титром ВНА до 1:4096 [15].

На основе гипериммунной лошадиной сыворотки в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России разработан иммуноглобулин против лихорадки Эбола, жидкий, ранее разрешенный для медицинского применения [16]. При анализе 28 случаев применения разработанного препарата при проведении экстренной профилактики по эпидемическим показателям после повреждения кожных покровов или после контакта с зараженной кровью ни один человек не заболел лихорадкой Эбола [17].

В дальнейшем О.В. Ryankov и соавт. разработали технологию производства очищенного лошадиного иммуноглобулина, полученного от лошадей, иммунизированных рекомбинантной плазмидой pHCMV-GP/D637L, содержащей вставку кДНК фрагмента гена гликопротеина вируса Эбола [4 мг на животное, схема введения: 0+14+55+91-е сутки] с последующим бустированием вирусоподобными частицами, содержащими репликон вируса Кунджин, кодирующими модифицированный гликопротеин вируса Эбола в дозе 3×10^9 вирусных частиц, при введении на 164-е сутки после начала иммунизации [18]. В указанной схеме отсутствует потенциально опасный процесс иммунизации животных нативным возбудителем лихорадки Эбола.

После бустерной иммунизации в крови лошадей с помощью реакции подавления бляшкообразования выявлены вируснейтрализующие антитела в титре 1:160. Плазму у иммунизированных животных забирали на 177-е сутки после начала иммунизации с помощью плазмафереза. Очистку плазмы проводили с помощью осаждения каприловой кислотой с последующей фильтрацией, согласно одобренной ВОЗ методике [19].

Введение африканским зеленым мартышкам очищенного иммуноглобулина в дозе 20 мл ежедневно в течение 5 сут [первое введение – через 24 ч после инфицирования животных заведомо летальной дозой (1000 БОЕ) вируса Эбола-Заир, штамм Mayinga] более чем в 1×10^5 раз снижало уровень репродукции возбудителя и обеспечивало 100% защиту животных от гибели. На 15–17-е сутки после инфицирования вирус в организме не определялся. Полученные результаты показывают, что лошадиный иммуноглобулин к возбудителю лихорадки Эбола может быть использован для экстренной профилактики ЗВВЭ.

Среди препаратов данного класса необходимо отметить разработанный во время вспышки ЗВВЭ в Западной Африке в 2014–2016 гг. гетерологичный овечий иммуноглобулин (EVOtAb), который показал вируснейтрализующую активность и защитную эффективность при лечении инфицированных морских свинок [11, 13].

В опытах на низших приматах установлен защитный эффект EVOtAb при введении на сроке до 3 сут после инфицирования (п.и.). Чем раньше начато лечение, тем выше шансы на благоприятный исход заболевания. Так, в группе с введением препарата на 1-е сутки п.и. все животные выжили, при введении на 2-е сутки – выжило 50% животных, на 3-и сутки – 25%. Средний срок жизни до гибели снижался по мере увеличения периода между инфицированием и первым введением препарата, от последнего показателя также зависел уровень накопления патогена в печени и селезенке.

Выявлены различия по уровню вирусемии между группами с лечением и без лечения. Различия составили примерно 3–4 порядка [1×10^5 в леченной группе, 1×10^8 , 1×10^9 РНК-копий в 1 мл – в контроле (без лечения)] [13].

Новым направлением создания специфических средств защиты на основе ВНА, которое формально использует ге-

терологичных доноров иммунной сыворотки, является разработка метода получения поликлональных человеческих антител против вируса Эбола у трансгенных животных (крупный рогатый скот). В настоящее время данные исследования находятся на первых стадиях доклинических испытаний [20].

