

УДК 615.371 – 025 (048.82)

## АДЬЮВАНТЫ В СОВРЕМЕННОЙ ВАКЦИНОЛОГИИ

Исаенко Е.Ю., Бабич Е.М., Елисеева И.В.,  
Ждамарова Л.А., Белозерский В.И., Колпак С.А.

ГУ «Институт микробиологии и иммунологии  
им. И. И. Мечникова Национальной академии  
медицинских наук Украины»

В борьбе с инфекционными заболеваниями наряду с созданием эффективных вакцин, способных вызвать стойкий и напряженный иммунитет, актуальным остается дальнейшее усовершенствование существующих и разработка новых веществ, способных усиливать эффект иммунизации [1 – 139]. Необходимость применять адьюванты, которые оказывают иммуностимулирующее действие, обусловлено слабой иммуногенностью некоторых препаратов (противомаларийная, пневмококковая и другие вакцины) [2, 56, 76,]. Неспецифические стимуляторы широко используют для повышения иммуногенности высокоочищенных антигенов, которые в процессе очистки утрачивают значительную степень изначальной иммуногенности [23, 24, 35].

### Понятие адьюванты

Адьюванты (лат. *adjuvans* (*adjuvantis*) — помогающий, способствующий) — вспомогательные факторы различного происхождения и различной химической природы, оказывающие неспецифическое стимулирующее действие на иммунный ответ при совместном их применении со специфическими антигенами или, другими словами, вещества, повышающие иммунный потенциал вакцин [2, 13, 23, 24, 108].

В настоящее время известны десятки веществ органической и неорганической природы, которые способны оказывать адьювантное действие [2, 24, 108]. В качестве адьювантов используют минеральные соединения (гели гидрата окиси и фосфата алюминия), полимерные вещества, сложные химические смеси (липополисахариды, белково-липополисахаридные комплексы, мурамилдипептид и его производные и др.); бактерии и компоненты бактерий (вытяжки вакцины БЦЖ); липиды и эмульгаторы (ланолин, арлацел); вещества, вызывающие воспалительную реакцию (сапонин, скипидар) и другие [2, 128].

Как видно, адьюванты имеют различный химический состав и происхождение, сходство их состоит в том, что все они способны усиливать иммуногенность антигена, изменять степень гуморального ответа на иммуноген, являясь при этом чужеродными для организма веществами.

### История создания адьювантов

В 1916 г. Л. Муаник и Д. Пино впервые обнаружили вещество (суспензию убитых *Salmonella typhimurium* в вазелине) способное повышать им-

мунный ответ на введение антигенов, т.е. обладающее адьювантным свойством [13].

Термин «иммунологический адьювант» был впервые предложен в 1920-е годы Гастоном Раймоном, знаменитым французским иммунологом и ветеринаром. Описанная им субстанция, при введении в комбинации со специфическим антигеном, позволила получить более выраженный иммунный ответ, чем чистый антиген [14, 15]. Он обнаружил, что у некоторых лошадей, гипериммунизированных для получения дифтерийной антисыворотки, на месте введения антигена образуются абсцессы. Наряду с этим у животных наблюдались значительно большие титры антител по сравнению с животными, получившими чистый антиген. Предполагалось, что абсцессы возникали в результате заражения из-за несовершенства метода иммунизации. Поэтому Раймон пытался вызвать такой же, только стерильный абсцесс, добавляя для этого перед инъекцией к вакцине различные вещества. Наибольший эффект наблюдался при добавлении в вакцину тапиоки (т. е. практически чистых гранул крахмала). Несмотря на то, что полученная смесь оказалась эффективной в указанных целях, реакция, возникающая в месте введения, делала ее непригодной для применения в терапевтической практике [14, 15].

Примерно в то же самое время в Англии А. Т. Гленни установил, что при добавлении к вакцине дифтерийного анатоксина, полученного осаждением квасцами из культуральной жидкости, ее эффективность увеличивается более значительно, чем при добавлении простого жидкого анатоксина [16]. Гленни и другие ученые в 1926 г. на примере дифтерийного анатоксина, адсорбированного на гидроксиде алюминия, впервые представили адьювантную активность соединений алюминия [17]. Данное открытие позволило значительно снизить дозы антигенов при иммунизации и увеличить тем самым безопасность вакцины. Сейчас применяется модифицированный метод Гленни для адсорбции анатоксинов (анатоксин клостридий), совместно с вакциной против Ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита, парагриппа крупного рогатого скота и т.д.. При создании вакцин, используемых для иммунизации людей, для адсорбции белковых антигенов добавляют фосфат или гидроксид алюминия [17].

Большой вклад в изучение адьювантов и иммуномодуляторов принадлежит Фрейнду, с именем которого связано введение в иммунологию полных и неполных адьювантов.

