



Гуманизированные антитела. Современные разработки и перспективы создания медицинских средств биологической защиты

А.С. Горшков, Д.В. Печенкин, А.В. Кузнецовский, Д.В. Боровской

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров),
610000, Российская Федерация, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 119
e-mail: 23527@mil.ru

Поступила 28.08.2023 г. Принята к публикации 27.09.2023 г.

Пассивная иммунизация – вариант иммунизации, при котором в организм вводятся антитела в достаточном для оказания лечебного эффекта количестве. «Окном возможностей» для пассивной иммунизации остается экстренная постконтактная профилактика инфекционных заболеваний и их превентивная терапия, особенно при отсутствии подходящих для этих целей химиотерапевтических препаратов или их недостаточной эффективности. Существующие гетерологичные препараты на основе гипериммунных сывороток обладают высокой реактогенностью, а получение донорских человеческих иммуноглобулинов сопряжено с рядом этических и технических ограничений. Поэтому биотехнологии, позволяющие в промышленном масштабе получить низкреактогенные препараты химерных моноклональных антител с частично человеческой специфичностью, а также рекомбинантные антитела полностью человеческой специфичности, имеют огромные перспективы. Это направление получило название «гуманизация антител». Цель работы – провести анализ современных разработок и показать перспективы создания гуманизированных антител, специфичных к антигенам возбудителей особо опасных инфекций и токсинов, в качестве медицинских средств биологической защиты. Источниковая база исследования – англоязычная научная литература, доступная через сеть «Интернет». Метод исследования – анализ научных источников по изучаемой тематике от общего к частному. Результаты и обсуждение. Представлена история создания препаратов специфической профилактики на основе гетерологичных и гомологичных сывороток/иммуноглобулинов и моноклональных антител. Показано, что в настоящее время гуманизированные специфические моноклональные антитела широко применяются для терапии ряда тяжелых хронических заболеваний (например, ревматоидного артрита, псориаза, иммуновоспалительных заболеваний кишечника, злокачественных опухолей). Заключение. В последнее время отмечено появление как научных разработок, так и уже разрешенных к применению в клинической практике препаратов рекомбинантных антител, специфичных к антигенам возбудителей особо опасных инфекций и токсинов – потенциальным агентам биотеррора, таким как сибиреязвенный микроб, ботулинические токсины различных типов, растительные токсины рицин и абрин, эболавирусы, коронавирусы. Такие препараты могут также быть применены как медицинские средства биологической защиты от поражающих агентов биологического оружия.

Ключевые слова: гетерологичные препараты; гуманизация; иммунитет; моноклональные антитела; пассивный иммунитет; токсины.

Для цитирования: Горшков А.С., Печенкин Д.В., Кузнецовский А.В., Боровской Д.В. Гуманизированные антитела. Современные разработки и перспективы создания медицинских средств биологической защиты. Вестник войск РХБ защиты. 2023;7(3):261–275. EDN: ofpwnq.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2023-7-3-261-275>

Humanized Antibodies. Modern Developments and Prospects for the Creation of Medical Protectors Against Biological Threats and Hazards

A.S. Gorshkov, D.V. Pechenkin, A.V. Kuznetsovskiy, D.V. Borovskoy

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment
«48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation,
Oktyabrsky Avenue, 119, Kirov 610000, Russian Federation
e-mail: 23527@mil.ru

Received August 28, 2023. Accepted September 27, 2023

Passive immunization is the variant of the immunization, in which antibodies are introduced into the body in quantities, sufficient to provide a therapeutic effect. One of the «windows of opportunity» for passive immunization is an urgent post-exposure prophylaxis of infectious diseases and their preventive therapy, especially in the absence of chemotherapy drugs suitable for these purposes or their insufficient effectiveness. The existing heterologous drugs based on hyperimmune sera are highly reactogenic, and obtaining donor human immunoglobulins is associated with a number of ethical and technical restrictions. Therefore, biotechnologies that make it possible to obtain, on an industrial scale, low-reactogenic preparations of chimeric monoclonal antibodies with partially human specificity, as well as recombinant antibodies with fully human specificity, have enormous prospects. This trend is called «humanization of antibodies.» *The purpose of this article* is to analyze modern developments and to show the prospects for creating humanized antibodies specific to antigens of pathogens of especially dangerous infections and toxins as medical biological protection agents. *The sources of the research* are English-language studies and the scientific literature available via the Internet. The research method is an analysis of scientific sources on the topic being studied from the general to the specific. *Results and discussion.* The history of the creation of specific prevention drugs based on heterologous and homologous sera/immunoglobulins and monoclonal antibodies is presented. It has been shown in the article, that humanized specific monoclonal antibodies are widely used currently for the treatment of a number of severe chronic diseases (for example, rheumatoid arthritis, psoriasis, immunoinflammatory bowel diseases, malignant tumors). *Conclusion.* Recently, there has been an increase in numbers of both scientific research and developments, and drugs of recombinant antibodies already approved for use in clinical practice, specific to antigens of pathogens of especially dangerous infections and toxins - potential agents of bioterrorism, such as the anthrax microbe, botulinum toxins of various types, plant toxins ricin and abrin, ebolaviruses, coronaviruses. Such drugs can also be used as medical protectors against biological threats and hazards.

Keywords: immunity; monoclonal antibodies; passive immunity; heterologous drugs; humanization; toxins.

For citation: Gorshkov A.S., Pechenkin D.V., Kuznetsovskiy A.V., Borovskoy D.V. Humanized Antibodies. Modern Developments and Prospects for the Creation of Medical Protectors Against Biological Threats and Hazards. *Journal of NBC Protection Corps.* 2023;7(3):261–275. EDN:ofpwnq. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2023-7-3-261-275>

С момента открытия такого явления, как «иммунитет», внимание исследователей всего мира было направлено на изучение его свойств и механизмов реализации защиты организма от чужеродных начал. Длительные споры между сторонниками теорий П. Эрлиха и И. Мечникова, отдающих ведущую роль гуморальному либо клеточному звену соответственно, привели к накоплению знаний и формированию синтетического подхода, в котором эти звенья не разорваны, а находятся в состоянии баланса и дополняют друг друга. Экспериментальное подтверждение унитарной теории кроветворения J.E. Till и E.A. McCulloch [1] позволило окончательно

установить взаимное родство кроветворных клеток, морфологически и функционально разделить миело- и лимфопоэз. Открытие субпопуляций лимфоцитов и методов их типирования, развитие клеточных технологий и средств выделения целевых популяций иммунных клеток позволило установить роль каждой из них в процессе иммунного ответа, а также использовать эти знания с практическими целями. Окончательное формирование представлений о фундаментальных принципах функционирования системы иммунной защиты (клонально-селективная теория) произошло в работах Ф. Бернета [2]. Промежуточным итогом длительного про-

цесса исследования иммунитета, который продолжается и в настоящее время, является разработка медицинских средств предупреждения и лечения инфекционных заболеваний, а также лечения ряда неинфекционных заболеваний, в патогенезе которых иммунная система играет центральную роль (аллергические заболевания, аутоиммунные заболевания, онкологические заболевания).

По способу формирования иммунитет подразделяют на активный и пассивный. В первом случае формирование невосприимчивости в организме происходит за счет введения антигена и индукции иммунного ответа организма на его введение. Во втором случае иммунитет формируется за счет введения готовых антител. Антитела в организм могут поступать как искусственным путем в составе медицинских препаратов, так и естественным путем, когда антитела матери поступают в кровоток плода трансплацентарно.