Препараты на основе МКАт

С начала XXI века приоритетное положение в ряду средств для экстренной профилактики и лечения ЗВВЭ занимают МКАт. Преимущества МКАт заключаются в низкой токсичности, высокой специфичности и универсальности, диапазоне биологического действия, зависящего от Fc-фрагмента антител, возможности масштабирования процесса наработки биомассы иммуноглобулинов. Защитное действие МКАт может включать опсонизацию патогена, активацию комплемента, антителозависимую клеточную цитотоксичность и вируснейтрализующие свойства. Для экстренной профилактики и лечения ЗВВЭ обосновано использование смесей МКАт против эпитопов вируса Эбола, расположенных на гликопротеине (GE) [21].

Наиболее известной смесью МКАт, используемой для лечения, является ZMapp, производимая фирмой «Leaf Bio-pharmaceutical» (США) с 2004 г. При введении ZMapp низшим приматам (макака резус) спустя 24 ч или 48 ч после инфицирования, 4 из 6 инфицированных животных выжили, показав при этом низкий уровень вирусемии, незначительные клинические симптомы заболевания [22, 23]. Три дозы ZMapp, введенные на 5-, 8- и 11-е сутки п.и. в дозе 50 мг/кг, обеспечивали 100% выживание. Спустя 21 сут п.и. патоген в крови не обнаружен [24].

Препарат ZMapp в 2014 г. использован для лечения 3 больных с подтвержденным диагнозом «ЗВВЭ», двое из которых впоследствии выздоровели, а один погиб [25]. Несмотря на малую по численности выборку, вероятность того, что выздоровление больных не связано с лечением препаратом ZMapp, статистически недостоверна ($p < 0,1$). В последующем для лечения больных, кроме ZMapp, использовали также МКАт M1L77 [9]. В настоящее время продолжается разработка новых видов МКАт и их комбинаций, которые можно будет рассматривать в качестве кандидатов для проведения клинических испытаний [26].

При лечении больных с подтвержденным диагнозом «ЗВВЭ», как правило, используют комбинированную терапию, включающую использование различных классов МСЗ. Предполагается, что МКАт (типа ZMapp) наряду с фавипиравиром и бринцидофовином будут являться одним из важнейших составных компонентов комбинированной терапии [9].

Принципиальным недостатком препаратов данного класса является то, что большинство доступных МКАт, как правило, имеют узкий антивирусный спектр, поскольку они распознают различные эпитопы GP, экспонированные на поверхности вирусной частицы. Так, МКАт ZMapp обеспечивают защиту против вируса Эбола-Заир, но не против возбудителя лихорадки Эбола-Бундибуджо или Эбола-Судан. МКАт, обеспечивающие перекрестную нейтрализацию и защиту в пределах комплекса *Ebolavirus*, получены лишь в единичных экспериментах [27, 28]. В силу этого существует необходимость разработки МКАт, обладающих широким спектром протективного действия против вируса Эбола и других филовирсов.

Уникальной особенностью входа филовирсов в клетку является протеолитическое расщепление GP на эндосомах, которое делает доступными критические эпитопы, включающие рецепторы, замещающие критический

Таблица 2. Некоторые характеристики различных классов защитных препаратов (по отношению к ЗВВЭ) на основе вирусспецифических антител

Класс препаратов	Информация о/об		Достоинства препаратов	Недостатки препаратов
	Проведении доклинических испытаний	Использовании препарата для экстренной профилактики и лечения ЗВВЭ		
Препараты на основе крови реконвалесцентов	Доклинические испытания проведены при использовании низших приматов	Препараты использованы для лечения ЗВВЭ	Простота получения. Специфичность по отношению к штамму вызвавшего вспышку (при использовании в эндемичных регионах). Полноценность спектра вирусспецифических антител. Видовая совместимость донора и реципиента. Сопутствующее добавление в организм элементов крови, утраченных в процессе заболевания	Практическая недоступность в неэндемичных регионах. Проблемы стандартизации препаратов. Необходимость исследования исходного продукта для получения препарата и конечного продукта на наличие патогенов (ВИЧ, вирусы гепатитов В и С и др.)
Гетерологичные иммуноглобулины	То же	Препараты использованы для экстренной профилактики ЗВВЭ	Простота и низкая стоимость получения. Препараты не контаминированы патогенами человека	Относительно высокий процент (до 50%) местных аллергических реакций в случае введения препарата без десенсибилизирующей терапии. Эффективны при раннем введении препарата после возможного инфицирования
Препараты на основе моноспецифических МКАт	-«-	Препараты использованы для экстренной профилактики и лечения ЗВВЭ	Низкая токсичность, высокая специфичность, диапазон биологического действия зависит от Fc-фрагмента антител, что определяет возможность получения гуманизированных антител. Возможность масштабирования процесса наработки биомассы иммуноглобулинов	Высокая (по сравнению с другими классами препаратов) стоимость. Узкий антивирусный спектр
Препараты на основе биспецифических МКАт	Доклинические испытания проведены при использовании линейных мышей	Нд	То же + расширенный антивирусный спектр	Максимально высокая стоимость (по сравнению с другими классами препаратов). Отсутствие доказательств протективного эффекта в экспериментах на низших приматах