Настоящая эпоха адьювантов началась с открытия иммуностимулирующих свойств мураминовой кислоты и получения синтетического мурамилдипептида [32 - 34].

Несмотря на огромное количество разработок и широкий диапазон применяемых адьювантов в экспериментальной иммунологии изучение неспецифических стимуляторов остается актуальной проблемой в практике промышленного производства [124, 125, 133 - 135].

классификация адьювантов

В настоящее время единой классификации адъювантов не существует. Они могут быть разделены в зависимости от их происхождения, механизма действия и физико - химических свойств. Согласно данной классификации адъюванты представлены тремя группами: (I) вещества, выступающие в роли активных иммуностимуляторов, которые повышают иммунный ответ организма на введенный антиген; (II) иммуногенные белки, которые служат носителями и при этом вызывают Т-клеточный ответ (III) адъюванты транспортного средства (масла, липосомы), которые являются матрицей для антигенов, они также стимулируют иммунный ответ [5, 18].

Вторая классификация делит вспомогательные вещества на минеральные добавки, соли алюминия и подобные, бактериальные производные, поверхностно-активные вещества, транспортные средства и препараты, способствующие более медленному освобождению материалов или цитокинов [19].

Следующие авторы предложили систему классификации, которая разделяет адъюванты на группы: адъюванты на основе геля, поверхностно-активные вещества, бактериальные продукты, масляные эмульсии, белки или липопептиды [20].

Существует ряд альтернативных классификаций. К примеру, адъюванты подразделяются согласно месту их введения, а именно: мукозальные или парентеральные.

### Виды адъювантов

В настоящее время известно большое количество веществ, которые способны оказывать адъювантное действие на различные антигены. В качестве адъювантов используются убитые микроорганизмы (микобактерии, коринебактерии, нокардии и др.), органические вещества (бактериальные полисахариды и липополисахариды, лецитин, холестерин, ланолин, агар, глицерин, желатин, крахмал, пектины, протамины и др.), неорганические вещества (гидроксид алюминия, фосфат алюминия, хлорид кальция, фосфат кальция, гидроксид железа, аммониево-кальциевые квасцы, минеральные масла и др.), синтетические вещества (нуклеотиды, полианионы и др.). Кроме простых адъювантов, используют сложные, представляющие собой смеси липидов с минеральными сорбентами, масел с липополисахаридами и эмульгаторами, микроорганизмов с маслами и другими веществами. Из сложных адъювантов наиболее известен адъювант Фрейнда.

Ниже приведены примеры адъювантов, широко используемых в препаратах для иммунизации людей и животных, а также распространенных в экспериментальной иммунологии.

Минеральные адъюванты — это минеральные коллоиды (фосфат геля алюминия, гидроокись алюминия, алюмокалиевые квасцы), кристаллоиды (кварцевый порошок) и т. д.

Наиболее широкое применение в медицине и ветеринарии получили соли алюминия. Обычно антиген смешивают с гелями  $Al(OH)_3$  или  $AlPO_4$  [36]. Антиген адсорбируется на них посредством ионного взаимодействия, поэтому вакцины, приго-

товленные с такими традиционными адъювантами, принято называть адсорбированными или сорбированными.

Минеральные адъюванты позволяют обеспечить более длительный процесс поступления антигенов (депонирующий эффект) [21, 24]. Существует мнение, что соли алюминия могут вызывать образование мелких гранул, в которых удерживается адсорбированный антиген. Данные адъюванты приводят к активации фагоцитов и запуску некоторых воспалительных реакций [22 - 23].

Применение алюминиевых квасцов для адсорбции белков позволяет продлить гуморальный ответ. При внутримышечном введении описанные вещества способствуют накоплению плазматических клеток в области депо. Некоторые анатоксины и иммуногены, адсорбированные на квасцах, вызывают выработку иммуноглобулина Е (IgE). Благодаря минимальным побочным эффектам данный метод успешно применяют для вакцинации людей дифтерийным и столбнячным анатоксинами [24, 36].

Доподлинно известно, что многие сорбированные вакцины обладают достаточной антигенностью при первичной иммунизации людей. Однако, при повторном введении препарата существенной разницы между нативной и адъювантной вакцинами по времени наступления, силе и продолжительности вторичного иммунного ответа не наблюдалось. На сегодняшний день в медицинской и ветеринарной практике большинство вакцин содержит гидрат окиси алюминия [25]. Доказана его эффективность для адсорбции анатоксина, например, анатоксина клостридий. Также гидроокись алюминия можно применять совместно с инактивированными вакцинами, например, с вакциной против ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита, парагриппа крупного рогатого скота и т.д. Ранее считалось, что это относительно слабый и безопасный адъювант, однако сейчас существуют сомнения на этот счет, о чем будет сказано ниже.

