

Выживаемость и перевариваемость перорального иммуноглобулина в препаратах, содержащих антитела IgG, в желудочно-кишечном тракте человека

(авторы Victoria S Jasion* и Bruce P Burnett)

РЕЗЮМЕ:

Препараты перорального иммуноглобулина являются лучшими примерами лечебного питания, получаемых из естественных источников. В случае кишечных расстройств у животных, в их питании применялись продукты плазмы, содержащих Ig, для того, чтобы облегчить деструктивный результат раннего отлучения. Такие препараты снижали общую смертность и увеличивали количество приемов пищи у разного вида животных, что улучшало их прирост.

Пероральное введение препаратов Ig, полученных из сыворотки человека, а также коровьего молозива и бычьей сыворотки, клинически было испытано на человеке, а так же доказано, как безопасное и эффективное при различных кишечных микробных инфекциях и других состояниях, вызывающих диарею. Количество интактного иммуноглобулина G, выделенного в стуле младенцев, детей и взрослых, колеблется от наличествующих следов до 25% исходного количества.

В целом, стало ясно, что иммуноглобулин G может связываться только с антигенами в желудочно-кишечном тракте, если структура участка связывания антигена интактная, и не была полностью денатурирована кислым pH или пищеварительными протеолитическими ферментами. Данный обзор имеет всеобъемлющий исследовательский характер относительно выживаемости перорально вводимых препаратов Ig с акцентом на IgG. В обзоре также представлены различные биохимические исследования иммуноглобулина G, которые потенциально могут объяснить, какие структурные элементы отвечают за его повышенную устойчивость в процессе пищеварения.

Ключевые слова: иммуноглобулин бычьей сыворотки, коровье молозиво, иммуноглобулин сыворотки человека, переваривание иммуноглобулина, пероральный иммуноглобулин.

Введение:

Биологическая роль иммуноглобулинов (Ig) в защите желудочно-кишечного тракта (GI) хорошо известна, особенно роль Ig в молозиве и грудном молоке [[1,2]. Следовательно, из-за необходимости пастеризации препараты Ig из этих источников будут иметь непостоянное количество IgG, поскольку число денатурации IgG зависит как от качества молозива, так и от конкретного метода пастеризации [[3].

Действенность этих составов при различных энтеропатиях человека также зависит от выживаемости **Ig**, после того, как он попадает из желудка в тонкий и толстый кишечник. Общеизвестно, что секреторный **IgA (sIgA)**, первичный класс **Ig** в молозиве и грудном молоке человека, а также обнаруженный в кишечном тракте, устойчив к ферментативной деградации. Другие **Igs**, такие как **IgG** и **IgM**, также менее поддающиеся перевариванию, чем типичные диетические протеины, однако это знание остается недооцененным, несмотря на многочисленные клинические исследования человека, которые иллюстрируют восстановление интактного и иммунологически активного **IgG** из подвздошной кишки и кала (4-7). Цель этого обзора - подвести итог клинических исследований человека, которые определяют перевариваемость, очищенного от молозива или сыворотки **IgG** в аспиратах подвздошной кишки и в фекалиях. В этом обзоре также кратко излагаются биохимические исследования *in vitro*, которые оценивают структурные особенности **IgG**, способствующие их стабильности в целом, и впервые обсуждается предлагаемая структурная основа для их устойчивости к перевариванию в тракте **GI**.

С выведением на рынок первой нутриентной терапии в виде врача, курирующего лечебное питание, содержащее высокий уровень **IgG** из бычьей сыворотки, важно понять фармакокинетику этих молекул. Данное понимание необходимо для полезности любой **Ig**-содержащей рецептуры в качестве натурального терапевтического средства при лечении кишечных расстройств [8].