Необходимо отметить, что традиционно в медицинской практике большее внимание уделяется методологии активной иммунизации (вакцинации). Во многом благодаря высокой эффективности вакцин и их способности предупреждать развитие ряда заболеваний, в первую очередь инфекционных, социально-экономическое значение активной иммунизации остается огромным. Внедрение метода активной иммунизации, начатое Э. Дженнером, привело к резкому снижению заболеваемости и смертности от многих инфекций – дифтерии, кори, коклюша, туберкулеза и многих других. Именно благодаря вакцинации на сегодняшний день ВОЗ считает полностью ликвидированной оспу и частично (в европейском регионе) полиомиелит. В эпидемиологическом отношении многие инфекции стали вакцино-управляемыми, что подняло медицину в целом на качественно иной уровень. В настоящее время пристальное внимание многих иммунологов обращено в сторону разработки новых вакцин, обладающих повышенной эффективностью, сниженной реактогенностью и, как следствие, являющихся более безопасными.

Однако не все проблемные моменты инфекционной патологии можно решить с использованием активной иммунизации. Пандемия COVID-19 показала, что, несмотря на большое количество разработанных вакцинных платформ, создание вакцины, особенно в случае появления новых возбудителей, не всегда решает эпидемиологическую проблему. Так, причинами низкой эффективности кандидатной вакцины могут быть высокая антигенная изменчивость

возбудителей (классические примеры – вирусы гриппа и ВИЧ-инфекции), недостаточные протективные или иммуногенные свойства антигенов возбудителей, нестойкий поствакцинальный иммунитет. К тому же, антигенная перегрузка иммунной системы большим количеством активных иммунизаций может привести к обратному эффекту – срыву иммунитета, аллергизации организма и развитию аутоиммунных реакций. Поэтому во многих странах существуют национальные календари прививок и утвержденные перечни инфекционных заболеваний, в отношении которых обязательная вакцинация наиболее целесообразна. При этом лица из групп риска или декретированные слои населения могут получать дополнительные вакцины, поскольку имеют повышенный риск контакта с возбудителями соответствующих инфекционных заболеваний.

А как же быть в случае заболевания инфекцией, в отношении которой вакцины не разработаны, у пациента имеются медицинские противопоказания к вакцинации или требуется экстренная постконтактная профилактика? Именно здесь и формируется концептуальная область для применения второго варианта иммунизации – пассивной, когда пациенту вводится не антигенный материал, а протективные антитела в достаточном для оказания лечебного эффекта количестве. «Окном возможностей» для пассивной иммунизации остается экстренная постконтактная профилактика инфекционных заболеваний и их превентивная терапия, особенно при отсутствии подходящих для этих целей химиотерапевтических препаратов или их недостаточной эффективности.

Цель работы: провести анализ современных разработок и показать перспективы создания гуманизированных антител, специфичных к антигенам возбудителей особо опасных инфекций и токсинов, в качестве медицинских средств биологической защиты.

Источниковая база исследования – англоязычная научная литература, доступная через сеть «Интернет».

Метод исследования – анализ научных источников по изучаемой тематике от общего к частному.

Сывороточные препараты лечебных антител. Длительное время единственным источником антител для лечебного применения были гетерологичные сыворотки, полученные от животных. По ряду причин (относительная легкость гипериммунизации, возможность одномоментного получения большого количества сыворотки без гибели животного, сравнительная легкость

выделения гамма-глобулиновой фракции) в качестве животных-доноров чаще всего использовались лошади. История применения гетерологичных сывороточных препаратов в России насчитывает более 100 лет, начиная с применения малоочищенных препаратов цельного лошадиного иммуноглобулина, и заканчивая современным продуктом, представляющим очищенный комплекс биологически активных фрагментов иммуноглобулина [3, 4]. Такие препараты, даже высокой степени очистки, весьма реактогенны и могут вызвать серьезные осложнения, например анафилактический шок.

Несмотря на значительные достижения инженерной иммунологии, ряд гетерологичных иммуноглобулинов остается применимыми и в настоящее время. Так, один из эффективных иммунодепрессантов Атгам (иммуноглобулин анти-Т лимфоцитарный животного происхождения для применения у человека) выпускается компанией Pfizer, Inc. (США), и до сих пор активно применяется в гематологической практике. Аналогично применяемой в России противодифтерийной лошадиной сыворотке, в США до сих пор применяется противодифтерийный лошадиный иммуноглобулин под наименованием «дифтерийный анти毒素» – DAT, diphtheria antitoxin¹, включенный ВОЗ в перечень основных лекарственных средств вместе с сыворотками против ядов змей [4].

Одним из способов избежать побочных реакций от применения препаратов гетерологичных антител является получение гомологичных препаратов антител, выделенных из человеческой сыворотки иммунных доноров. Такие препараты зарегистрированы и успешно применяются для лечения и профилактики ряда заболеваний. Тем не менее, такие препараты обладают рядом недостатков, обусловленных источником их получения – они могут быть контаминированы возбудителями гемотрансмиссивных инфекций, наиболее опасными из которых являются вирусы гепатитов В и С, а также ВИЧ. К недостаткам донорских иммуноглобулинов следует отнести также относительную сложность воспроизведения, масштабирования и стандартизации технологии, поскольку для этого необходимо иметь в первую очередь большую выборку иммунных доноров.

Моноклональные антитела. Решение проблемы масштабирования производства препаратов антител, обладающих высокой специфичностью, основывается на использовании моноклональных антител (МкАт).

Технология производства моноклональных антител берет начало в 1975 г. в работах Г. Келера и Ц. Мильштейна [5]. К настоящему времени создание гибридом-продуцентов мышинных моноклональных антител получило широкое распространение по всему миру, а сама технология претерпела большое количество усовершенствований и модификаций по направлениям использования различных ростовых сред, партнерских линий, агентов слияния клеток, стратегий селекции клонов, подходов к наработке антител в условиях *in vivo* (в асцитах) и *in vitro* (клеточные фабрики, волоконные реакторы). В упрощенном варианте, принцип получения моноклональных антител состоит в слиянии двух разных клеточных форм (клетки миеломы и спленоциты) с последующей селекцией слитых клеток, их тестированием, отбором, клонированием и размножением. Технология получения гибридом широко известна, ее детальное описание можно найти в специальной учебной литературе (микробиология, иммунология, биотехнология), поэтому в рамках данной статьи она рассматриваться не будет.

Несмотря на то, что мышинные моноклональные антитела обладают высочайшей специфичностью, их терапевтическое применение столкнулось с ограничениями. Несомненно, что мышинные МкАт по степени очистки намного превосходят гипериммунные сыворотки других видов животных и гетерологичные препараты иммуноглобулинов. Тем не менее, поступление в организм чужеродного мышинового белка все равно приводит к развитию иммунного ответа на вводимый препарат, вызывает выработку нейтрализующих антител и неспецифические аллергические реакции.

По описанной Г. Келером и Ц. Мильштейном схеме по ряду причин получается создать преимущественно мышинные моноклональные антитела. Одной из главных причин такого положения дел является отсутствие подходящей партнерской линии человеческой миеломы, которая не продуцировала бы иммуноглобулины. Попытки использовать для этих целей гибридные химеры человеческих и мышинных клеток не привели к желаемому результату, поскольку такие гибриды оказываются крайне нестабильными по хромосомному набору. Получение бессмертных линий из плазматических клеток человека при этом с достаточной частотой обеспечивается только вирусом Эпштейн-Барр, контаминация конечного продукта ко-

¹ Diphtheria Antitoxin. URL: <https://www.cdc.gov/diphtheria/dat.html> (дата обращения: 03.08.2023).