внутриклеточный рецептор, расположенный на белке Неймана–Пика (NPC-1). Для входа в клетку всех известных филовирусов необходимо замещение второго участка рецептора NPC-1, содержащего большое количество связывающих рецептор участков. Консервативный механизм взаимодействия между GP филовирусов и рецептором NPC-1 входа в клетку может обеспечить мишень для специфических антител.

В работе A.Z. Wes и соавт. описана стратегия применения биспецифических антител, которые в качестве мишени используют сайт этого взаимодействия [29]. Для приготовления биспецифических антител использовали человеческие МКАт MR72, распознающие эпитопы, которые формируются при расщеплении GP, мышинные МКАт 548, связывающиеся эпитопами на фрагменте NPC1-C рецептора NPC-1. Для доставки МКАт 548 и MR72 в эндосомы были получены МКАт макаки FVM09, распознающие линейный консервативный эпитоп, расположенный на гликановом кэпе GP всех представителей рода *Ebolavirus*.

Для формирования биспецифического иммуноглобулина использовали замену переменных доменов легкой и тяжелой цепи иммуноглобулина FVM09 на соответствующие домены МКАт 548 и MR72.

Полученные иммуноглобулины, обозначенные как FVM09-548 и FVM09-MR72, нейтрализовали рекомбинантный вирус везикулярного стоматита со вставкой гена GP возбудителя лихорадки Эбола, в то время как родительские МКАт не обладали вируснейтрализующей активностью. Вируснейтрализующая активность биспецифических иммуноглобулинов подтверждена в реакции нейтрализации с нативными вирусами Эбола-Заир, Эбола-Судан и Эбола-Бундибуджио.

Протективную эффективность полученных биспецифических иммуноглобулинов испытывали в опытах на белых мышках линии BALB/c и IFN α /βR^{-/-}, инфицированных адаптированными вирусами Эбола-Заир и Эбола-Судан соответственно в дозе 100 БОЕ. Биспецифические иммуноглобу-

лины вводили в дозе 400 мкг (20 мг·кг⁻¹) спустя 2 сут после инфицирования. Установлено, что протективной активностью обладали только биспецифические антитела FVM09-MR72. Характерно, что смесь исходных родительских МКАт FVM09 и MR72 мышей не защищала. Таким образом, МКАт, блокирующие взаимодействия GP и NPC-1, обладают вируснейтрализующей активностью *in vitro* и протективными свойствами.

Достоинства и недостатки рассмотренных классов защитных препаратов на основе вирусспецифических антител, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что наиболее перспективным направлением создания МСЗ в отношении ЗВВЭ на основе вирусспецифических антител следует считать создание препаратов на основе биспецифических МКАт. Несмотря на предполагаемую высокую стоимость обеспечения работ по данному направлению, следует ожидать, что защитное действие препаратов данного класса будет выше, чем у моноспецифических МКАт, которые в настоящее время являются наиболее эффективными из всех защитных препаратов, прошедших клинические исследования.