Обзор

Сохранение жизнеспособности иммуноглобулина в желудочно-кишечном тракте: клинические данные

Представленные многочисленные исследования показали, что **Ig**-препараты, полученные из сыворотки человека, а также коровьего молозива и сыворотки, выживают после выхода из желудка, по всему тракту **GI** и наличествуют в фекалиях. Эти исследования подведены в таблице 1. **IgG** был преобладающим **Ig** в этих препаратах, но часто и **IgA**, и / или **IgM** присутствовали в меньших количествах.

Реабилитация новорожденных

Многие из первых опубликованных клинических исследований по перевариваемости перорально вводимого **IgG** проводились среди младенцев. К примеру, Zinkernagel и другие [9] кормили 10 здоровых детей в возрасте менее трех недель лиофилизированным препаратом молозива крупного рогатого скота,

содержащим 70% **IgG**, в дозировке 2 г / кг / сут. В среднем 13% -20% **Ig** сохраняли жизнеспособность, непереваренные в стуле, что было продемонстрировано с помощью анализа агглютинации против антигенов *E. coli* [9]. Кроме того, восстановленный титр коррелировал с количеством непереваренного **IgG**. В другом исследовании 6 здоровых недоношенных младенцев, получавших формулу, принимали 10% человеческий иммунный сывороточный глобулин (**HISG**), преимущественно **IgG**, в отдельных дозах от 1 до 8 мл / кг / день в течение 5 последующих дней [10]. Выживаемость **IgG** в стуле в течение 24 часов составляла от 4 до 12% от исходного **IgG**. Вариабельность на один субъект наблюдалась в виде активного **IgG**, наличествующего в образцах кала; однако увеличение доз было связано с увеличением количества **IgG**, выводимого за день. Никаких признаков системной абсорбции или побочных эффектов не было.

В более крупном, рандомизированном, контролируемом клиническом исследовании младенцам, с низкой массой тела и неспособным к грудному вскармливанию, ежедневно вводили 600 мг сывороточного человеческого **IgA** (73%) и **IgG** (26%). Испытуемая группа (n = 91) принимала сывороточный **IgA-IgG**, смешанный с детской смесью, либо с этой же смесью, комбинированную с пастеризованным молоком. Контрольная группа (n = 88) принимала ту же формулу / препарат молока, что меньше сывороточного **IgA-IgG** [11]. У младенцев, получавших пероральный **IgA-IgG**, было меньше случаев некротизирующего колита (0 случаев) по сравнению с контрольной группой (6 случаев), и было «значительное количество» интактного **IgA** и **IgG**, выделенных в стуле, по сравнению с контрольными. Как и в предыдущем исследовании, не было доказательств системной абсорбции.

Очищенный **Ig** концентрат коровьего молока от гипериммунизированных коров, против четырех человеческих ротавирусных серотипов, также изучались в группе детей (n = 164) с врожденным низким весом [12]. Дозировки для младенцев составляли 2 г **Ig**-концентрата / кг / день, на протяжении пяти дней. Образцы кала 47% младенцев, получавших **Ig**, имели обнаруживаемый бычий **IgG** и 43% поддерживали активность нейтрализации ротавирусов против ротавируса V1005 крупного рогатого скота, ротавируса ванавата (серотип 1) и синергического ротавируса SA-11 в клеточной культуре. Кроме того, данные о количестве высокого уровня нейтрализующей активности в образцах кала у младенцев так же дополнили результаты клинических испытания. [12].

Реабилитация детей.

Одно небольшое (N-3), а затем и другое, более масштабное (N-105),

исследование было проведено для оценки воздействия активного **IgG** на ротавирус, на основании образцов кала, изъятых у детей [13,14]. Малое исследование проводилось среди трех пациентов: 16-ти месяцев, 4-х лет с тяжёлым комбинированным иммунодефицитом, и 18-летнего, с переменным неклассифицируемым иммунодефицитом [13]. У всех троих наблюдалась эпизодическая экскреция ротавирусного серотипа 1 с хронической диареей, со снижением веса и мальабсорбцией жира. Дети однократно принимали 150 мг / кг (**IgG** при 50 мг / мл) сыворотки **Ig** человека, помеченные радиоактивным изотопом ¹²⁵I. Около 50% извлеченной радиоактивности выделилось в трехдневный период через кал. Половина выведенного из организма радиоактивно помеченного **IgG**, или 25% поглощенного количества **IgG**, поддерживала иммунологическую активность, что установлено путем извлечения помеченного ¹²⁵I **Ig**, связанного с ротавирусом [13].

