

П.Ю.Попова, Н.И.Микшис, Т.Н.Щуковская, Ю.А.Попов

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ С ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИМИ РЕЦЕПТОРАМИ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

По современным представлениям защита организма от патогенов обеспечивается функционированием двух звеньев иммунной системы – врожденной и приобретенной. На начальных этапах рецепторы неспецифического иммунитета, в том числе толл-подобные рецепторы, распознают консервативные патоген-ассоциированные молекулярные структуры. Последующая активация сигнальных путей приводит к быстрой нейтрализации и элиминации чужеродного агента. Одновременно происходит инициация начальных этапов адаптивного иммунитета, реализация каскада провоспалительных реакций. В обзоре обобщены и проанализированы литературные данные об особенностях развития врожденного и адаптивного иммунитета в случаях взаимодействия макроорганизма с возбудителем сибирской язвы. Потенциальными лигандами толл-подобных рецепторов у сибирезявленного микроба являются протективный антиген, липопротеин, компоненты клеточной стенки, антролизин О, CpG последовательность ДНК и др. Приведены результаты экспериментов, доказывающих влияние синтетических агонистов толл-подобных рецепторов на реализацию цитотоксичности *Bacillus anthracis* и течение инфекционного процесса у лабораторных животных. Модификаторы функций толл-подобных рецепторов могут быть использованы как иммуностимуляторы при конструировании эффективных средств антиинфекционной защиты. Врожденный и приобретенный компоненты иммунитета, имея свои уникальные механизмы специфического распознавания возбудителя сибирской язвы, находятся во взаимодействии, дополняют и усиливают друг друга.

Ключевые слова: сибирская язва, *Bacillus anthracis*, иммунитет, Толл-подобные рецепторы, вакцины

P.Yu.Popova, N.I.Mikshis, T.N.Shchukovskaya, Yu.A.Popov

Interaction between *Bacillus anthracis* and Pattern-Recognizing Receptors of Innate and Adaptive Immunity

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov

According to modern views, protection of an organism from different pathogens is achieved through functioning of the two chains of immune system – innate and acquired ones. Initially, receptors of non-specific immunity, including Toll-like receptors, identify conservative pathogen-associated molecular structures. The subsequent activation of signaling pathways leads to rapid neutralization and elimination of foreign agent. Concurrently, initiation of the adaptive immunity, and realization of pro-inflammatory reactions' cascade take place. The review summarizes literature data concerning peculiarities of innate and adaptive types of immunity in case of interaction between macro-organism and *Bacillus anthracis*. Protective antigen, lipoprotein, cell wall components, anthrolysin O, CpG DNA sequence and others are the potential ligands of Toll-like receptors in *B. anthracis*. Demonstrated are the results of experiments that bear evidence of the fact, that synthetic agonists of Toll-like receptors influence realization of *B. anthracis* cytotoxicity and course of infection in laboratory animals. Modifiers of Toll-like receptor functions can be used as immunostimulators for designing of effective means of anti-infectious protection. Innate and adaptive components of the immunity, having their own unique mechanisms of the specific *B. anthracis* identification, interact with each other, strengthen and complement each other.

Key words: anthrax, *Bacillus anthracis*, immunity, Toll-like receptors, vaccines.

Согласно данным эпидемиологических наблюдений ситуация по сибирской язве остается напряженной во многих странах мира. Вероятность подъема заболеваемости увеличивается при отсутствии или недостаточности профилактических мероприятий на эндемичной территории. В системе превентивных мер центральное место принадлежит вакцинации населения групп риска и сельскохозяйственных животных. В настоящее время в практике здравоохранения Российской Федерации для специфической профилактики сибирской язвы у людей используют живую вакцину *Bacillus anthracis* СТИ-1 [8]. Препараты на основе аттенуированных бескапсульных производных различных штаммов *B. anthracis* получены отечественными и зарубежными исследователями в середине XX века. Существенным их недостатком

является относительно высокий уровень реактогенности, связанный с воздействием на макроорганизм токсичных продуктов жизнедеятельности бактериального штамма. Используемые за рубежом химические вакцины менее реактогенны, однако по иммунологической эффективности они уступают препаратам на основе аттенуированных штаммов *B. anthracis*.