Заключение

На основании изложенного, можно сделать следующее заключение, отражающее уже достигнутые к настоящему времени результаты и определяющее возможные перспективные направления дальнейших исследований:

- эффективность протективного действия содержащих антител препаратов зависит не только от величины

титра вирусспецифических антител, но и от полноценности их видового состава;

- иммуноглобулины, полученные от реконвалесцентов, могут обеспечить больший защитный эффект по сравнению с иммуноглобулинами, полученными от животных, в организме которых не происходило репродукции вируса;
- защитный эффект определяют не только клоны иммуноглобулинов, обладающие вируснейтрализующей активностью, но и клоны иммуноглобулинов, соответствующие эпитопам белков, формирующихся в процессе репродукции вируса в чувствительных клетках;
- для каждого класса препаратов на основе вирусспецифических антител необходима разработка наиболее рациональной схемы применения;
- эффективность применения препарата в лечебных целях может зависеть от тяжести заболевания конкретного больного. В качестве объективных показателей тяжести инфекционного процесса могут быть рекомендованы величина порогового цикла заболевания и уровень вирусемии, определенный с помощью количественной ОТ-ПЦР-РВ;
- можно предположить, что наиболее перспективным классом МСЗ на основе вируссодержащих препаратов являются биспецифические МКАт. Однако окончательное заключение об их эффективности можно будет сделать только после доклинической оценки их протективных свойств на низших приматах.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика болезни, вызванной вирусом Эбола. Практическое руководство. Под ред. Поповой А.Ю., Кутырева В.В. Саратов: Буква, 2015: 244 с. [Epidemiology, prophylaxis, and laboratory diagnostics of Ebola virus disease. Edited by Popova AYU, Kutyreva VV. Saratov: Letter, 2015: 244 p (In Russ.)].
2. Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, Soropogui B, Sow MS. Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea. *New Eng J Med*. 2014;378:1418-25. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1404505>
3. Li J, Duan HJ, Chen HY, et al. Age and Ebola viral load correlate with mortality and survival time in 288 Ebola virus disease patients. *Int J Infect Dis*. 2016;42:34-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.10.021>
4. WHO URL: <http://apps.who.int/gho/data/node.ebola-sitrep>
5. Emond RT, Evans B, Bowen ET, Lloyd G. A case of Ebola virus infection. *Br Med J*. 1977;2(6086):541-4. PMID: 890413
6. Mupapa K, Massambala M, Ribadi K. Treatment of Ebola virus hemorrhagic fever with blood transfusions from convalescent patients. *J Infect Dis*. 1999;179(1):18-23. <https://doi.org/10.1086/514298>
7. Van Griensven J, Edwards T, de Lamballerie X, et al. Evaluation of Convalescent Plasma for Ebola Virus Disease in Guinea. *New Eng J Med*. 2016;374(1):33-42. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1511812>