Во втором исследовании дети, в течение 6 дней 3 раза в день пили 100 мл цельного коровьего молока, с добавлением гипериммунизированного против ротавируса коровьего молозива [14]. На основе титра ротавирусных антител **Ig** рецептуры было создано пять групп: контрольная группа (не ротавирусные титры антител), 1:2,500, 1:5,100, 1:8,000, and 1:8,200. После объединения результатов четырех экспериментальных групп приблизительно 5% **IgG** были восстановлены, в то время как уровень активности антител значительно варьировался. Примерно у 88% экспериментальных пациентов были обнаружены сигналы нейтрализации, которые коррелировали ($r = 0,81$) с процентным снижением ротавируса в стуле и титрами в молоке / молозиве.

Реабилитация взрослых.

Два исследования среди взрослых позволили оценить восстановление перорально вводимых **Ig**s в подвздошной кишке [4,6]. Жизнеспособные субъекты, воздерживавшиеся от приема пищи ($n = 7$) пили 400 мл ¹⁵N-помеченной фракции **IgG** коровьей сыворотки, содержащей примерно 5,2% **IgG**, 0,86% **IgM** и 0,1% **IgA** (~ 2 г **IgG**, 0,34 г **IgM** и 0,04 г **IgA**), после чего в течение 8 часов каждые 20 мин из подвздошной кишки собирали экссудат [4]. Приблизительно 19% **IgG** и **IgM** все так же были иммунологически активны в экссудате, хотя данные о титрах не предоставлены. Так же авторы сообщили, что 59% **IgG**, собранных у 2 пациентов в тонком кишечнике, оставались активными. Дальнейшая очистка образцов содержимого подвздошной кишки, с использованием хроматографии белков, показала, что фракции с наибольшей иммунологической активностью имеют молекулярную массу ~ 100 кДа (кило Дальтон), которая хорошо коррелирует с экспериментами по пепсину *in vitro* и переваривания трипсина интактным **IgG** (~ 160 кДа) в димеры Fab1,2 (~ 100 кДа) и мономеры (~ 50 кДа) [15]. Таким образом, в дополнение к демонстрации способности к выживанию **IgG** от внутрижелудочной среды до подвздошной кишки, эти данные показывают, что *in vivo* **IgGs**, будучи переваренным постепенно в активный, интактный Fab-

фрагмент, который все же связывает целевой антиген (ы).