Достижения биологической и медицинской наук за последние несколько десятилетий расширили представления о клеточных и молекулярных механизмах взаимодействия макро- и микроорганизмов. В распоряжении исследователей появились принципиально новые подходы, основанные на современных знаниях о структуре и генетической детерминации факторов патогенности и иммуногенности микроорганизмов, о клеточных и молекулярных механизмах развития

патологических и иммунных процессов в организме человека или животного. В процессе создания новых вакцин и усовершенствования существующих используются как методы классической вакцинологии, так и приемы, основанные на достижениях геномики, протеомики, молекулярной биологии и иммунологии. Развитие генной инженерии и молекулярной генетики значительно снизило возможные риски, возникающие ввиду нестабильности введенного в микроорганизм чужеродного генетического материала. Однако с течением времени стало очевидно, что продукты геномных технологий обладают недостаточной иммуногенностью, так как в большинстве своем лишены патоген-ассоциированных молекулярных структур, взаимодействующих с рецепторами врожденного иммунитета.

По современным представлениям защита организма от патогенов обеспечивается функционированием взаимодополняющих звеньев иммунной системы – врожденной (неспецифической) и приобретенной (адаптивной, специфической). Врожденная иммунная система является первой линией защиты на пути микроорганизмов. В отличие от медленно развивающихся реакций адаптивной иммунной системы, заключающихся главным образом в пролиферации иммунокомпетентных клеток и образовании антител, для активации неспецифического иммунитета требуется относительно небольшой промежуток времени – минуты или часы. По мнению некоторых авторов, уничтожение и удаление патогенов нередко происходит без участия адаптивной иммунной системы, лишь посредством реакций врожденного иммунитета [16, 31].

В активации механизмов неспецифического иммунитета можно выделить два основных этапа – идентификация агонистов рецепторами и передача сигнала клеткам, обеспечивающим формирование адаптивного иммунитета [11]. На первом этапе происходит распознавание широкого спектра высококонсервативных структур, не подвергающихся мутационным изменениям и необходимых для выживания микроорганизмов – патоген-ассоциированных молекулярных структур (ПАМС) [30]. Примерами таких молекулярных паттернов могут служить компоненты клеточной стенки бактерий и грибов (липополисахариды грамотрицательных бактерий, пептидогликаны грамположительных микроорганизмов), нуклеиновые кислоты (вирусная двуспиральная РНК; ДНК бактерий, обогащенная CpG-последовательностями), белки (флагеллин, профилин).

Узнавание ПАМС осуществляется так называемыми паттерн-распознающими рецепторами (ППР). К ППР относят различные по строению и происхождению молекулы, обнаруженные на поверхностной мембране клеток, на мембранах эндоплазматического ретикулума и эндолизосом, в цитозоле, а также во внеклеточных средах, что позволяет врожденной иммунной системе контролировать большинство компартментов клетки и организма. Взаимодействие

ПАМС с ППР приводит либо к непосредственной нейтрализации патогена, либо к запуску каскада провоспалительных реакций, в конечном итоге приводящих к блокированию жизнедеятельности и элиминации патогена из макроорганизма [14].

В настоящее время наиболее хорошо изучена подгруппа Толл-подобных рецепторов (Toll-like receptor, TLR). Впервые представитель этого семейства (белок Toll) был открыт у *Drosophila melanogaster*. Впоследствии подобные рецепторы выявляли у растений, насекомых и позвоночных, включая млекопитающих и человека [1]. На данный момент у человека изучено 10 функциональных TLR. Рецепторы данного семейства способны распознавать практически все основные виды патогенов – бактерии, грибы, простейшие, вирусы [28].

Конститутивно TLR обнаруживаются главным образом на клетках миеломоноцитарного ряда, на различных популяциях лимфоцитов, дендритных клетках, гепатоцитах [13]. Помимо иммунокомпетентных клеток, TLR экспрессируются клетками других типов, вступающих в непосредственный контакт с патогенами в зоне их проникновения (кожа, респираторный, кишечный и урогенитальный тракты). Взаимодействие с патогенами может происходить на клеточной поверхности с участием TLR 1, 2, 4, 5, 6 и 11. В противоположность им, TLR 3, 7, 8 и 9 после синтеза остаются в эндоплазматической сети и при активации клетки транслоцируются в лизосомы, участвуя в распознавании нуклеиновых кислот.

Взаимодействие компонентов возбудителей с TLR является специфичным, то есть для каждого рецептора имеется свой лиганд. Часть TLR узкоспецифична, например, TLR3 связывает только двуспиральную РНК, TLR5 – флагеллин, TLR9 – CpG ДНК. Более широким диапазоном взаимодействия с ПАМС обладает TLR4, связывающийся с вирусными структурами, липополисахаридом, маннаном грибов. Большинство TLR функционируют в форме гомодимеров, исключение составляют TLR1 и TLR6, образующие гетеродимеры с TLR2 [30].