торым привела бы к серьезным последствиям в виде развития ассоциированных с ним заболеваний (инфекционный мононуклеоз, лимфома Беркитта). Иммунизация человека для получения большого числа антителопродуцирующих клеток также невозможна по этическим соображениям.

Технологии гуманизации антител. В связи с этим технология получения терапевтических антител стала развиваться в сторону создания химерных вариантов, когда на первом этапе исследователь получает целевые моноклональные антитела, а на втором – модифицирует их и получает антитела, которые, наряду с мышиными участками, имеют участки белка человеческой специфичности. В идеале в составе лечебного антитела вообще не должно содержаться гетерологичных участков, способных вызвать побочные реакции. Такое замещение доменов, подразумевающее процесс объединения человеческих и мышиных компонентов в одном антителе, было обозначено термином «гуманизация», от латинского слова «humanus» – человеческий. В настоящее время с использованием генно-инженерных методов стало возможным не только проводить замену доменов антител, но и создать антитела полностью человеческой специфичности, которые, в строгом понимании, не являются гуманизированными. Поэтому термин «гуманизация», хоть и характеризует строго

определенный тип антител, но традиционно употребляется для обозначения всего комплекса подходов к получению подобных биопрепаратов.

Согласно рекомендациям ВОЗ, названия всех препаратов моноклональных антител заканчиваются на – маб, как производное от словосочетания **monoclonal antibody**. В зависимости от типа антител, к окончанию прибавляются иные буквы. Так, препараты антител мыши имеют окончание «омаб», химерные антитела – «ксимаб», гуманизированные – «зумаб», полностью человеческие – «умаб» [6] (рисунок 1).

Поскольку современные технологии стирают границы между химерными, собственно гуманизированными и полностью человеческими антителами, ВОЗ в 2017 г. приняла решение о постепенном отказе от строгого следования вышеописанным окончаниям в названиях препаратов лечебных антител. В ряде источников генно-инженерные антитела, предназначенные для клинического применения, рекомендуется называть терапевтическими [6, 7].

С учетом того, что антитела состоят из различных доменов, изменение структуры антител в направлении гуманизации сопряжено с изменением этих доменов. На рисунке 2 схематично представлена структура иммуноглобулина класса G и основные типы фрагментов антител, которые могут

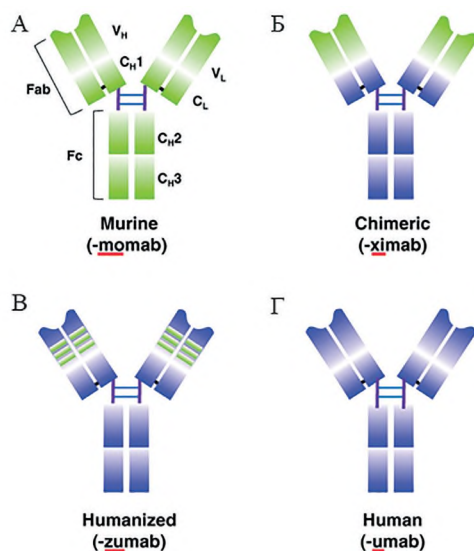


Рисунок 1 – Схематичное изображение терапевтических антител и окончания их международных непатентованных названий, приведено по R.M. Lu с соавт. [6]. А – мышиное моноклональное антитело, все домены мышиной специфичности (зеленые), окончание названия -момаб; Б – химерное моноклональное антитело, переменные участки мышиной специфичности (зеленые), константные имеют человеческую специфичность (синие), окончание названия -ксимаб; В – гуманизированное антитело, мышиную специфичность (зеленые) имеют только гиперпеременные участки, окончание названия -зумаб; Г – полностью человеческое антитело (все домены синие), окончание названия -умаб

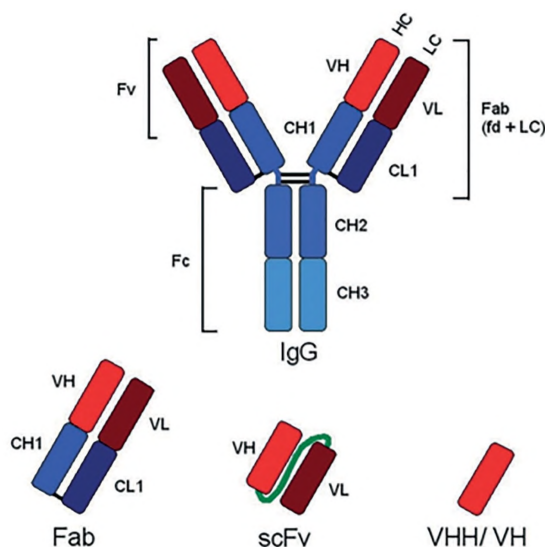


Рисунок 2 – Основные типы фрагментов антител, приведено по A.L. Nelson [8]. CH – константный участок тяжелой цепи (constant heavy chain); CL – константный участок легкой цепи (constant light chain); IgG – иммуноглобулин класса G (immunoglobulin); Fab – антиген-связывающий фрагмент (antigen binding fragment); scFv – одноцепочечный переменный фрагмент (single chain variable fragment); VH – переменный фрагмент тяжелой цепи (variable heavy chain); VL – переменный участок легкой цепи (variable light chain)

использоваться при конструировании целевых биотехнологических продуктов.

К настоящему времени разработано большое число методических подходов, позволяющих получать полностью человеческие или частично человеческие антитела/фрагменты антител. Схематично кластер методов частичной или полной гуманизации представлен на рисунке 3.

Первой технологией получения гуманизированных антител была технология CDR-графтов, разработанная в 1986 г. [9]. Данная технология состоит в том, что на «каркас» человеческого антитела в области определяющего комплементарности сайта (complementarity determining region, CDR, синоним – гипервариабельные участки) «пересаживается графт» мышинной специфичности. Для этого с использованием молекулярно-генетических методов проводится клонирование генов иммуноглобулинов человека. Параллельно проводится клонирование переменных участков генов мышинных иммуноглобулинов, выделенных из генетического материала гибридомы-продукта моноклональных антител нужной специфичности. В дальнейшем обе клонированные последовательности объединяются, а химерный белковый продукт экспрессии такой рекомбинантной ДНК является антителом смешанного (человек/мышь) происхождения. При этом если вставки мышинного генетического материала на «человеческий

каркас» происходят только в области CDR, то такое антитело называется гуманизированным, а если мышинные «вставки» больше по размеру, и содержат полные VH- и VL-участки, то такое антитело терминологически относится к химерным [6].