8. Wolf T, Kann G, Becker S, et al. Severe Ebola virus disease with vascular leakage and multiorgan failure: treatment of a patient in intensive care. *Lancet*. 2015;385(9976):1428-35. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)62384-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)62384-9)
9. Uyeki TM, Mehta AK, Davey RT, et al. Clinical Management of Ebola Virus Disease in the United States and Europe. *New Eng J Med*. 2016;374(7):636-46. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1504874>
10. Маркин В.А., Михайлов В.В., Краснянский В.П., Борисевич И.В., Фирсова И.В. Разработка принципов экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола. *Вопросы вирусологии*. 1997;42(1):31-4 [Markin VA, Mikhailov VV, Krasnyanskiy VP, Borisevich IV, Firsova IV. Development of principles of special prophylaxis and current of Ebola fever. *Voprosy virusologii*. 1997;42(1):31-4 (In Russ.)].
11. Dowall SD, Rayner E, Hall G, Carbonnelle C, Raoul H, Coxon R, Abdulla IA, Hewson R. Development of a Cost-effective Ovine Polyclonal Antibody-Based Product, EBOTAb, to Treat Ebola Virus Infection. *J Infect Dis*. 2016;1124-33. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv565>
12. Jarhling PB, Geisbert JB, Swearingen JR, Larsen T, Geisbert TW. Ebola hemorrhagic fever: evaluation of passive immunotherapy in nonhuman primates. *J Infect Dis*. 2007;196(2):400-3. <https://doi.org/10.1086/520587>
13. Dowall SD, Jacquot F, Landon J, Rayner E, Hall G, Carbonnelle C, Raoul H, Pannetier D, Cameron I, Coxon R, Abdulla IA, Hewson R, Carroll MW. Post-exposure treatment of non-human primates lethally infected with Ebola virus with EBOTAb, a purified ovine IgG product. *Scientific Reports* 7. 2017;4099:1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03910-7>
14. Донченко В.В., Лебедев В.Н., Маркин В.А., Фирсова И.В. Эффективность вирусспецифических белков в иммуногенезе при экспериментальной лихорадке Марбург. *Вопросы вирусологии*. 1996;5:216-8 [Donchenko VV, Lebedev VN, Markin VA, Firsova IV. The effectivity of virus-specific proteins in immunogenesis with experimental Marburg fever. *Voprosy virusologii*. 1996;41(5):216-8 (In Russ.)].
15. Краснянский В.П., Михайлов В.В., Борисевич И.В., Градобоев В.Н., Евсеев А.А., Пшеничников В.А. Получение гипериммунной лошадиной сыворотки против вируса Эбола. *Вопросы вирусологии*. 1995;40(3):138-40 [Krasnyanskiy VP, Mikhailov VV, Borisevich IV, Gradooboev VN, Evseev AA, Pshenichnov VA. Preparation of hyperimmune horse serum against Ebola virus. *Voprosy virusologii*. 1995;40(3):138-40 (In Russ.)].
16. Борисевич И.В., Михайлов В.В., Краснянский В.П., Градобоев В.Н., Лебединская Е.В., Потрываева Н.В. Разработка и изучение свойств иммуноглобулина против лихорадки Эбола. *Вопросы вирусологии*. 1995;40(6):270-3 [Borisevich IV, Mikhailov VV, Krasnyanskiy VP, Gradooboev VN, Lebedinskaya EV, Potryvaeva NV. Development and study of the properties of immunoglobulin against Ebola. *Voprosy virusologii*. 1995;40(6):270-3 (In Russ.)].
17. Борисевич И.В., Черникова Н.К., Марков В.И., Краснянский В.П., Борисевич С.В., Рождественский Е.В. Опыт применения специфического иммуноглобулина из сыворотки крови лошадей в качестве