В молекуле TLR присутствуют два консервативных домена. Внеклеточная N-концевая часть представлена лигандраспознающим LRR-доменом (тандемные повторяющиеся участки с повышенным содержанием лейцина). Внутриклеточная C-концевая часть рецептора – сигнальный TIR-домен (Toll/IL-1 гомологичный домен), отвечающий за взаимодействие с адаптерными молекулами. Между LRR- и TIR-доменами находится короткий трансмембранный участок, который обеспечивает внутриклеточную сортировку TLR [12].

Связывание лиганда приводит к конформационным изменениям TLR, необходимым для привлечения сигнальных молекул. Как правило, они включают адаптерную молекулу MyD88 (белок первичного ответа миелоидной дифференцировки 88), TIRAP (адаптерный белок, содержащий TIR-домен), IRAK киназы (киназы, ассоциированные с рецептором

интерлейкина-1 (ИЛ-1)), TRAF (фактор 6, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли (ФНО- α)) [3]. Конечным итогом активации сигнального пути является индукция экспрессии генов провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО- α), хемокинов (ИЛ-8) и антимикробных пептидов (дефензинов, кателицидинов) [12, 13, 17].

Таким образом, активация системы врожденного иммунитета инициирует развитие комплекса воспалительных реакций, приводящих к уничтожению и элиминации патогена.

Роль TLR в формировании неспецифической резистентности к сибиреязвенному микробу в последнее время изучается достаточно интенсивно. Распознавание *B. anthracis* врожденной иммунной системой, по мнению некоторых авторов, играет ключевую роль в развитии инфекции [29, 33].

Синтез компонентов токсина сибиреязвенного микроба детерминируется генами, входящими в состав высокомолекулярного репликона рXO1 [20]. Структура экзотоксина характерна для А-В модели бактериальных токсинов: общей субъединицей В является протективный антиген (ПА), субъединицу А представляют отечный фактор (ОФ) или летальный фактор (ЛФ). ОФ является кальмодулин-зависимой аденилатциклазой, действие которой заключается в превращении аденозинтрифосфата в циклический аденозинмонофосфат (цАМФ). Накопление цАМФ приводит к изменению внутриклеточного водного баланса и клинически выражается в массивном отеке тканей. ЛФ-цинк-зависимая металлопротеаза, расщепляющая аминокислотные последовательности митоген-активируемых протеиновых киназ, что приводит к инактивации сигналов интермедиатов, необходимых для формирования иммунного ответа. ЛФ оказывает повреждающее воздействие на различные иммунные клетки – макрофаги, нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, блокируя процессы пролиферации, продукцию цитокинов и иммуноглобулинов. ОФ и ЛФ, взаимодействуя с ПА, формируют отечный и летальный токсины, которые после попадания в клетку реализуют свое повреждающее действие на макроорганизм [22]. Отечный токсин оказывает ингибирующий эффект на нейтрофилы. Компоненты клеточной стенки и летальный токсин стимулируют продукцию провоспалительных цитокинов, что приводит к развитию обширных геморрагий и клеточной деструкции.

Участвуя, таким образом, в реализации вирулентных свойств сибиреязвенного микроба, ПА является основным иммуногеном *B. anthracis*. Однако, помимо ПА, на иммунный ответ макроорганизма оказывают влияние и другие факторы. Установлено, что штаммы *B. anthracis*, синтезирующие ПА в сочетании с ОФ или ЛФ, оказывают более выраженный протективный эффект при заражении мышей вирулентными сибиреязвенными штаммами, по сравнению с генно-инженерными штаммами, синтезирующими только ПА [24]. Добавление к ПА по-

лимера капсулы сибиреязвенного микроба улучшает иммунологические характеристики препарата [18]. Показано, что для обеспечения полноценной защиты лабораторных животных от заражения вирулентным штаммом *B. anthracis* необходимо наличие в иммунизирующем препарате споровых антигенов [4, 15].

К настоящему времени у возбудителя сибирской язвы выявлено несколько потенциальных лигандов TLR: для TLR2 – липопроtein и компоненты клеточной стенки, для TLR4 – антролизин О, для TLR9 – CpG последовательность ДНК [23, 29, 35].