Во втором исследовании восстановления в подвздошной кишке, 6 здоровых добровольцев с концевой илеостомой принимали 5 грамм концентрированного иммуноглобулина из гипериммунизированного коровьего молозива против *S. difficile*, который содержал 2,1 г только **IgG** с антацидом во время лечения омепразолом (ингибитор протонной помпы, который снижает кислотность желудка), или в капсулах с энтеросолюбильным покрытием в четырех отдельных экспериментах [6]. Разница в восстановленном **IgG** не была статистически значимой: одна (49%), антацид (30%) и омепразол (50%) ($p = 0,13$). Как ни странно, энтеральное инкапсулирование приводило к статистически меньшему количеству **IgG**, достигающему подвздошной кишки (4%) во время курса, в сравнении как с одной, так и с омепразольной группой. Некоторые капсулы были извлечены интактными или частично переваренными, что указывает на то, что энтеральное введение ингибирует высвобождение **IgG** в тонком кишечнике. Процент восстановления **IgG** коррелировал с нейтрализующей активностью токсина А. Эти два исследования показали, что у взрослых высокий процент перорально введенных **IgG** (между ~ 19% и ~ 50%) могут оставаться интактными и активными, на участке из дистальной подвздошной кишки перед входом в толстую кишку. Также было продемонстрировано восстановление перорально вводимых **Igs** в фекалиях у взрослых. В одном исследовании здоровые взрослые добровольцы ($n = 6$) перорально принимали дозу бычьего **Ig** (BIC, 45 г с 14,2 г **IgG**) из гипериммунизированного коровьего молозива против *S. difficile*[5]. У каждого испытуемого был 14-дневный период вымывания между кроссинговером в одну из шести экспериментальных групп: лечебное голодание (45 г BIC), специальное питание (45 г BIC), специальное питание (8 г BIC), совместно с антацидом (45 г BIC), с омепразолом (45 г BIC) и капсулы с энтеросолюбильным покрытием (8 г BIC), предназначенные для высвобождения продукта в кишечном тракте при $pH > 6$. Общее число бычьего **IgG** и специфическая анти-*S. difficile* **IgG** активность измерялась в фекалиях. Концентрация бычьего **IgG** группы на лечебном голодании в сравнении с принятой дозой 45 г BIC после 72 часов в фекалиях составляла 3,8%, на специальном питании - 1,6%, и для антацида - 2,7%.

Омепразол увеличивал уровень фекального бычьего **IgG** до 8,8%, хотя и не статистически значимо по сравнению с другими группами. В этом исследовании образцы кала из капсул с энтеросолюбильным покрытием имели 32,7% **IgG** в исходной дозе, 8 г BIC. Для группы на специальном питании, потребляющей 8 г BIC, восстановление составляло 0,6% от первоначальной дозы. *S. difficile* нейтрализующая активность коррелировала с процентом восстановленного **IgG**. Это исследование показало, что кишечная инкапсуляция орального **Ig** коррелирует с большим количеством восстановленного **IgG** кале, и следовательно, больше интактного **IgG** попадает в толстую кишку у здорового взрослого человека. Требуется дальнейшие исследования, чтобы определить, необходима ли интактная инкапсуляция для защиты перорально доставляемого **Ig** для эффективности лечения специфических кишечных расстройств.

Tacket и другие [16] вводили два специфических препарата коровьего Ig концентрата из молозива здоровым взрослым (n = 50) ,против *Shigella flexneri* 2a штамм 5427 Т липосахарид, **IgG** анти LPS, который варьировался по титру анти-LPS (1: 2,560 и 1: 40,960, соответственно) ,с добавлением шоколадного молочно-протеинового порошка (1: 40,960 титр) . Испытуемым был проведен тест 103 с.f.u. на *S. flexneri* 2a штамм 2457 Т после приема вышеуказанного коровьего **Ig**-концентрата в течение трех дней . Бычий **IgG** был обнаружен в фекалиях в 91% (1: 2,560)и 60% (1: 40,960) от первоначального количества. В обеих группах, восстановленный титр бычьей анти-LPS составил $\geq 1: 8$. В данном исследовании проиллюстрирована "доза-эффект", поскольку группа с более высоким титром имела большую защиту против *S. flexneri* .В другом отчете по двум испытаниям 2 г концентрата крупного рогатого скота из молозива коров гипер иммунизированного от холерного токсина,пациентам с активной холерной диарреей при разных протоколах: две дозы (4 г **Ig** концентрата крупного рогатого скота, n = 45) или разовую дозу каждые два часа, в общей сложности восемь доз (16 г концентрата **Ig**, n = 20). Из 65 пациентов,было проанализировано в общей сложности 35 отдельных образцов стула для бычьего **IgG** и **IgA**. Низкий уровень активного **Ig**, как целого **IgG**, так и Fab-фрагментов, были обнаружены в стуле у примерно 60% пациентов, принимавших бычий **Ig**.В восстановленном стуле все еще присутствовало в среднем около 10-20% активности, нейтрализующей токсин холеры, хотя титр не сообщался [17]В другом рандомизированном,контролируемом исследовании, пациенты, которые перенесли трансплантацию костного мозга(N = 72), ежедневно принимали 50 мг / кг гамма-глобулина человека либо плацебо в четырех дозах в течение 28 дней после операции (500 мг в неделю), где **IgG**, присутствующего в стуле, было от 1 до 80 мг / дл .О реактивности антител не сообщалось [18].

