

ЦИТОКИНЫ КАК АДЬЮВАНТЫ ВАКЦИН

Алпатова Н.А., Авдеева Ж.И., Медуницын Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

CYTOKINES AS VACCINE ADJUVANTS

Alpatova N.A., Avdeeva Jh.I., Medunitsin N.V.

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Одним из способов повышения эффективности вакцинации является использование адъювантов, веществ, которые усиливают иммунный ответ при одновременном введении с АГ. Важнейшей задачей вакцинологии является поиск новых адъювантов и особое внимание уделяется способности адъюванта вызывать комплексную стимуляцию иммунного ответа по типу Th1 и Th2, формирование стойкой иммунологической памяти, развитие выраженного иммунного ответа при снижении дозы вакцины и кратности введения, а также отсутствие токсичности для организма (1, 2). Наряду с внедрением в клиническую практику цитокинотерапии, в начале 90-х годов была предложена гипотеза о возможности применения цитокинов при вакцинации в качестве иммуноадъювантов (3). Опубликованы результаты изучения адъювантных свойств ряда цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИФ α , ИФ γ , ФНО α , ГМ-КСФ (4, 5, 6, 7, 8).

Цель работы заключалась в изучении иммуноадъювантных свойств цитокинов на моделях иммунизации экспериментальных животных против бешенства, клещевого энцефалита, гепатита А и гепатита В. Дозы и схемы введения вакцин соответствовали принципам определения иммуногенной активности соответствующих вакцин при оценке их качества. В исследованиях использованы следующие вакцины - культуральная антирабическая вакцина концентрированная (КОКАВ) инактивированная и вакцина клещевого энцефалита (ВКЭ) культуральная концентрированная

инактивированная (ИПВЭ РАМН им.М.П.Чумакова); вакцина против гепатита А культуральная концентрированная инактивированная адсорбированная «Геп-А-ин-ВАК» (НИКТИ БАВ ГНЦ ВБ «Вектор»); конъюгат вакцины против гепатита А «Геп-А-ин-Вак» с Полиоксидонием (ПО), содержащий 25 нг АГ вируса гепатита А (АГ ВГА) и 2,5 мкг ПО (ФГБУ «ГНЦ-Институт иммунологии» ФМБА России); вакцина против гепатита В рекомбинантная «Engerix B» («GlaxoSmithKline», Бельгия). Эксперименты проведены на мышцах линий BALB/c, СВА, беспородных белых мышей весом 14-18 г и морских свинок весом 250-350 г. Дозы цитокинов выбраны на основании данных литературы и результатов собственных предварительных исследований. Для каждого из цитокинов в качестве монопрепаратов использованы дозы: для рЧИЛ-1 β , тимозина альфа 1 человека рекомбинантного, гибридного белка «неотим», состоящего из рчФНО α и тимозина альфа 1, Имунофана – от 10 до 1500 нг; для рЧИЛ-2, рчФНО α – от 10 до 10000 Ед; для рЧИФ α , рЧИФ γ – от 2000 до 50000 Ед; для «Аффинолейкина» – 1,0 Ед. Дозы препаратов, вводимых в комплексе, составляли для рЧИЛ-1 β – 10 нг, рЧИЛ-2 – 10 МЕ, рчФНО α – 10 Ед; при использовании вакцины против гепатита В для препарата рЧИЛ-1 β – 5 нг и рЧИЛ-2 – 50 МЕ. Цитокины вводили животным п/к в объеме не более 0,5 мл. Животным контрольных групп вакцины вводили в тех же разведениях, но без цитокинов.

Эффект воздействия исследуемых препаратов на иммуногенную активность вакцин оце-

нивали по изменению иммунизирующей дозы вакцины (ИД50); показателю сероконверсии; уровню титров специфических антител (АТ); уровню выживаемости животных, инфицированных вирусом бешенства или клещевого энцефалита; величине предельно допустимого разведения вакцины, обеспечивающего 50 % выживаемость животных (КР50/ПР50); величине минимальной иммунизирующей дозы ВКЭ, защищающей 50 % животных при заражении вирусом клещевого энцефалита (МИД50).