М. Triantafilou *et al.* исследовали закономерности распознавания возбудителя сибирской язвы посредством TLR. Клетки эпителия легких человека инкубировали с различными антигенами *B. anthracis* – компонентами клеточной стенки, ПА и ЛФ. При отсутствии стимуляции на поверхности клеток экспрессировалось минимальное количество TLR. Экспрессия TLR2 и TLR6 существенно возрастала в ответ на стимуляцию компонентами клеточной стенки сибиреязвенного микроба или ПА. В этих случаях увеличивался синтез провоспалительных цитокинов – интерферона- α и ИЛ-6. Стимуляция ЛФ или комбинацией ПА и ЛФ в гораздо меньшей степени влияла на экспрессию TLR2 и TLR6. Аналогичные результаты были получены при использовании клеточных линий с гетеродимерами TLR2/6. Вместе с тем клеточные линии, не экспрессирующие TLR, после контакта со всеми исследованными антигенами не были способны к продукции интерлейкинов. Таким образом, при сибирской язве активация сигнального пути осуществляется главным образом через гетеродимеры TLR2/6 вслед за воздействием на них компонентов клеточной стенки или ПА. Неспособность ЛФ, а также комбинации ЛФ и ПА, активировать TLR2/6 лежит в основе патогенеза сибиреязвенной инфекции. При образовании комплекса ПА с ЛФ происходит изменение структуры ПА и, как следствие, он не распознается системой врожденного иммунитета. По мнению авторов, данный феномен отчасти объясняет столь высокую патогенность природных штаммов *B. anthracis* [29].

В работе S. Weiss *et al.* подтверждено участие TLR2 в активации макрофагов при сибиреязвенной инфекции. Исследования проводили *in vitro* с использованием клеточных линий и перитонеальных макрофагов лабораторных животных и *in vivo* – на биомоделях с активными и инактивированными TLR2 [33].

Теоретически индукция врожденного иммунитета путем введения лигандов TLR до начала инфекционного процесса может способствовать повышению устойчивости макроорганизма к инфекции, приведет к снижению продукции цитокинов, а также защитит макрофаги от ассоциированной с возбудителем сибирской язвы цитотоксичности. Для подтверждения данной гипотезы изучали секрецию цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ФНО- α) макрофагами костного мозга мышей после контакта со спорами и вегетативными

клетками возбудителя сибирской язвы, сравнивая результаты, полученные с использованием стимуляции лигандами TLR7 и TLR9 и без нее. В предварительных экспериментах было установлено, что лиганд TLR9 не стимулирует синтез провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНО- α , но активно индуцирует повышение уровня ИЛ-12 и ИЛ-10. Лиганды TLR7 индуцируют синтез всех четырех цитокинов, но не столь активны в отношении ФНО- α . Обнаружено также, что споры сибиреязвенного микроба обладают менее выраженной способностью к индукции секреции цитокинов макрофагами. В результате при взаимодействии макрофагов с вегетативными клетками *B. anthracis* лиганды TLR7 и TLR9 достоверно уменьшали продукцию цитокинов [25]. В экспериментах *in vivo* интраназальное введение агонистов TLR9 и TLR7 способствовало значительному замедлению развития легочной формы сибирской язвы и сокращению числа летальных исходов у лабораторных животных [34, 35].

Считается, что специфическим лигандом для TLR4 является липополисахарид грамотрицательных бактерий. Тем не менее, в случае воздействия микробных клеток *B. anthracis* на макрофаги костного мозга мышей наблюдали апоптоз, зависящий от активации TLR4. В своей работе J.M.Park *et al.* установили, что лигандом TLR4 у сибиреязвенного микроба является антролизин O, который индуцирует экспрессию генов цитокинов и апоптоз макрофагов [23].

Показано, что интерферон 1 типа способен защищать 60 % линейных белых мышей от развития заболевания при ингаляционном попадании возбудителя сибирской язвы [32]. В качестве средства неспецифической профилактики сибирской язвы предлагается также использовать кателицидин, относящийся к группе катионных пептидов и обладающий бактерицидными и иммуномодулирующими свойствами [21].

Стимуляция системы врожденного иммунитета посредством активации TLR имеет немаловажное значение для регуляции начальных этапов развития адаптивного иммунитета и выбору варианта развития иммунного ответа в зависимости от типа патогена. Как известно, активация T- и B-клеток происходит за счет сигналов, поступающих от врожденной иммунной системы. Система врожденного иммунитета регулирует функции дендритных клеток, облегчает процессинг и презентацию антигенов, запускает секрецию цитокинов, стимулирующих дифференцировку T-хелперов. С другой стороны, адаптивная иммунная система антиген-специфически усиливает ответ врожденной иммунной системы, что в ряде случаев приводит к быстрой элиминации возбудителей инфекционных заболеваний [11]. Таким образом, обе системы иммунитета, находясь во взаимодействии, имеют свои уникальные механизмы специфического распознавания патогенов, дополняющие, усиливающие и регулирующие друг друга.