Были также проведены другие исследования, в которых сообщалось только о следовых количествах **IgG** в фекалиях. В неопубликованном исследовании, когда 12 здоровых взрослых в течение двух дней получали 10 г сывороточного иммуноглобулина / белкового изолята сыворотки (SBI) и затем последующими 2,5 г в течение 14 дней, в их фекалиях наблюдались только низкие уровни обнаруживаемого **IgG** . [Hanning, R. and M. Drew, Bovine Immunoglobulin Feeding Trial.Data on File, 1994].]. В сыворотке ни у одного из субъектов не был обнаружен бычий **Ig**, еще раз подтверждая представление о не интактной системной циркуляции бычьего **Ig**. В другом исследовании, когда 4 здоровым взрослым вводили 0,5, 2,5 или 10 г бычьего **IgG**, только 0,01% проглоченного **IgG** было обнаружено в фекалиях. Нейтрализующая деятельность этой восстановленной фракции не оценивалась [19]. Аналогичным образом, когда 15 г препарата молозива от не иммунизированных коров с концентрацией **IgG** в 51% давали здоровым добровольцам (n = 8), не было признаков системной абсорбции бычьего **IgG** (крови или мочи) и у 3 из 8 пациентов наблюдались только следовые количества бычьего **IgG**, обнаруженные в фекалиях, но без реактивности антител к *Yersinia enterocolitica* и *Campylobacter jejuni* антигенам [20]. Эти данные

показывают, что исследования популяции может быть важной детерминантой в восстановлении Ig и нейтрализующей активности. У здоровых людей с нормальным транзитным временем, по-видимому, перорально вводимый Ig восстанавливается меньше, по сравнению с пациентами с ускоренным транзитом кишечника из-за инфекции или заболевания.

Значения восстановленного **IgG** варьировались от исследования к исследованию. Это не удивительно, поскольку у каждого исследования была разная популяция пациентов, а так же различные препараты иммуноглобулина. Тем не менее, данные, приведенные выше, настоятельно свидетельствуют о том, что **IgG** более устойчив к полному перевариванию в желудочно-кишечном тракте человека, чем другие диетические белки, поскольку следы восстановленного **IgG** были в трех из пятнадцати отчетов. Следует отметить, что в отношении литературы по питанию термин «усвояемость» в последнее время определяется как чистое поглощение аминокислоты [21]. В этом обзоре мы используем термин «усвояемость» для обсуждения целостности четвертичной и третичной структуры **IgG**, когда он проходит через желудочно-кишечный тракт человека, поскольку обычно понимается, что **IgG** может связываться только с антигенами в тракте GI если антиген, связывающий домен Fab, не поврежден. Это означало бы, что домен Fab должен противостоять полной денатурации кислым pH и полному перевариванию протеолитическими ферментами. Большинство человеческих исследований, обобщенных выше для **IgG**, оценивали сырую белковую перевариваемость, потому что они сообщали о процентном содержании интактного **IgG**, выделенного либо из подвздошной кишки, либо из фекалий. Как упомянуто выше, многие эксперименты по питанию, которые оценивают перевариваемость других диетических белков, заявлены в процентах как функция чистого поглощения аминокислоты. Поэтому трудно сравнивать перевариваемость **IgG**, как сообщалось в этом обзоре (сырой протеин), с перевариваемостью других диетических белков, описанных в литературе (пищеварение в подвздошной кишке как всасывание аминокислот). Для сравнения, пищеварение в подвздошной кишке - которое определяется всасыванием аминокислот - других пищевых белков у человека: 95% для молочных протеинов, 94,1% для казеина, 90% для белка гороха, 91,5% для пшеничный белок [22]. В этой рукописи рассматривается одно исследование, которое можно было бы консервативно сравнить с приведенными выше числами. Roos и другие [4], сообщали, что поглощение азота в прецекале из препарата **Ig** составило 79%, ниже процентного содержания абсорбции, упомянутого выше для других диетических белков. Кроме того, извлеченные активные фрагменты, соответствующие ~ 100 кДа или двум Fab доменам, были очищены из извлеченного химуса. Таким образом, данное исследование напрямую подтверждает пошаговый процесс, в котором **IgG** расщепляется ферментами *in vitro*, а также встречается у людей *in vivo* и что препараты **Ig** расщепляются медленнее, что соответствует снижению поглощения аминокислот посредством мониторинга состояния азота. Существуют биохимические эксперименты *in vitro*, которые оценивают, способствуют ли различные