Развитие технологии гуманизации пошло в сторону полного отказа от мышинных последовательностей в структуре антител. Одним из возможных вариантов реализации данного направления является использование дисплейных методов. Общей чертой всех дисплейных методов является объединение нуклеотидной и аминокислотной последовательностей отбираемого фрагмента антитела в едином объекте – бактериофаге (фаговый дисплей), клетке (клеточный дисплей), рибосоме (рибосомный дисплей). Наиболее разработанной технологией производства рекомбинантных антител является фаговый дисплей, с помощью которого удобно получать небольшие фрагменты антител, например Fab-фрагменты. На первом этапе работы создается большое количество (10^8 – 10^9 вариантов) генетических последовательностей переменных участков иммуноглобулинов. Естественные библиотеки переменных доменов антител получают методом обратнотранскриптазной ПЦР из лимфоидных тканей или периферической крови людей или животных. Преимущество этого метода в том, что полученные антитела будут иметь правильную, природную

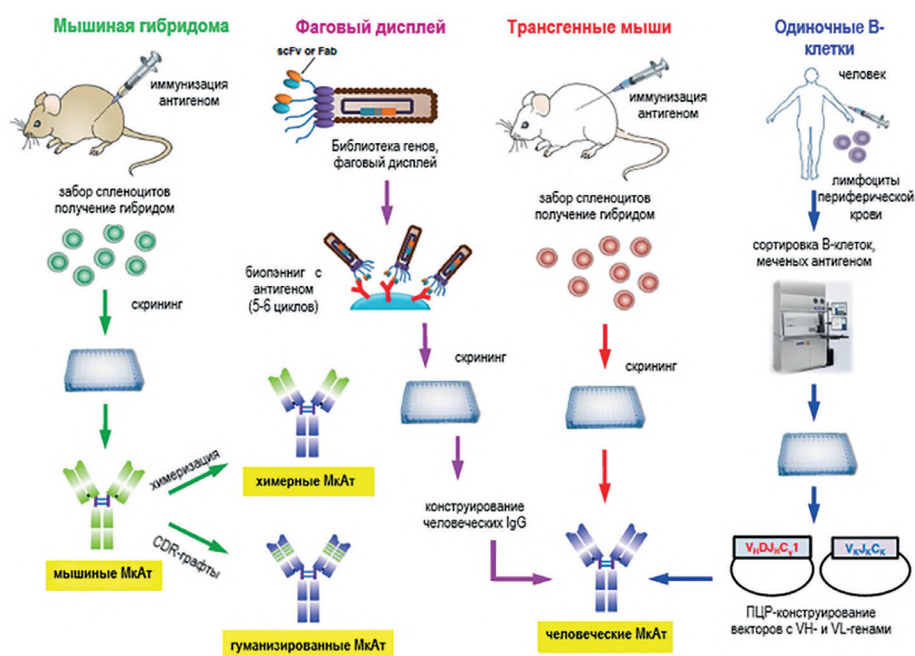


Рисунок 3 – Кластер методов, позволяющих получить терапевтические моноклональные антитела, приводится по R.M. Lu с соавт. [6]

конформацию, так как их гены кодируют функциональные антитела. Синтетические библиотеки генов можно получить путем встраивания искусственно синтезированных участков ДНК с случайными мутациями в последовательности, кодирующие переменные домены антител. Полученная библиотека генов встраивается в геном бактериофагов M13, которыми трансдуцируют микробные клетки *Escherichia coli*. После заражения клеток вспомогательным фагом в клетке начинается сборка библиотеки бактериофагов, у которых в составе капсида имеются целевые молекулы участков иммуноглобулинов, соответствующие тому гену, который имеется в данном конкретном бактериофаге. После отбора высокоаффинных клонов (сорбция фагов на иммобилизованном антигене – биопэннинг) производят повторное заражение клеток *E. coli* с последующим секвенированием генома бактериофага. После расшифровки отобранную генетическую последовательность переменного участка антитела встраивают в подходящий вектор и переходят к конечному этапу – разработке антител в подходящей системе.

Другим подходом к разработке терапевтических полностью человеческих антител является использование трансгенных животных – линейных мышей, способных син-

тезировать человеческие иммуноглобулины и не синтезировать мышьи иммуноглобулины. Впервые такая технология была описана в 90-х годах прошлого века, когда появилось сообщение о создании линий мышей HuMabMouse [10] и Xenomouse [11]. Первым коммерческим препаратом, созданным по данной технологии, стал препарат Panitumumab, сертифицированный к применению в США FDA в 2006 г. Для производства моноклональных антител с использованием гуманизированных линий мышей подходит широко известная гибридомная технология. Все гуманизированные линии мышей, в отличие от гибридомной технологии, защищены патентами и не могут быть свободно использованы, что сильно ограничивает широкое использование метода трансгенных животных для разработки лечебных антител. Патентные права на использование трансгенных мышей находились у компании Medarex (сейчас Bristol Myers Squibb, США), позднее линию генно-модифицированных мышей для производства антител лицензировала компания Pfizer, Inc. (США)².

Еще одним потенциальным подходом для создания полностью человеческих моноклональных антител является работа с одиночными В-клетками человека, которая стала возможна благодаря развитию технологий

² Pfizer Licenses Transgenic Mice Tech to Make Human MAbs. URL: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2013/07/26/Pfizer-Licenses-Transgenic-Mice-Tech-to-Make-Human-MAbs> (дата обращения: 01.08.2023).

отбора единичных клеток – клеточной сортировки. С использованием клеточного сортиера из образцов периферической крови или костного мозга иммунных доноров выделяется популяция В-клеток. Для выделения антиген-специфичных клеток возможно также использование метода иммуномагнитной сепарации. Из отсортированных клеток выделяется матричная РНК и с использованием обратнотранскриптазной ПЦР проводится амплификация генов тяжелых и легких цепей единичных клеток. Традиционно прямые праймеры подбираются специфичными к переменным участкам, а обратные – к константным [6]. В дальнейшем амплифицированные участки клонируются в соответствующие векторы, пригодные для трансфекции выбранных клеток-продуцентов, например, линии клеток китайского хомячка СНО.

С помощью описанных выше технологий можно создать как полноразмерные антитела, так и различные производные антител, отличающиеся от них фармакокинетическими свойствами. Основные типы рекомбинантных продуктов такого рода представлены на рисунке 4.

Основным объектом инженерии при этом выступают антигенсвязывающие Fab-фрагменты антител. В настоящее время большое количество разработок в области инженерии Fab-фрагментов направлено на создание биспецифических и даже триспецифических антител с разными антигенсвязывающими активностями [12]. В первую очередь, такие антитела необходимы онкологам для таргетной терапии опухолей: привлечению к опухоли

цитотоксических клеток и реагентов, одновременному ингибированию разных сигнальных путей, цитокинов и др.

В силу высокой технологичности производства, рынок терапевтических МкАт исчисляется миллиардами долларов, а их стоимость очень высока. Подавляющее большинство препаратов терапевтических моноклональных антител в настоящее время создано и используется для лечения сложных хронических заболеваний, в отношении которых иные фармакологические способы коррекции недостаточно эффективны. В основном это: онкопатология, ревматология, аллергология, аутоиммунная патология. Поскольку большинство бактериальных инфекций хорошо поддается лечению антибактериальными препаратами, потребность современной клинической эпидемиологии и инфектологии в препаратах лечебных моноклональных антител не столь значима. Тем не менее, когда речь идет о терапии особо опасных инфекций, поражений биологическими токсинами, особенно в условиях их биотеррористического применения, классические схемы терапии могут оказаться неэффективными ввиду особых биологических свойств примененного биологического агента (повышенная вирулентность, множественная антибиотикорезистентность, способность преодолевать поствакцинальный иммунитет, антигенная мимикрия и др.) или способов его применения, изначально обуславливающих развитие тяжелых клинических форм заболевания. Поэтому поиск высокоспецифических препаратов, обладающих высокой эффектив-