Особенности формирования адаптивного иммунитета подробно изучались на примере лицензиро-

ванных средств специфической профилактики сибирской язвы. В странах бывшего Советского Союза для вакцинации населения, подвергающегося риску заражения возбудителем особо опасного инфекционного заболевания, рекомендована живая споровая вакцина – *B. anthracis* СТИ-1.

Установлено, что эффективность вакцинации живой споровой вакциной *B. anthracis* СТИ-1 при регламентированной двукратной иммунизации с интервалом 21 день составляет 87,8 %. Исследование привитых с помощью косвенных иммунологических тестов через 3, 6 и 12 мес. после введения вакцины выявило, соответственно, 75–80, 55–60 и 43–48 % лиц с высоким уровнем иммунитета. Но даже при двукратной иммунизации людей лицензированной споровой вакциной иммунитет ослабевает раньше (менее года), чем у переболевших сибирской язвой (несколько лет).

Проблемой использования живых вакцин является их реактогенность. По некоторым данным, у лиц, привитых *B. anthracis* СТИ-1, общие реакции средней и сильной степени тяжести возникают в 0,65–2,61 %, осложнения локального характера – 10,7–13,3 % случаев от общего числа вакцинированных [6].

В медицинской практике США и Великобритании для вакцинопрофилактики людей с начала 50-х гг. XX века используются химические вакцины для подкожного или внутримышечного введения, основой которых является адсорбированный на гидроокиси алюминия ПА, выделенный из культурального фильтра штамма *B. anthracis* Sterne 34F₂ или его производного.

В ответ на введение препарата ПА формируется напряженный, но недостаточно длительный иммунитет, что приводит к необходимости многократных бустерных иммунизаций. Кроме того, химическая вакцина индуцирует в макроорганизме преимущественно гуморальное звено адаптивного иммунитета, в то время как для формирования полноценной защиты от заражения возбудителем сибирской язвы необходим и клеточный иммунный ответ [2]. Живые вакцины обеспечивают более эффективную защиту от заражения возбудителем сибирской язвы ввиду наличия у них дополнительных антигенов [19], а также ПАМС, взаимодействующих с рецепторами врожденного иммунитета.

Химические вакцины, получаемые из аттенуированных штаммов *B. anthracis*, содержат ненормированные количества токсичных примесей – ОФ, ЛФ и других продуктов жизнедеятельности микробных клеток. По литературным данным, наиболее часто регистрируемыми побочными действиями химических препаратов являются: аллергические реакции, отек, инфильтрация и боль в месте введения вакцины, головная боль, астения и кожный зуд. В редких случаях в ответ на введение вакцины могут отмечаться так называемые отсроченные осложнения – одышка, выраженное потоотделение, бледность кожи, экзанте-

ма. Зарегистрированы случаи некроза в области инъекции химической вакцины [27].

Разработанная в 1998 г. в России комбинированная сибиреязвенная вакцина представляет собой композицию бесклеточного препарата ПА, адсорбированного на геле гидроокиси алюминия, и спор вакцинного штамма *B. anthracis* СТИ-1 [9]. Эффективность защиты от заражения возбудителем сибирской язвы при введении данной вакцины составляет 90–100 %. Формирование напряженного иммунитета при регламентированном однократном применении комбинированной вакцины наступает уже к 7–10-м суткам, в то время как при двукратном и трехкратном применении живой и химической вакцин – через 1–1,5 мес. соответственно. Показана эффективность сочетанного применения комбинированной вакцины с антибиотиками. Доклинические испытания комбинированного препарата не выявили существенных отличий по безвредности и реактогенности в сравнении с живой вакциной. В ряде случаев уровень защиты экспериментальных животных превышал эффект от применения каждого из ее компонентов в отдельности [8].

Основной принцип совершенствования живых вакцин заключается в генно-инженерном конструировании авирулентных штаммов, синтезирующих иммуногенные антигены. Например, устранения токсичности образующихся *in vivo* комплексов ПА с ОФ и ЛФ можно достичь контролируемой модификацией кодирующих их генов [26]. Подобные генетические конструкции при сохранении всех преимуществ живых вакцин являются менее реактогенными. Они могут быть использованы и как продуценты антигена, характеризующегося высокой иммуногенностью и ареактогенностью.

Основной принцип совершенствования химических вакцин заключается во введении дополнительных антигенов, выбор которых осуществляется исходя из особенностей патогенеза и иммуногенеза инфекционных заболеваний. В качестве компонентов, повышающих иммуногенность сибиреязвенных химических вакцин, предлагаются споровые и капсульные антигены, белки S-слоя, детоксицированные ОФ и ЛФ [5]. Перспективным направлением считают разработку иммуноактиваторов, модулирующих формирование адаптивного иммунитета [10]. Их действие направлено непосредственно на иммунокомпетентные клетки, прежде всего антиген-презентирующие клетки. К иммуноактиваторам относят природные и синтетические агонисты TLR, цитокины, хемокины, костимулирующие молекулы.