структурные особенности **IgG** общей стабильности. Полезно обсудить такие эксперименты, поскольку большинство клинических исследований, рассмотренных в этой рукописи, иллюстрируют процентное содержание **IgG** и доменов Fab, сохраняющих нейтрализующую активность, хотя и на пониженном уровне, и что более важно, что процент **IgG** и Fab-доменов сохраняет их структурную целостность, оставаясь неповрежденным.

Структура иммуноглобулина.

Базовую структуру Ig можно представить в виде двумерного «Y» (рис. 1). Молекулу **IgG** можно разделить на два независимых активных домена: переменный антигенсвязывающий домен или фрагмент и константную область. Антигенсвязывающий фрагмент или Fab, отвечает за взаимодействие с целевым антигеном или эпитопом посредством связывания с помощью паратопа или комплементарной определяющей области (CDR) (рис. 1B). **IgG** способен связываться с различными антигенами с высокой специфичностью из-за изменчивости аминокислот в CDR, поскольку общая сложенная Y-форма (третичная структура) **Igs** сохраняется. Кристаллизуемая фрагментом область (Fc) является эффектором для инициирования иммунного ответа и не обладает антигенсвязывающей способностью (рис. 1B).

Существуют две посттрансляционные структурные особенности молекул Ig, которые вносят вклад в общую стабильность молекулы: внутри- и межцепные ковалентные дисульфидные связи между остатками цистеина и гликозилирование (рис. 1C). Дисульфидные связи являются отличительными чертами стабильности Ig и, как известно, также повышают стабильность других белков [23-28]. Другие исследования связывают гликозилирование **IgG**, переменную функцию для домена Fab, но сохраняющую функцию в домене Fc со стабилизирующими эффектами [29-32]. Областью, наиболее восприимчивой к ферментативной деградации, является шарнирная область, которая соединяет домены Fab и Fc. Область шарнира является наиболее гибкой областью **IgG**, поскольку она является единственной полипептидной областью **IgG**. Исследования по восприимчивости к деградации **IgG** в кислотных условиях (желудок) и перевариванию ферментами (желудок и тонкая кишка) рассматриваются ниже.

Температура и pH - in vitro

Температура плавления белка (ТМ) - это точка, в которой белок разворачивается или денатурируется, и нуждается в структуре, необходимой для активности. ТМ представляет собой биохимическое измерение для исследования структуры белка в различных ситуациях, таких как pH. Термическая стабильность **IgG** коррелирует с pH: более низкие значения pH, 2,8-3,4, соответствуют более низким средним значениям ТМ, 43,7 °C-53,6 °C и более высокому pH, 5,0-7,5, соответствуют более высоким средним значениям ТМ, 67,5 °C-68 °C [33]. Даже в кислом pH-диапазоне