Влияние цитокинов на протективный эффект КОКАВ изучали в тесте защиты иммунизированных животных при последующем заражении их фиксированным вирусом бешенства (штамм CVS). Вакцину вводили в разведениях 1 : 25, 1 : 125, 1 : 625 и 1 : 50, 1 : 500, 1 : 5000 в/бр, 2-кратно, с интервалом в одну неделю, одновременно с цитокинами. Вирус бешенства вводили на 8-ой день после иммунизации. Использование в качестве адъювантов цитокинов рчИЛ-1 β и рчФНО α в виде монопрепаратов, а также комплекса цитокинов (рчИЛ-1 β , рчИЛ-2 и рчФНО α) повышает защитный эффект вакцины КОКАВ, способствуя увеличению выживаемости животных при последующем их заражении вирусом бешенства. При этом возрастало количество выживших животных (в 1,5 - 2 раза) и существенно снижалась величина предельного разведения вакцины, обеспечивающая 50 % выживаемость животных. Показатель КР50 в опытной группе, получившей вместе с вакциной комплекс цитокинов, увеличился в 7,3 раза по сравнению с контрольной группой. Протективный эффект при использовании вакцины КОКАВ в сочетании с комплексом цитокинов или с монопрепаратами рчИЛ-1 β , рчФНО α сопровождался увеличением числа Т-хелперов и снижением количества цитотоксических Т-клеток, а также усилением как спонтанной пролиферации лимфоцитов (Лф), так и индуцированной митогенами и специфическим АГ (9, 10, 11).

При изучении влияния цитокинов на иммуногенные свойства вакцины против клещевого энцефалита (ВКЭ) животных опытных групп иммунизировали вакциной в разведениях 1:10, 1:32, 1:100, 1:320 в/бр, 3-кратно с интервалом в одни сутки одновременно с цитокинами, которые вводили п/к. На девятый день после окон-

чания иммунизации животным в/бр вводили заражающую дозу вируса клещевого энцефалита (тест-штамм «Абсеттаров»). Использование цитокинов в качестве адъювантов повышает эффективность иммунизации. Наибольшую активность проявили рчИЛ-1 β , рчФНО α , препарат «Имунофан» и гибридный белок «неотим», которые усиливали иммуногенность ВКЭ в 1,3-1,5 раза. Аналогичный эффект (повышение иммуногенности вакцины на 24 %) наблюдался при использовании комплекса цитокинов (рчИЛ-1 β , рчИЛ-2, рчФНО α). Под влиянием всех указанных цитокинов отмечалось увеличение количества Т- и В-Лф в селезенках иммунизированных мышей и усиление АГ-специфической пролиферации Лф. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что более выраженный протективный эффект, наблюдаемый при использовании ВКЭ с цитокинами, обусловлен активацией специфического клеточного иммунного ответа под воздействием цитокинов.

Влияние препаратов цитокинов на иммуногенность вакцины против гепатита А (Геп-А-ин-ВАК) изучали в экспериментах на морских свинках. Иммунизацию животных проводили п/к, 3-кратно с интервалом в две недели, одновременно с Геп-А-ин-ВАК вводили исследуемые препараты цитокинов. Эффективность иммунизации оценивали в динамике на 14-е сутки после 2-го и 3-го введений препаратов. Выявлено стимулирующее влияние цитокинов и препарата «Имунофан» на иммуногенную активность вакцины. Введение одновременно с Геп-А-ин-ВАК цитокинов рчФНО α , рчИЛ-1 β , рчИЛ-2, рчИФ γ и препарата «Имунофан» способствовало формированию более высоких титров специфических АТ (в 2,5-13,5 раза) и обеспечивало 100 % сероконверсию животных после окончания введения препаратов. Уровень сероконверсии в группе животных, иммунизированных одной вакциной, составлял 72-89 % (9, 12).