Модификаторы функций TLR могут использоваться как адъюванты в конструировании эффективных средств антиинфекционной защиты, в том числе при пандемиях и актах биотерроризма, а также в качестве средств моно- или комплексной терапии практически всех видов патологии человека. В 2007 г. на разных стадиях клинических испытаний находились 32 модификатора функций TLR и сигнальных путей

развития иммунных реакций. Однако в настоящее время для применения в практике разрешены только монофосфорилированный липид А – агонист TLR4 и синтетический препарат imiquimod – агонист TLR7.

Перспективно исследование семейства цитозингуанин дезоксинуклеотидов (CpG-семейство), являющихся агонистами TLR9. Установлено, что CpG-участки молекул ДНК могут до 500 раз ускорять и усиливать выработку антиген-специфических антител. Способность представителей CpG-семейства переключать Th-2 ответ на Th-1 широко применяется при конструировании антиаллергических терапевтических вакцин. Препараты, содержащие CpG-мотивы, рассматриваются как оптимальная платформа для комбинированных адъювантов [10].

В ближайшем будущем ожидается расширение работ по созданию новых модификаторов TLR, оценке их клинической эффективности и безопасности. Интересно, что комбинация агонистов TLR позволяет создавать вакцины против широкого круга патогенов, в том числе и относящихся к различным таксономическим группам бактерий, вирусов, простейших или грибов, а также вакцины, сочетающие антиинфекционную активность с действием против других видов патологии – аллергической, аутоиммунной, онкологической природы. В России разработана вакцина Иммуновак. Она состоит из антигенных комплексов условно-патогенных бактерий и содержит лиганды, активация которых обеспечивает защиту против бактериальных (TLR2, TLR4, TLR6 и TLR8), вирусных инфекций (TLR2, TLR4, TLR9) и положительно влияет на течение аллергии (TLR4, TLR9). Существует мнение, что именно комбинированные адъюванты станут неотъемлемым компонентом вакцин нового поколения [7].

Таким образом, при создании современных средств неспецифической и специфической профилактики сибирской язвы необходимо проводить комплексное исследование их взаимодействия с паттерн-распознающими рецепторами врожденного и приобретенного иммунитета. Данный подход позволит существенно повысить эффективность разрабатываемого препарата и минимизировать его вредное влияние на макроорганизм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байракова А.Л., Воропаева Е.А., Афанасьев С.С., Алёшкин В.А., Несвижский Ю.В., Караулов А.В. и др. Роль и биологическое значение Toll-подобных рецепторов в антиинфекционной резистентности организма. Вестник Российской АМН. 2008; 1:45–54.
2. Дербин М.И., Садовой Н.В., Тарумов В.С., Гарин Н.С. Сравнительное изучение гуморального противосибиреязвенного иммунитета у привитых живой и химической вакцинами. Иммунология. 1982; 3:49–52.
3. Ковальчук Л.В., Хорева М.В., Варивода А.С. Врожденные компоненты иммунитета: Toll-подобные рецепторы в норме и при иммунопатологии. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 4:96–104.
4. Маринин Л.И., Онищенко Г.Г., Кравченко Т.Б., Дятлов И.А., Тюрин Е.А., Степанов А.В. и др. Сибирская язва человека: эпидемиология, профилактика, диагностика, лечение. М.: ЗАО МП «Гигиена»; 2008. 416 с.
5. Микшиц Н.И., Попов Ю.А., Кутырев В.В. Современные представления о факторах патогенности и иммуногенности воз-

будителя сибирской язвы. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2010; 3: 96–101.

6. Онищенко Г.Г., Васильев Н.Т., Литусов Н.В., Харечко А.Т., Васильев П.Г., Садовой Н.В. и др. Сибирская язва: актуальные аспекты микробиологии, эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики. М.: ВУНМЦ МЗ РФ; 1999. 447 с.

7. Онищенко Г.Г., Пальцев М.А., Зверев В.В., Иванов А.А., Киселёв В.И., Нетесов С.В. и др. Биологическая безопасность. М.: ОАО «Издательство «Медицина». 2006. 304 с.

8. Пименов Е.В., Дармов И.В., Васильев Н.Т., Кожухов В.В., Бондарев В.П., Кутырев В.В. и др. Состояние вопроса и перспективы разработки вакцин против сибирской язвы. Эпидемиол. и вакцинопрофилактик. 2002; 5:42–6.