2,8-3,4 значение ТМ не падает ниже температуры тела 37 ° С, что соответствует структурной целостности Ig в пищеварительном тракте. Добавление сахаров, трегалозы [34] и сахарозы [35] в экспериментальные буферы увеличивало значения ТМ для всех IgG с значениями рН от 4,0 до 8,0, что указывает на то, что другие факторы окружающей среды в тракте GI, такие как диетические молекулы, могут повысить стабильность Ig. Содержание соли не оказывает влияния на стабильность **IgG** [35]. Имеются отдельные отчеты, в которых домен СH2, наиболее термически стабильный домен IgG, проявляет повышенную термическую стабильность после воздействия рН 2,0 [36]. Эта повышенная стабильность коррелирует с чередующимися конформациями, которые проявляют различные IgG при таком низком рН [37-39]. Некоторые процедуры очистки IgG, как из способов рекомбинантной экспрессии, используемых для получения коммерчески доступных биологических лекарств, так и из природных источников, таких как сыворотка, требуют кислотных или основных этапов воздействия [40, 41]. Молекулы IgG, очищенные с использованием сдвигов рН, не теряют способность связывать антигены. Фактически, некоторые внутривенные препараты иммуноглобулина (IVIg), очищенные с помощью стадии с низким рН, усиливали связывание *in vitro* и *in vivo* с антигенами, что коррелирует с лучшей производительностью в моделях сепсиса мыши [41-43]. Эти исследования подчеркивают, что IgG остается стабильным в кислых условиях при температуре тела. Также возможно, что временное воздействие кислой желудочной среды может повысить стабильность выживания по тракту GI и протеолитическим ферментам.

Устойчивость к протеолитическому перевариванию

Характеристика структуры **IgG** с использованием переваривания протеолитическими ферментами *in vitro* датируется 1960-ми годами [44-47]. Хорошо известно, что ферментативное переваривание **IgG** в шарнирной области с помощью папаина продуцирует два активных домена: Fab1,2 и Fc (рис. 1BC). Кроме того, модулирование времени реакции, рН и температуры во время ферментативного расщепления приведет к появлению различных фрагментов активных доменов [48]. Первичными пищеварительными ферментами у людей для белков являются пепсин, в желудке, а затем трипсин и химотрипсин в тонком кишечнике [49], которые переваривают IgG до Fab-димеров (~ 100 кДа) и мономерных Fab-фрагментов (~ 50 кДа) [15], но эта ферментативная восприимчивость может варьироваться в зависимости от подтипа IgG и видов. Например, бычий **IgG1** легче протеолизуется пепсином, чем бычий **IgG2** [50]. Бычий **IgG** более устойчив к протеолитическому расщеплению по сравнению с кроликом или человеческим IgG [29]. Даже после протеолитического переваривания **IgG**, димеры Fab и мономерные фрагменты сохраняют связывание и нейтрализующую антигенную активность, если они не денатурированы. Протеолитическая характеристика бычьего **IgG1** *in vitro* демонстрирует интактные и

реакционноспособные Fab-домены [29,50-53]. Это коррелирует с исследованием человека *in vivo* Roos et al. [4], демонстрирующие, что иммунологически активные бычьего Fabs были выделены в илеальных аспиратах.

Заключение

Двенадцать из 15 исследований среди людей наглядно демонстрируют, что перорально вводимый Ig (особенно IgG) из сыворотки человека, быка, а также из коровьего молока и молозива, у младенцев, детей и взрослых выживает при желудочном воздействии и противостоит протеолитическому вывариванию в желудке и кишечном тракте (Таблица 1) [4-6,9-14,16-18]. Стабильность IgG основана на структурных свойствах молекул с вкладами от внутри- и межцепочечных дисульфидных связей, сахаров, добавленных после транскрипции, и трехмерных складчатых доменов. Даже при частичном расщеплении протеолитическими ферментами Fab-фрагменты сохраняют не только связывающую, но и нейтрализующую активность на протяжении пищеварительного тракта. Кроме того, нет доказательств интактной абсорбции белка, что делает пероральное введение IgG безопасной, потенциально эффективной терапией в ряде состояний и заболеваний GI. Эти физические свойства и способность расщепленных IgG-фрагментов, Fab-мономеров и димеров Fab1,2 сохранять активность связывания делают их привлекательными природными терапевтическими вариантами в условиях GI [54], так же в смягчении ущерба, причиненного бактериальными энтеротоксинами, эндотоксинами и секретируемыми экзотоксинами [55].