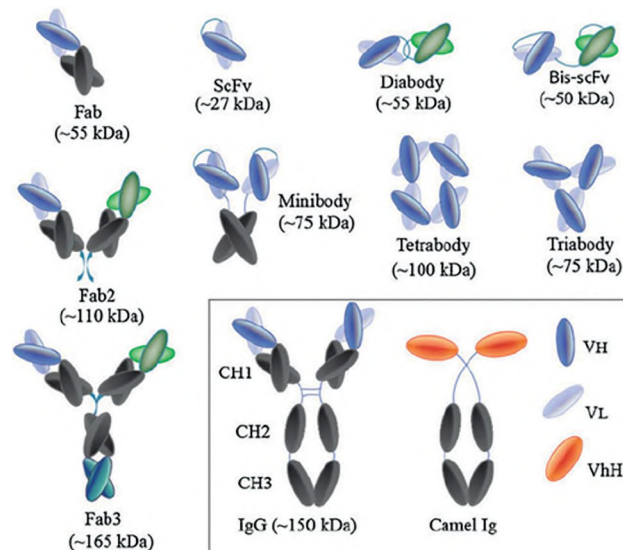


Рисунок 4 – Основные типы рекомбинантных производных антител, приводится по X. Zeng с соавт. (The antibody, and different antibody fragments. URL: https://www.researchgate.net/figure/The-antibody-and-different-antibody-fragments-1_fig2_51869329; дата обращения: 02.08.2023)

ностью и возможностью использования в качестве антидота, является актуальным направлением развития медицинских средств биологической защиты. Перечисленными выше свойствами в полной мере обладают иммуноглобулины, введение которых может быть использовано как с профилактической, так и с лечебной целью в составе комплексной патогенетической терапии развившегося инфекционного заболевания или поражения токсинами биологического происхождения.

С учетом современного уровня развития биотехнологии, стратегии разработки таких препаратов должны быть максимально удалены от использования устаревшего подхода с получением гипериммунных лошадиных сывороток. Получение донорских иммуноглобулинов также не подходит для решения задач биологической защиты, поскольку данная технология не может быть развернута и масштабирована в короткие сроки, как, например, производство живых вакцин. На наш взгляд, оптимальным подходом в этом случае является получение гуманизированных антител, эффективность и безопасность применения которых является давно подтвержденным медицинским фактом.

Ботулинические токсины. Ботулинические токсины различных типов – сильнейшие органические яды, которые по праву рассматриваются как наиболее вероятные агенты биологического оружия и биологического террора [13]. Несмотря на это, единственным средством специфической терапии ботулизма в России являются гетерологичные препараты – лошадиные моновалентные антиботулинические противоботулинические сыворотки, которые выпускаются НПО «Микроген»³. Несомненно, что в отношении такого актуального агента необходима разработка современного низкорелевантного медицинского средства защиты, которое можно было бы применять в качестве антидота при отравлениях ботулиническими токсинами. В качестве такого средства могут выступить терапевтические моноклональные антитела.

Необходимость подобных исследований была признана как в Европе, так и в США. Так, в Европе с участием специалистов института Пастера (Франция), военно-биологического института Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA-CRSSA, Франция), а также ряда биотехнологических

компаний Франции, Германии и Великобритании проводится разработка гуманизированных токсин-нейтрализующих антител под условным названием AntiBotABE Program. В рамках данной программы на основе антител макака с использованием технологии фагового дисплея был получен коктейль гуманизированных антител против BoNT/A, BoNT/B и BoNT/E, перспективных для клинического применения [14, 15].

Аналогичные работы проводятся и в США. Так, коллектив авторов сообщает о проведении доклинических исследований (на крысиной модели) по оценке фармакокинетических характеристик коктейля антител против ботулинических токсинов серотипов А, В, Е, С и D (соответственно, NTM-1631, NTM-1632, NTM-1633 и NTM-1634) [16]. В данном исследовании было показано, что период полувыведения препаратов антител составляет в среднем от 6,5 до 10 суток. Позднее с использованием данных антител был произведен ряд экспериментальных исследований по оценке их протективной эффективности на животных моделях, а также клинические исследования по оценке фармакокинетических характеристик, которые показали их высокую эффективность и безопасность [17–21].

Другой коллектив авторов из США также сообщает о создании гуманизированных антител против ботулинического токсина серотипа G. Антитела hu6G6.2, hu6G7.2, hu6G9.1, hu6G10 и hu6G11.2 были созданы с использованием дрожжевого дисплея, три варианта коктейля из данных антител обеспечивали полную защиту от поражения BoNT/G в дозе 10000 LD₅₀ на животное [22].

В России коллективом авторов запатентован способ получения гуманизированных Fab-фрагментов антител, специфичных к ботулиническому токсину типа С [23].

Рицин и абрин. Токсины растительного происхождения рицин и абрин рассматриваются специалистами как потенциальные агенты биологического оружия и биотерроризма. Рицин при этом включен в первый список «Конвенции...»⁴, в то время как более токсичный абрин в данном списке отсутствует. Несмотря на то, что отравления рицином и абрином криминального и террористического характера достаточно распространены в США и Европе, на сегодняшний день до сих пор не разработано

³ Сыворотки. URL: <https://www.microgen.ru/products/syvorotki/> (дата обращения: 01.08.2023).

⁴ Приложение о Химических Веществах. Список 1. URL: <https://www.opcw.org/ru/konvenciya-o-khimicheskomykh-vezhestvakh/prilozheniya/annex-chemicals/spisok-1> (дата обращения: 01.08.2023).

адекватного антитела для лечения рицин/абриновой интоксикации. В качестве перспективного средства в этом отношении ряд авторов предлагает использовать терапевтические моноклональные антитела. Одной из особенностей моноклональных антител, получаемых к абрину и ригину, является то, что большинство полученных МкАт только частично нейтрализуют ригин и абрин, или не нейтрализуют их вообще, поскольку у данных токсинов только часть иммуногенных эпитопов являются протективными.

Так, в отношении абрина известно всего несколько моноклональных антител, обладающих способностью полностью нейтрализовать токсин в условиях *in vitro* и *in vivo*. До некоторого времени таких антител было только два – D6F10 и A7C4, и оба антитела не применялись в клинической практике. Сравнительно недавно появилось сообщение о том, что на основе мышиног моноклонального антитела 10D8 группе авторов [24] удалось получить гуманизированное антитело S008, которое рассматривается как кандидатный препарат для клинического применения. Использование МкАт в концентрации 100 нг/мл обеспечивало полную защиту клеток линий Jurcat и Vero от токсического воздействия абрина. При оценке токсин-нейтрализующей активности антител *in vivo* авторы использовали абрин в дозе 0,25 мг/кг, обеспечивающей гибель 100 % мышей, взятых в опыт. Введение лабораторным животным антител в дозе 50 мкг/кг обеспечило их 100 % выживаемость. Введение препарата антител S008 в дозе 150 мг/кг за 2 ч до инъекции абрина также полностью защищало мышей от гибели. Было установлено, что «терапевтическое окно» применения (для постконтактной профилактики) данного препарата составляет порядка 6 часов, а по истечении 15 ч от момента введения абрина, применение антител становится неэффективным.