9. Садовой Н.В., Кравец И.Д., Селиваненко Г.М., Харечко Г.С., Садовая Е.А., Васильев П.Г. и др. Вакцина сибирезвонная комбинированная. Патент РФ № 2115433.

10. Семенов Б.Ф., Зверев В.В., Хаитов Р.М. Прогноз развития вакцинопрофилактики в первые десятилетия XXI века. Иммунол. 2009; 6:324–35.

11. Симбирцев А.С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета. Иммунология. 2005; 6:368–77.

12. Хаитов Р.М., Пащенко М.В., Пинегин Б.В. Роль паттерн-распознающих рецепторов во врожденном и адаптивном иммунитете. Иммунология. 2009; 1:66–76.

13. Хорева М.В., Ковальчук Л.В., Варивода А.С., Николаева И.Н., Грачева Л.А., Галухина Е.Р. и др. Опосредованные через Toll-подобные рецепторы выработка цитокинов и экспрессия поверхностных маркеров лейкоцитами человека. Аллергол. и иммунол. 2006; 7(2):199–206.

14. Balamayooran T., Balamayooran G., Jeyaseelan S. Toll-like receptors and NOD-like receptors in pulmonary antibacterial immunity. *Innate Immun.* 2010; 16(3):201–10.

15. Brossier F., Levy M., Mock M. Anthrax spores make an essential contribution to vaccine efficacy. *Infect. Immun.* 2002; 70(2):661–4.

16. Hallman M., Ramet M., Ezekowitz R.A. Toll-like receptors as sensors of pathogens. *Pediatr. res.* 2001; 50(3):315–21.

17. Hughes M. A., Green C. S., Lowchyi L., Lee G.M., Grippe V.K., Smith M.F. et al. MyD88-dependent signaling contributes to protection following *Bacillus anthracis* spore challenge of mice: implications for toll-like receptor signaling. *Infect. Immun.* 2005; 73(11):7535–40.

18. Joyce J., Cook J., Chabot D., Hepler R., Shoop W., Xu Q., et al. Immunogenicity and protective efficacy of *Bacillus anthracis* poly- γ -D-glutamic acid capsule covalently coupled to a protein carrier using a novel triazine-based conjugation strategy. *Biol. chem.* 2006; 281(8):4831–3.

19. Ivins B., Welkos S. Recent advances in the development of an improved human anthrax vaccine. *Eur. J. Epidemiol.* 1988; 4:12–19.

20. Koehler T.M. *Bacillus anthracis* physiology and genetics. *Mol. Aspects Med.* 2009; 30:386–96.

21. Lizanby M.W., Swiecki M.K., Dizon B.L., Pflughoeft K.J., Koehler T.M., Kearney J.F. Cathelicidin administration protects mice from *Bacillus anthracis* spore challenge. *J. Immunol.* 2008; 181(7):4989–5000.

22. Mock M., Fouet A. Anthrax. *Microbiol. Rev.* 2001; 55:647–71.

23. Park J.M., Ng V.H., Maeda S., Rest R.F., Karin M. Anthrolysin O and other Gram-positive cytolysins are Toll-like receptor 4 agonists. *J. Exp. Med.* 2004; 200(12):1647–55.

24. Pezard C., Weber M., Sirard J., Berche P., Mock M. Protective immunity induced by *Bacillus anthracis* toxin-deficient strains. *Infect. Immun.* 1995; 63:1369–72.

25. Sabet M., Cottam H. B., Guiney D.G. Modulation of cytokine production and enhancement of cell viability by TLR7 and TLR9 ligands during anthrax infection of macrophages. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2006; 47:369–79.

26. Singh Y., Klimpel K., Arora N., Sharma M., Leppla S. The chymotrypsin-sensitive site, FFD315, in anthrax toxin protective antigen is required for translocation of lethal factor. *J. Biol. Chem.* 1994; 269:29039–46.

27. Swanson-Biearman B., Krenzelok E. Delayed life-threatening reaction to anthrax vaccine. *J. Clin. Toxicol.* 2001; 39(1):81–4.

28. Takeda K., Akira S. Toll receptors and pathogen resistance.

Cell. Microbiol. 2003; 5(3):143–53.

29. Triantafilou M., Uddin A., Maher S., Charalambous N., Hamm T.S.C., Alsumati A. et al. Anthrax toxin evades Toll-like receptor recognition whereas its cell wall components trigger activation via TLR 2/6 heterodimers. *Cell. Microbiol.* 2007; 9(12):2880–92.