Проведены исследования по изучению иммуногенной активности конъюгата АГ ВГА и ПО с добавлением лекарственной формы ПО в различных концентрациях, а также иммуногенной активности указанных выше компонентов в сочетании с рчФНО α в экспериментах на мышцах. Для получения конъюгированного препарата АГ ВГА с ПО был использован полуфа-

брикат одной из коммерческих серий вакцины ГЕП-А-ин-ВАК (без содержания гидроокиси алюминия). На основе указанного полуфабриката были приготовлены три экспериментальные серии препарата, одна прививочная доза которых (25 нг АГ ВГА) содержала различные дозы лекарственной формы ПО (1000, 200 или 40 мкг). Добавление лекарственной формы ПО к исследуемому конъюгату способствовало повышению иммуногенной активности вакцины, что выражалось в снижении ИД50. Выявлен дозозависимый эффект воздействия лекарственной формы ПО. При использовании препарата ПО в дозе 200 мкг/мышь отмечено более выраженное снижение значений ИД50. Усиление иммунного ответа на АГ ВГА наблюдалось у животных и при сочетанном применении рчФНО α и ПО в указанной выше дозе. Лекарственная форма ПО и рчФНО α оказывали стимулирующее влияние на иммуногенную активность вакцины «Геп-А-ин-Вак», индуцируя синтез специфических АТ к АГ ВГА. Повышение частоты выявления специфических АТ сопровождалось увеличением их титра. Адъювантный эффект препарата рчФНО α отмечен в экспериментах с использованием полуфабриката вакцины и конъюгата с ПО в сочетании с лекарственной формой ПО в дозе 40 мкг и проявлялся в стимуляции формирования специфических АТ в более высоких титрах (12).

Эффективность иммунизации животных вакциной против гепатита В «Engerix B» и адъювантный эффект цитокинов на иммуногенную активность вакцины оценивали по количеству сероположительных животных, а также по определению эффективной дозы, вызывающей сероконверсию у 50 % животных (ЕД50). Оценку интенсивности иммунного ответа проводили после однократного введения АГ (через 15 дней после первой иммунизации), а также в динамике (после повторного введения АГ – на 30-й день эксперимента). Использование в качестве адъювантов препаратов цитокинов рчИЛ-1 β и рчИЛ-2, а также лекарственных препаратов «Аффинолейкин», «Имунофан» в виде монопрепаратов или комплекса цитокинов (рчИЛ-1 β + рчИЛ-2), способствует повышению иммуногенной активности вакцины. Введение препаратов цитокинов с вакциной приводит к увели-

чению числа сероположительных животных по сравнению с контрольной группой, иммунизированной одним АГ. При использовании меньшей дозы АГ в сочетании с цитокинами формируется иммунный ответ, сопоставимый с ответом на большую дозу АГ, вводимого без адъювантов. Более выраженный стимулирующий эффект отмечен у рчИЛ-1 β по сравнению с другими препаратами.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности использования цитокинов и других препаратов с иммуномодулирующей активностью в качестве адъювантов, способных повышать иммуногенную активность вакцин. Цитокины, как иммуноадъюванты нового поколения, могут избирательно усиливать защитные механизмы иммунитета, вызывая развитие тех форм иммунного ответа, которые необходимы организму для защиты от конкретного возбудителя заболевания. Использование цитокинов в качестве адъювантов может способствовать созданию более эффективной и надежной защиты при вакцинации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Медуницын Н.В. Вакцинология. М. 2010.
2. Coffman R.L., Sher A., Seder R.A. Vaccine Adjuvants: Putting Innate Immunity to Work. *Immunity*. 2010; 33 (4): 492-503.
3. Heath A., W. Playfair J. H. L. Cytokines as immunological adjuvants. *Vaccine*. 1992; 10: 427-434.
4. Schijns V.E., Claassen I.J., Vermeulen A.A., Horzinek M.C., Osterhaus A.D. Modulation of antiviral immune responses by exogenous cytokines: effects of tumour necrosis factor-alpha, interleukin-1 alpha, interleukin-2 and interferon-gamma on the immunogenicity of an inactivated rabies vaccine. *J Gen Virol*. 1994; 75 (Pt 1):55-63.
5. Notria A., Rubin R. H. Cytokines as potential vaccine adjuvants. *Biotherapy*. 1994; 7:261-269.
6. Toporovski R., Morrow M.P., Weiner D.B. Interferons as potential adjuvants in prophylactic vaccines. *Expert Opin Biol Ther*. 2010; 10(10):1489-500.
7. Decker W.K., Safdar A. Cytokine adjuvants for vaccine therapy of neoplastic and infectious disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011; 22(4):177-87.
8. Gai W., Zheng W., Wang C., Wong G., Song Y., Zheng X. Immunization with recombinant rabies virus expressing Interleukin-18 exhibits enhanced immunogenicity and protection in mice. *Oncotarget*. 2017; 8(53):91505-91515.