В отношении ригина ситуация обстоит несколько лучше – на сегодняшний день изучены протективные эпитопы субъединиц ригина, охарактеризовано несколько протективных моноклональных антител. На субъединице А ригина были обнаружены шесть иммунодоминантных регионов [25]. На субъединице В также были найдены иммуногенные эпитопы, но только часть из них позволяла получить антитела с протективным эффектом. До 2006 г. было детально описано только одно антитело 75/3В12, нейтрализующее субъединицу В ригина [26]. Позднее было получено еще одно антитело 24В11,

специфичное к субъединице В, обладающее антитоксическим эффектом [27]. Обобщенно информация о мышинных моноклональных антителах, тестированных на предмет антитоксических свойств, описана J.M. O'Hara с соавт. [28]. К настоящему времени охарактеризовано уже 7 МкАт против субъединицы А и 4 МкАт против субъединицы В ригина, обладающих протективными свойствами в условиях *in vitro* и *in vivo*, и перспективных для гуманизации. Так, внутривенное введение моноклональных антител к субъединице А (PB10) и субъединице В (SylH3) ригина позволило добиться 100 % выживаемости лабораторных животных (мыши) при получении ими аэрогенно 10 LD₅₀ ригина. В дальнейшем авторы исследования получили различные варианты протективных препаратов, в том числе Fab-фрагменты антител и гуманизированные антитела, перспективные для использования в антитоксической терапии ригиновой интоксикации у человека.

Сибирская язва. Одно из особо опасных инфекционных заболеваний, вспышки которого регулярно регистрируются по всему миру вследствие наличия почвенных природных очагов этой инфекции. Высокая устойчивость *Bacillus anthracis* во внешней среде, смешанный характер механизмов передачи возбудителя, его высокая вирулентность, высокая летальность (при генерализованной форме) позволяют рассматривать возбудитель сибирской язвы как один из наиболее вероятных агентов биологического оружия и биотерроризма. «Почтовая война» 2001 г., связанная с рассылкой в США контаминированных *B. anthracis* писем, наглядно продемонстрировала актуальность исследований по разработке средств биологической защиты против данного агента.

Одним из эффективных медицинских средств защиты от сибирской язвы являются специфические противосибирезвенные иммуноглобулины. В России сертифицирован к применению донорский противосибирезвенный иммуноглобулин [3, 4], за рубежом также сертифицирован противосибирезвенный иммуноглобулин под торговым наименованием Anthrasil производства компании Emergent Biosolutions Canada Inc, разрешенный к применению как взрослым, так и в педиатрической практике.

В последнее время в обороте лекарственных средств появились не только препараты донорских поликлональных противосибирезвенных антител, но и препараты рекомбинантных гуманизированных

антител, такие как ANTHIM® (Obiltoxaximab)⁵ и Raxibacumab⁶. Оба эти антитела специфичны к протективному антигену сибиреязвенного микроба [29]. По данным периодической литературы, данные препараты успешно применяются для постконтактной профилактики и лечения в том числе ингаляционных форм сибирской язвы, для препарата Raxibacumab также описаны условия применения в педиатрической практике, что свидетельствует о его достаточной безопасности.

В настоящее время имеется сообщение о проведении доклинических исследований еще как минимум одного препарата гуманизированного антитела 35PA83 6.20 против протективного антигена сибиреязвенного микроба. Данное антитело было получено с использованием технологии фагового дисплея из библиотеки антител макака. С использованием генетических методов были охарактеризованы наиболее значимые мутации в значимых регионах, наиболее перспективный вариант был выбран для дальнейших исследований. На модели белых новозеландских кроликов было показано, что гуманизированное антитело 35PA83 в дозе 2,5 мг/кг достоверно защищает животных от заболевания сибирской язвой после заражения их 100 LD₅₀ спор *Bacillus anthracis* штамма 9602. В аналогичных условиях эксперимента уже зарегистрированный препарат Raxibacumab обеспечивал полную защиту животных лишь в дозировке 40 мг/кг. К настоящему времени доклинические исследования препарата на основе антитела 35PA83 6.20 завершены, коллектив авторов предложил торговое наименование ATHENA (от франц. Anticorps THERapeutique Neutralisant l'Anthrax – антитела, нейтрализующие сибирскую язву). Упоминания о выпуске препарата на рынок в настоящее время отсутствуют [29].

Геморрагическая лихорадка Эбола. Вирусная геморрагическая лихорадка Эбола – особо опасное инфекционное заболевание с крайне высокой летальностью и эпидемиологической опасностью. В отношении этого заболевания до сих пор не разработано ни одного этиотропного препарата, эффективность которого не была бы дискутабельна. До некоторого времени единственным специфическим средством экстренной про-

филактики лихорадки Эбола был гетерологичный препарат – лошадиный иммуноглобулин, разработанный коллективом вирусологического центра ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Большой скачок в развитии медицинских средств защиты от лихорадки Эбола произошел вследствие вспышек данного заболевания в периоды с 2014 по 2015 г. и с 2018 по 2020 г. в странах Африки⁷. За последние несколько лет арсенал средств специфической терапии лихорадки Эбола, вызванной *Zaire ebolavirus*, пополнился двумя препаратами гуманизированных антител под названиями Ebanga и Inmazeb. Данные препараты разрешены к использованию FDA на территории США. Препарат Ebanga (непатентованное название Ansuvimab) представляет собой нейтрализующее антитело mAb114, сконструированное на основе генетического материала выжившего пациента [30]. Данное антитело специфично к рецептор-связывающему региону RBR гликопротеида вируса EBOV и тормозит связывание вируса с рецептором NPC1-C на клетках человека. Препарат Inmazeb (REGN-EB3) представляет собой комбинацию трех моноклональных антител против EBOV – REGN3470 (Atoltivimab), REGN3471 (Odesivimab) и REGN3479 (Maftivimab). Все эти антитела получены с использованием гуманизированных животных (Velocimmune® mice) и связывают неперекрывающиеся эпитопы на белках EBOV – GC, RBR и IFL соответственно. К сожалению, препараты Ebanga и Inmazeb эффективны только против *Zaire ebolavirus*, в то время как в отношении остальных эболавирусов данные препараты неэффективны.

В настоящее время охарактеризовано большое количество моноклональных антител, перспективных для дальнейшей гуманизации и клинических исследований, которые обладают кросс-связывающей активностью в отношении гликопротеидов не только вируса Заир, но и других эболавирусов [31, 32].

Коронавирусы. В условиях продолжающейся пандемии COVID-19 не прекращаются споры, в том числе и политического характера, о причине данной пандемии. Ряд авторов предполагает искусственную природу возбудителя, а сам SARS-CoV-2 – агентом

⁵ Indications and Usage and Important Safety Information. URL: <https://anthim.com/> (дата обращения: 01.08.2023).

⁶ RAXIBACUMAB injection. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/125349s000lbl.pdf (дата обращения: 01.08.2023).

⁷ History of Ebola Disease Outbreaks. URL: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/history/chronology.html> (дата обращения: 01.08.2023).