30. Uematsu S., Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *J. Mol. Med.* 2006; 84:712–25.

31. Valiante N., O'Hagan D., Ulmer J. Innate immunity and biodefence vaccines. *Cell. Microbiol.* 2003; 5(11):755–60.

32. Walberg K., Baron S., Poast J., Schwartz B., Izotova L., Pestka S. et al. Interferon protects mice against inhalation anthrax. *J. Interferon Cytokine Res.* 2008; 28(10):597–601.

33. Weiss S., Levy H., Fisher M., Kobiler D., Altboum Z. Involvement of TLR2 in innate immune response to *Bacillus anthracis* infection. *Innate Immun.* 2009; 15(1):43–51.

34. Wu C.C., Hayashi T., Takabayashi K., Sabet M., Smeets D.F., Guiney D.D. et al. Immunotherapeutic activity of a conjugate of a Toll-like receptor 7 ligand. *PNAS.* 2007; 104(10):3990–95.

35. Wu C.C., Sabet M., Hayashi T. In vivo efficacy of a phosphodiester TLR9 aptamer and its beneficial effect in a pulmonary anthrax infection model. *Cell. Immunol.* 2008; 251(2):78–85.

References (Presented are the Russian sources in the order of citation in the original article)

1. Bairakova A.L., Voropaeva E.A., Afanas'ev S.S., Aleshkin V.A., Nesvizhskiy Yu.V., Karaulov A.V. et al. [Role and biological significance of Toll-like receptors in the process of anti-infectious resistance of organism]. *Vestnik RAMS.* 2008; 1:45–54.

2. Derbin M.I., Sadovoy N.V., Tarumov V.S., Garin N.S. [Comparative studies of humoral anti-anthrax immunity in those inoculated by live and chemical vaccines]. *Immunologia.* 1982; 3:49–52.

3. Koval'chuk L.V., Khoreva M.V., Varivoda A.S. [Inborn components of immunity: Toll-like receptors in the normal state and immune pathology]. *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2005; 4:96–104.

4. Marinin L.I., Onishchenko G.G., Kravchenko T.B., Dyatlov I.A., Tyurin E.A., Stepanov A.V. et al. [Human anthrax: epidemiology, prophylaxis, diagnostics, and treatment]. М., ЗАО МП "Гигиена"; 2008. 416 p.

5. Mikshis N.I., Popov Yu. A., Kutyrev V.V. [Modern views on pathogenicity and immunogenicity factors of *Bacillus anthracis*]. *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2010; 3:96–101.

6. Onishchenko G.G., Vasil'ev N.T., Litusov N.V., Kharechko A.T., Vasil'ev P.G., Sadovoy N.V. et al. [Anthrax: relevant aspects of microbiology, epidemiology, clinical picture, diagnostics, treatment and prophylaxis]. М.: Ministry of Health of the Russian Federation; 1999. 447 p.

7. Onishchenko G.G., Pal'tsev M.A., Zverev V.V., Ivanov A.A., Kiselev V.I., Netesov S.V. et al. [Biosafety]. М.: ОАО Изд. "Медицина". 2006. 304 p.

8. Pimенов Е.В., Дармов И.В., Васильев Н.Т., Кожухов В.В., Бондарев В.П., Кутырев В.В. et al. [Current state and perspectives of the development of anthrax vaccines]. *Epidemiol. Vaktsinoprofilakt.* 2002; 5:42–6.

9. Sadovoy N.V., Kravets I.D., Selivanenko G.M., Kharechko G.S., Sadovaya E.A., Vasil'ev P.G. et al. [Combined anthrax vaccine]. RF Patent № 2115433.

10. Semenov B.F., Zverev V.V., Khaitov R.M. [Prognosis of the development of vaccine prophylaxis in the first decades of the XXI century]. *Immunologia.* 2009; 6:324–35.

11. Simbirtev A.S. [Toll-proteins: specific receptors of non-specific immunity]. *Immunologia.* 2005; 6:368–77.

12. Khaitov R.M., Pashchenkov M.V., Pinegin B.V. [Role of the pattern-identifying receptors in inborn and adaptive immunity]. *Immunologia.* 2009; 1:66–7.

13. Khoreva M.V., Koval'chuk L.V., Varivoda A.S., Nikolaeva I.N., Gracheva L.A., Galukhina E.R. et al. [Toll-like receptor mediated cytokine production and surface marker expression by means of human leukocytes]. *Allergol. Immunol.* 2006; 7(2):199–206.

Authors:

Popova P.Yu., Mikshis N.I., Shchukovskaya T.N., Popov Yu.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". Universitetskaya St., 46, Saratov, 410005, Russia. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Попова П.Ю., Микуш Н.И., Щуковская Т.Н., Попов Ю.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Получила 30.11.10.