9. Акользина С.Е. Цитокины в вакцинах и их адьювантные свойства: автореферат дис. кандидата медицинских наук. М. 1996 г. 30 с.
10. Авдеева Ж.И., Акользина С.Е., Алпатова Н.А., Мовсесянц А.А., Медуницын Н.В. Действие цитокинов на протективные свойства антирабической вакцины. Цитокины и воспаление. 2007; 6 (2): 46-50.
11. Ж.И. Авдеева, Н.А. Алпатова, С.Е. Акользина, Н.В. Медуницын. Иммуноадьювантный эффект цитокинов. Тихоокеанский медицинский журнал. 2009; 3:19-22.
12. Ж.И. Авдеева, Н.А. Алпатова, С.Е. Акользина, Н.В. Медуницын. Цитокины и вакцины. Тихоокеанский медицинский журнал. 2009;3:22-27.

СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ, КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ИММУНОПАТОЛОГИИ У БОЛЬНЫХ АДЕНОМОЙ И РАКОМ ПРОСТАТЫ

Альимова Е.В.^{1,3}, Смирнова О.В.^{1,2}, Каспаров Э.В.¹, Титова Н.М.², Акимов В.В.³

¹ -Научно-исследовательский институт медицинских проблем севера Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН), Красноярск

² - Сибирский федеральный университет, Красноярск

³ - ФГБУЗ Больница Красноярского научного центра сибирского отделения Российской академии наук, Красноярск

THE STATUS OF LIPID PEROXIDATION, ANTIOXIDANT PROTECTION OF BLOOD AS A DIAGNOSTIC CRITERION IMMUNOPATHOLOGY IN PATIENTS WITH ADENOMA AND PROSTATE CANCER.

Alymova E. V.^{1,3}, Smirnova O.V.^{1,2}, Kasparov E.V.¹, Titova N.M.², Akimov V.V.³

¹-Research Institute of medical problems of the North, Federal research center «of the Krasnoyarsk scientific center of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences» (research Institute of MPs FITS KSC SB RAS), Krasnoyarsk

² Siberian Federal University, Krasnoyarsk

³ FGBUZ Hospital of Krasnoyarsk scientific centre of Siberian branch of Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk

В развитии опухолевых пролиферативных процессов большую роль играет система иммунной защиты. Недостаточная функция иммунной системы вызывает не только возникновение, но и прогрессирование онкологических заболеваний.

Не исключена роль окислительного стресса в развитии иммунной недостаточности при онкологических патологиях, особенно это актуально у лиц преклонного возраста [7].

Аденома предстательной железы (АПЖ) - распространенное заболевание, для которого

важна ранняя диагностика. В связи с увеличением продолжительности жизни число мужчин, страдающих АПЖ, с каждым годом растет [1]. По данным отечественных и зарубежных исследователей [2, 3], клинические проявления АПЖ имеют место у 25–35% мужчин в возрасте 40–50 лет, их частота увеличивается с возрастом и достигает 75–80% у мужчин старше 70 лет [8].

При улучшении диагностики и введении в клиническую практику такого теста, как определение простатического специфического антигена (ПСА) в сыворотке крови, стало возмож-