биологического оружия, поэтому проблемы молекулярно-биологических свойств SARS-CoV-2, создания вакцин, профилактики и лечения COVID-19 могут выходить за пределы гражданского здравоохранения и стать проблемами в области биологической защиты. Вне зависимости от существующих взглядов, данная пандемия показала несовершенство системы противоэпидемической защиты в мире, в первую очередь в отношении новых возбудителей. Создание вакцин против SARS-CoV-2, даже проведенное в кратчайшие сроки, обеспечило отложенную по времени эффективность лечебно-профилактических мероприятий: достоверное снижение заболеваемости COVID-19 стало возможным только тогда, когда удалось создать достаточно большую иммунизированную прослойку населения. В условиях относительно небольшой эффективности известных на тот момент фармпрепаратов, обладающих противовирусной активностью в отношении SARS-CoV-2, для лечения тяжелых форм заболевания с высокой вирусной нагрузкой целесообразным оказалось применение пассивной иммунизации – введение иммунных сывороток крови от переболевших доноров, а также очищенного человеческого иммуноглобулина от таких доноров. Удачные попытки лечения тяжелых пациентов с помощью переливания донорской плазмы, содержащей вируснейтрализующие антитела, послужили стимулом для создания гуманизированных и полностью человеческих моноклональных антител, потенциально способных быть терапевтическими препаратами для блокады коронавируса [33]. По состоянию на 2021 г. на разных стадиях клинических исследований находилось не менее 20 препаратов лечебных моноклональных антител [33], не считая препаратов МкАт – антицитокинных антител, которые блокируют не сам коронавирус, а провоспалительные цитокины, тем самым предотвра-

щают развитие синдрома системной воспалительной реакции. К настоящему моменту для использования в качестве лекарственных средств против SARS-CoV-2 FDA разрешено к применению несколько препаратов моноклональных антител⁸ – Bamlanivimab, Etesevimab, Casirivimab, Imdevimab, Sotrovimab и Bebtelovimab. При этом комбинированное применение препаратов Tixagevimab и Cilgavimab (торговое наименование Evusheld) по состоянию на 08.12.2021 было рекомендовано FDA для преэкспозиционной профилактики COVID-19 (исключая вариант Омикрон).

Выводы

В мире активно проводится разработка и получение препаратов гуманизированных (терапевтических) моноклональных антител, имеющих целью замену высокореактогенных гетерологичных иммуноглобулинов более безопасными и эффективными препаратами. Гуманизированные специфические моноклональные антитела показали высокую эффективность при лечении ряда заболеваний – ревматоидного артрита, псориаза, иммуновоспалительных заболеваний кишечника, злокачественных опухолей. В последнее время отмечено появление как научных разработок, так и уже разрешенных к применению в клинической практике препаратов рекомбинантных антител, специфичных к антигенам возбудителей особо опасных инфекций и токсинов – потенциальным агентам биотеррора, таким как сибиреязвенный микроб, ботулинические токсины различных типов, растительные токсины рицин и абрин, эболавирусы, коронавирусы. По данным экспериментальных исследований, моноклональные антитела к этим биологическим агентам обладают высокой эффективностью и безопасностью применения, что позволяет использовать их в качестве медицинских средств биологической защиты.

⁸ Anti-SARS-CoV-2 Monoclonal Antibodies. URL: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/antivirals-including-antibody-products/anti-sars-cov-2-monoclonal-antibodies/> (дата обращения: 01.08.2023).

Список источников/References

1. McCulloch EA, Till JE. The radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells, determined by quantitative marrow transplantation into irradiated mice. *Radiat Res.* 1960;13:115–25.
2. Бернет Ф. *Целостность организма и иммунитет*. М.: Мир; 1964. 184 с.
Burnet FM. *The integrity of the body: a discussion of modern immunological ideas* [trans. from English]. Moscow: Mir; 1964. 184 p. (in Russian).
3. Саяпина ЛВ, Гаврилова НА, Никитюк НФ, Обухов ЮИ, Бондарев ВП. К вопросу о применении в практическом здравоохранении гетерологичных препаратов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018;(3):40–5.

Sayapina L.V., Gavrilova N.A., Nikityuk N.F., Obukhov Yu.I., Bondarev V.P. Concerning the Application of Heterologous Preparations in Practical Healthcare. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:40–5 (in Russian).

<https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-3-40-45>

4. Перельгина ОВ, Комаровская ЕИ, Мухачева АВ, Саяпина ЛВ, Обухов ЮИ, Бондарев ВП. Гетерологические сывороточные препараты в практике современной медицины. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(1):41–7.

Perelygina OV, Komarovskaya EI, Muchacheva AV, Sayapina LV, Obukhov YuI, Bondarev VP. Clinical experience with heterologous serum products. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017; 17(1); 41–7 (in Russian).

5. Köhler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975;256(5517):495–7. PMID 1172191.

6. Lu RM, Hwang YC, Liu IJ, Lee CC, Tsai HZ, Li HJ, Wu HC. Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J Biomed Sci*. 2020;27(1):30.

<https://doi.org/10.1186/s12929-019-0592-z>

7. Parren PWHI, Carter PJ, Plückthun A. Changes to International Nonproprietary Names for antibody therapeutics 2017 and beyond: of mice, men and more. *MAbs*. 2017;9(6):898–906.

<https://doi.org/10.1080/19420862.2017.1341029>

8. Nelson AL. Antibody fragments: hope and hype. *MAbs*. 2010;2(1):77–83.

<https://doi.org/10.4161/mabs.2.1.10786>

9. Jones PT, Dear PH, Foote J, Neuberger MS, Winter G. Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature*. 1986;321(6069):522–5.

<https://doi.org/10.1038/321522a0>

10. Lonberg N, Taylor LD, Harding FA, Tronstine M, Higgins KM, Schramm SR, et al. Antigen-specific human antibodies from mice comprising four distinct genetic modifications. *Nature*. 1994;368:856–9.

11. Mendez MJ, Green LL, Corvalan JR, Jia XC, Maynard-Currie CE, Yang XD, et al. Functional transplant of megabase human immunoglobulin loci recapitulates human antibody response in mice. *Nat Genet*. 1997;15:146–56.

12. Солопова ОН, Мисюрин ВА. Биспецифические антитела в клинике и клинических исследованиях (обзор литературы). *Клиническая онкогематология*. 2019;12(2):125–44.

<https://doi.org/10.21320/2500-2139-2019-12-2-125-144>

Solopova ON, Misyurin VA. Bispecific antibodies in clinic and clinical trials (literature review). *Clinical oncohematology*. 2019;12(2):125–44 (in Russian).

13. Супотницкий МВ. Биологическая война. Введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений: монография. М.: «Кафедра», «Русская панорама»; 2013. 1136 с.

Supotnitskiy MV. *Biological war. Introduction in epidemiology of artificial processes and biological damages: monography*. Moscow: «Kafedra», «Russian panorama»; 2013. 1136 p. (in Russian).

14. Rasetti-Escargueil C, Avril A, Miethe S, Mazuet C, Derman Y, Selby K, et al. The European AntibotABE Framework Program and Its Update: Development of Innovative Botulinum Antibodies. *Toxins (Basel)*. 2017;9(10):309.

<https://doi.org/10.3390/toxins9100309>

15. Miethe S, Mazuet C, Liu Y, Tierney R, Rasetti-Escargueil C, Avril A, et al. Development of Germline-Humanized Antibodies Neutralizing Botulinum Neurotoxin A and B. *PLoS One*. 2016;11(8):e0161446.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161446>

16. Espinoza Y, Wong D, Ahene A, Der K, Martinez Z, Pham J, et al. Pharmacokinetics of Human Recombinant Anti-Botulinum Toxin Antibodies in Rats. *Toxins (Basel)*. 2019;11(6):345.

<https://doi.org/10.3390/toxins11060345>

17. Raja SM, Guptill JT, Juel VC, Walter EB, Cohen-Wolkowicz M, Hill H, et al. First-in-Human Clinical Trial to Assess the Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of Single Doses of NTM-1633, a Novel Mixture of Monoclonal Antibodies against Botulinum Toxin E. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022;66(4):e0173221.