Исследования на животных показали, что прием сывороточных Ig-препаратов, содержащих прежде всего IgG, увеличивает противовоспалительные цитокины и уменьшает провоспалительные цитокины в слизистой тощей кишки [56,57]. Кроме того, было показано, что введение сывороточного IgG предотвращает повышенную проницаемость кишечника, вызванную вызовом энтеротоксина [58]. Также наблюдалось улучшение использования питательных веществ в моделях животных и клинических исследованиях человека после приема препаратов иммуноглобулина, полученных из сыворотки [59,60]. Более поздние исследования также показали эффективность пероральных сывороточных иммуноглобулиновых препаратов крупного рогатого скота, в основном содержащих IgG, в таких условиях, как синдром раздраженной толстой кишки с диареей (IBS-D) и ВИЧ-ассоциированная энтеропатия [59,61]. Другие пациенты с хроническими состояниями, такими как воспалительное заболевание кишечника (IBD) или общий переменный иммунодефицит (CVID), также могут извлекать выгоду из перорально

вводимых Ig-препаратов, содержащих IgG, из-за антиген-нейтрализующей активности, а также противовоспалительных свойств этих препаратов. Короче говоря, есть достаточные доказательства, свидетельствующие о том, что IgG менее восприимчивы к пищеварению по всему тракту GI и поэтому могут обеспечить уникальное пищевое требование, уникальное для пациентов с кишечными расстройствами и заболеваниями, которые другие пищевые белки обеспечить не могут.

Аббревиатуры

Ig: Иммуноглобулин (ы); IgG: иммуноглобулин G; GI: желудочно-кишечный тракт; sIgA: секреторный IgA; HISG: глобулин иммунной сыворотки человека; кДа: Кило-Далтон; BIC: концентрат крупного рогатого скота; S. flexneri: Shigella flexneri; SBI: Сывороточный иммуноглобулин / белковый изолят; Fab: антигенсвязывающий фрагмент; CDR: дополнительная область определения; Fc: кристаллизуемая область фрагмента; TM: температура плавления белка; IBS-D: синдром раздраженной толстой кишки с диареей; IBD: воспалительное заболевание кишечника; CVID: общий переменный иммунодефицит

Конкурирующие интересы

Victoria S Jasion и Bruce P Burnett являются наемными работниками Entera Health, Cary, NC, которые продают пероральный препарат иммуноглобулина.

Авторский вклад

BPB исследовал всю литературу по клиническим данным человека и написал первый проект этого раздела, VSJ просмотрел литературу и отредактировал этот раздел. VSJ исследовал все статьи по биохимическому тестированию на стабильность IgG и написал первый проект этого раздела, BPB рассмотрел эту литературу и отредактировал этот раздел. VSJ отредактировал и ответил на комментарии рецензента. BPB создал первый проект таблицы 1, VSJ ввел больше информации и переформатировал таблицу 1. BPB создал Рисунок 1. Все авторы прочитали и утвердили окончательный манускрипт

Поступило в редакцию: 1 декабря 2014 г.

Принято к печати: 13 февраля 2015 г.

опубликовано он-лайн 7 марта 2015 года

Рисунок 1 Упрощенная двумерная схема иммуноглобулина G (IgG). А. Схема, показывающая переменные и постоянные области молекулы IgG для тяжелых (СНх) и легких цепей (СL); В. Схема антигенсвязывающих фрагментов (Fab_{1,2}) и фрагментирующей кристаллизующейся области (F_c) молекулы IgG; С. Схематическое изображение внутри- и межцепочечных дисульфидных связей, а также гликозилирование областей Fab, F_c и областей связывания антигена паратопа молекулы IgG.