- средства экстренной профилактики лихорадки Эбола. *Вопросы вирусологии*. 2017;1:25-9 [Borisevich IV, Chernikova NK, Markov VI, Krasnianskiy VP, Borisevich SV, Rozhdestvenskiy EV. An experience in the clinical use of specific immunoglobulin from horse blood serum for prophylaxis of Ebola haemorrhagic fever. *Voprosy virusologii*. 2017;62(1):25-9 (In Russ.)]. doi: 10.18821/0507-4088-2017-62-1-25-29
18. Pyankov OV, Setoch YX, Bodnev SA, Edmonds JH, Pyankova OG, Pyankov SA, Pali G, Belford S, Lu L, La M, Lovrecz G, Volchkova VA, Chappell KJ, Waterson D, Marsh G, Young PB, Agafonov AA, Farmer JF, Volchkov VE, Subbier A, Khromykh AA. Successful post-exposure prophylaxis of Ebola infected non-human primates using Ebola glycoprotein-specific equine IgG. *Scientific Reports*. 2017;7:1-8. <https://doi.org/10.1038/srep41537>
 19. WHO Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. Available from: http://www.who.int/bloodproducts/snake_antivenoms/snakeantivenomguide/en/ Accepted Oct.2016.
 20. Dye JM, Wu H, Hooper JW, Khurana S, Kuehne AI, Coile EM, Ortiz R, Fuentes S, Herbert AS, Golding H, Bakken RA, Brannan JM, Kwilas SA, Sullivan EJ, Luke TC, Smith G, Glenn G, Li W, Ye L, Yang C, Compans RW, Tripp RA, Jiao JA. Production of potent fully human polyclonal antibodies against Ebola Zaire virus in transchromosomal cattle. *Scientific Reports* 6. 2016;6:1-9. <https://doi.org/10.1038/srep24897>
 21. Choi WY, Hong KJ, Hong JE, Lee WJ. Progress of vaccine and drug development for Ebola preparedness. *Clin Exp Vaccine Res*. 2015;4(1):11-6. <https://doi.org/10.7774/cevr.2015.4.1.11>
 22. Olinger GG Jr, Pettitt J, Kim D, Working C, Bohorov O, Bratcher B, Hiatt E, Hume SD, Johnson AK, Morton J, Pauly M, Whaley KJ, Lear CM, Biggins JE, Scully C, Hensley L, Zeitlin L. Delayed treatment of Ebola virus infection with plant-derived monoclonal antibodies provides protection in rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(44):18030-5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1213709109>
 23. Qiu X, Audet J, Wong G, Pillet S, Bello A, Cabral T, Strong JE, Plummer F, Corbett CR, Alimonti JB, Kobinger GP. Successful treatment of ebola virus-infected cynomolgus macaques with monoclonal antibodies. *Sci Transl Med*. 2012;4(138):1-12. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003876>
 24. Haque A, Hober D, Blondiaux J. Addressing Therapeutic Options for Ebola Virus Infection in Current and Future Outbreaks. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(10):5892-902. <https://doi.org/10.1128/aac.01105-15>
 25. Sayburn A. WHO gives go ahead for experimental treatments to be used in Ebola outbreak. *BMJ*. 2014;349:1. <https://doi.org/10.1136/bmj.g5161>
 26. Zhang Q, Gui M, Niu X, He S, Wang R, Feng Y, Kroeker A, Zuo Y, Wang H, Wang Y, Li J, Li C, Shi Y, Shi X, Gao G, Xiang Y, Qiu X, Chen L, Zhang L. Potent neutralizing monoclonal antibodies against Ebola virus infection. *Sci Reports*. 2016;6:1-15. <https://doi.org/10.1038/srep25856>
 27. Holtsberg FW, Shulenin S, Vu H, Howell KA, Patel SJ, Gunn B, Karim M, Lai JR, Frei JC, Nyakatura EK, Zeitlin L, Douglas R, Fusco ML, Froude JW, Saphire EO, Herbert AS, Wirchnianski AS, Lear-Rooney CM, Alter G, Dye JM, Glass PJ, Warfield KL, Aman MJ. Pan-ebolavirus and Pan-filovirus Mouse Monoclonal Antibodies: Protection against Ebola and Sudan Viruses. *J Virol*. 2015;90(1):266-78. <https://doi.org/10.1128/jvi.02171-15>
 28. Keck ZY, Enterlein SG, Howell KA, Vu H, Shulenin S, Warfield KL, Froude JW, Araghi N, Douglas R, Biggins J, Lear-Rooney CM, Wirchnianski AS, Lau P, Wang Y, Herbert AS, Dye JM, Glass PJ, Holtsberg FW, Fong SKH, Aman MJ. Macaque monoclonal antibodies targeting novel conserved epitopes within filovirus glycoprotein. *J Virol*. 2016;90(1):279-91. <https://doi.org/10.1128/jvi.02172-15>
 29. Wec AZ, Myakatura EK, Herbert AS, Howell KA, Holtsberg FA, Bakken RR, Mittler E, Christin JR, Shulenin S, Jangra RK, Bharran S, Kuehne AI, Bornholdt ZA, Flyak AI, Saphire EO, Crowe JEt Jr, Aman MJ, Dye JM, Lai JR, Chandran K. A "Trojan horse" bispecific-antibody strategy for broad protection against ebolaviruses. *Science*. 2016;354(6310):350-4. <https://doi.org/10.1126/science.aag3267>

Поступила 25.11.2018