<https://doi.org/10.1128/aac.01732-21>

18. Tomic MT, Farr-Jones S, Syar ES, Niemuth N, Kobs D, Hackett MJ, et al. Neutralizing Concentrations of Anti-Botulinum Toxin Antibodies Positively Correlate with Mouse Neutralization Assay Results in a Guinea Pig Model. *Toxins (Basel)*. 2021;13(9):671.

<https://doi.org/10.3390/toxins13090671>

19. Guptill JT, Raja SM, Juel VC, Walter EB, Cohen-Wolkowicz M, Hill H, et al. Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of NTM-1632, a Novel Mixture of Three Monoclonal Antibodies against Botulinum Toxin B. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021;65(7):e0232920.

<https://doi.org/10.1128/AAC.02329-20>

20. Matsumura T, Amatsu S, Misaki R, Yutani M, Du A, Kohda T, et al. Fully Human Monoclonal Antibodies Effectively Neutralizing Botulinum Neurotoxin Serotype B. *Toxins (Basel)*. 2020;12(5):302. <https://doi.org/10.3390/toxins12050302>

21. Lam KH, Tremblay JM, Vazquez-Cintrón E, Perry K, Ondeck C, Webb RP, et al. Structural Insights into Rational Design of Single-Domain Antibody-Based Antitoxins against Botulinum Neurotoxins. *Cell Rep*. 2020;30(8):2526–39.

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.107>

22. Fan Y, Lou J, Tam CC, Wen W, Conrad F, Leal da Silva Alves P, et al. A Three-Monoclonal Antibody Combination Potently Neutralizes BoNT/G Toxin in Mice. *Toxins (Basel)*. 2023;15(5):316. <https://doi.org/10.3390/toxins15050316>

23. Беневоленский СВ, Боков МН, Зацепин СС, Клячко ЕВ, Позднякова Л.П., Свешников П.Г., Солопова О.Н., Чудкин А.М. Участок связывания антигена (Fab), в том числе гуманизированный Fab, против ботулинического нейротоксина С (варианты), способ получения Fab с использованием дрожжей, способ и набор для детекции ботулинического нейротоксина С. Патент РФ. 2016109190. Оpubл. 22.06.2017. Бюл. № 18.

Benevolensky SV, Bokov MN, Zatsepin SS, Klyachko EV, Pozdnyakova LP, Sveshnikov PG, et al. Antigen binding site (Fab), including humanized Fab, against botulinum neurotoxin C (variants), method for producing Fab using yeast, method and kit for detection of botulinum neurotoxin C. RU Patent. 20161 09190. Publ. 06/22/2017. Bull. No. 18 (in Russian).

24. Peng J, Wu J, Shi N, Xu H, Luo L, Wang J, et al. A Novel Humanized Anti-Abrin A Chain Antibody Inhibits Abrin Toxicity *In Vitro* and *In Vivo*. *Front Immunol*. 2022;13:831536.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.831536>

25. Castelletti D, Fracasso G, Righetti S, Tridente G, Schnell R, Engert A, Colombatti M. A dominant linear B-cell epitope of ricin A-chain is the target of a neutralizing antibody response in Hodgkin's lymphoma patients treated with an anti-CD25 immunotoxin. *Clin Exp Immunol*. 2004;136:365–72.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.02442.x>

26. Colombatti M, Johnson VG, Skopicki HA, Fendley B, Lewis MS, Youle RJ. Identification and characterization of a monoclonal antibody recognizing a galactose-binding domain of the toxin ricin. *J Immunol*. 1987;138:3339–44.

27. McGuinness CR, Mantis NJ. Characterization of a novel high-affinity monoclonal immunoglobulin G antibody against the ricin B subunit. *Infect Immun*. 2006;74:3463–70.

<https://doi.org/10.1128/IAI.00324-06>

28. O'Hara JM, Yermakova A, Mantis NJ. Immunity to ricin: fundamental insights into toxin-antibody interactions. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2012;357:209–41.

<https://doi.org/10.1007/822011193>

29. Avril A, Tournier JN, Paucod JC, Fournes B, Thullier P, Pelat T. Antibodies against Anthrax Toxins: A Long Way from Benchlab to the Bedside. *Toxins (Basel)*. 2022;14(3):172.

<https://doi.org/10.3390/toxins14030172>

30. Corti D, Misasi J, Mulangu S, Stanley DA, Kanekiyo M, Wollen S, et al. Protective monotherapy against lethal Ebola virus infection by a potentially neutralizing antibody. *Science*. 2016;351(6279):1339–42.

<https://doi.org/10.1126/science.aad5224>

31. Rijal P, Donnellan FR. A review of broadly protective monoclonal antibodies to treat Ebola virus disease. *Curr Opin Virol*. 2023;61:101339.

<https://doi.org/10.1016/j.coviro.2023.101339>

32. Pascal KE, Dudgeon D, Trefry JC, Anantpadma M, Sakurai Y, Murin CD, et al. Development of clinical-stage human monoclonal antibodies that treat advanced Ebola virus disease in nonhuman primates. *J Infect Dis*. 2018;218:S612–26.

33. Климов НА, Симбирцев АС. *Терапевтические моноклональные антитела*. СПб.: Фолиант; 2021. 208 с.

Klimov NA, Simbirtsev AS. *Therapeutic monoclonal antibodies*. St. Petersburg: Foliant, 2021. 208 p. (in Russian).

Вклад авторов / Authors' contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.С. Горшков** – сбор и анализ данных научной литературы, написание текста рукописи; **Д.В. Печенкин** – переработка текста рукописи; **А.В. Кузнецовский** – формирование концепции статьи, критический пересмотр и коррекция текста рукописи, окончательное утверждение рукописи для публикации; **Д.В. Боровской** – анализ данных научной литературы и коррекция текста рукописи / all authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for

authorship. The most significant contributions were as follows. **A.S. Gorshkov** – collection and analysis of scientific literature data, drafting the manuscript; **D.V. Pechenkin** – revision the manuscript; **A.V. Kuznetsovsky** – formation of the concept of the article, critical revision and correction of the manuscript, final approval of the manuscript for publication; **D.V. Borovskoy** – analysis of scientific literature data and correction of the manuscript.

Информация о конфликте интересов / Conflict of interest statement

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов / The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been double-blind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Финансирование / Funding

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» (г. Киров) Министерства обороны Российской Федерации / Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation.

Об авторах / Authors

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров), 610000, Российская Федерация, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 119.

Горшков Антон Сергеевич. Научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. мед. наук.

Печенкин Денис Валериевич. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. мед. наук.

Кузнецовский Андрей Владимирович. Начальник отдела планирования НИР – заместитель начальника филиала по НИР, канд. биол. наук.

Боровской Денис Витальевич. Начальник научно-исследовательского управления, канд. биол. наук.

Контактная информация для всех авторов: 23527@mil.ru

Контактное лицо: Печенкин Денис Валериевич; 23527@mil.ru

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation.

Anton S. Gorshkov. Researcher of the Scientific and Researcher Department. Cand. Sci. (Med.).

Denis V. Pechenkin. Chief of the Scientific and Researcher Department. Cand. Sci. (Med.).

Andrey V. Kuznetsovskiy. Chief of the Department of Planning of Science and Research – Deputy Chief of the Branch. Cand. Sci. (Biol.).

Denis V. Borovskoy. Chief of the Scientific and Researcher Stewardship. Cand. Sci. (Biol.).

Contact information for all authors: 23527@mil.ru

Contact person: Denis V. Pechenkin; 23527@mil.ru