Масляные адъюванты (эмульсии) - Позднее в практику вошел новый тип адъюванта, приготовленный на основе минеральных масел. Он представляет собой растворенный или суспендированный в воде антиген, который диспергируют в масле. В результате капельки воды с антигеном находятся в масляной фазе. Такой тип эмульсии называют «вода в масле». В качестве масла применяется высокоочищенный жидкий парафин. Помимо масла обязательно должен присутствовать эмульгатор для стабилизации смеси, иначе капли воды (диспергированная фаза эмульсии) будут соединяться вместе и отделяться от масла (основной фазы). В качестве эмульгатора часто применяют Арлацел А (маннид монолеат) [36].

При эмульгировании вышеописанной эмульсии в воде, содержащей гидрофильный эмульгатор, (твин - 80 или другой), получится водно - масляная - водная эмульсия. В результате дискретные капли «вода в масле» будут находиться в водной фазе. Эмульсии типа «вода - масло - вода» были предложены для решения проблемы вязкости, которая об-

разуется при приготовлении эмульсии типа «вода в масле» [24, 26].

В зависимости от состава масляного адьюванта могут быть получены эмульсии различных типов: "вода в масле" (обратная), "масло в воде" (прямая) или "вода - масло - вода" (множественная) [26].

Водно - масляная эмульсия представляет собой густой кремopodobный материал. Вводят ее обычно внутримышечно или внутривенно. Положительный эффект вакцинации достигается тем, что минеральное масло не метаболизируется, благодаря чему капли эмульсии с находящимся внутри них антигеном удерживаются в месте введения длительное время. После распада эмульсии в результате ферментативного расщепления эмульгатора антиген медленно выделяется из этих капель на протяжении нескольких лет [26, 35].

Описанная водно - масляная эмульсия вызывает почти идеальный длительный иммунный ответ. Свое практическое применение она нашла в виде гриппозной вакцины для лошадей, клостридиальной вакцины для овец, *Pasteurella*-вакцины для крупного рогатого скота, а также против гриппа H1N1, H5N1 для вакцинации людей.

Водно - масляная эмульсия создает «депо» антигенов для их более медленного рассасывания, стимулирует фагоцитоз антигенов в составе мелких эмульгированных пузырьков. Этот адьювант позволяет значительно активировать функции макрофагов и усиливать их антигенпрезентирующие механизмы. Масляные адьюванты вызывают развитие сильной воспалительной реакции, которая запускает весь механизм иммунного ответа. Соответственно, такая ответная реакция организма на инъекцию помимо своих положительных качеств имеет и отрицательные последствия: в месте введения ярко выражены побочные явления. Причина подобных реакций неизвестна, но если их исключить, то водно - масляные эмульгированные вакцины могут стать стандартным средством вакцинации.

Основным представителем масляных адьювантов считается неполный адьювант Фрейнда. Данный стимулятор назван по имени Юлиуса Фрейнда, впервые применившего в качестве адьювантов минеральные масла. Он представляет собой эмульсию водного адьюванта в минеральном масле с низким удельным весом и вязкостью. Классический неполный адьювант представляет собой минеральные масла (например, «маркол»), в которых растворяют до 10 % (объем/объем) липофильного эмульгатора — маннида моноолеата (Арлацел А или монтанид). Эти компоненты эмульгируют с водным раствором антигена при соотношении масла и воды примерно от 70:30 до 50:50. Для уменьшения токсичности предложены другие эмульгирующие системы, в том числе содержащие «Маркол 52» с добавлением «Спана 85» в качестве липофильного эмульгатора и твина - 80 как гидрофильного эмульгатора. Наряду с токсичностью, значительными недостатками описанных адьювантов была их высокая вязкость и недостаточная стабильность. Как говорилось ранее, усовершенствование достигли благодаря добавлению к гидрофильному эмульгатору — твина - 80 в

количестве 1 — 5% (объем/объем). Эмульгатор повышал дисперсность водных капель вакцины в масляной фазе и обеспечивал стабильность эмульсии. В противном случае капли водной фазы соединялись бы вместе и отделялись от масла [23].

Неполный адьювант Фрейнда используют для депонирования вещества, обладающего иммуногенными свойствами. Интенсивная выработка антител осуществляется благодаря постепенной резорбции иммуногена в месте инъекции. Несмотря на преимущества данного адьюванта, образование антител было не продолжительным. К тому же, у морских свинок изменяется изотоп антител — например, при введении растворимых белков с неполным адьювантом Фрейнда вырабатывался IgG<sub>1</sub> [23].

Одним из типов водно-масляной эмульсии, которая широко используется в экспериментальной работе, является полный адьювант Фрейнда. В основной масляной фазе этой эмульсии содержатся инактивированные нагреванием *Mycobacterium tuberculosis* или *Mycobacterium butyricum* и эмульгатор Арлацел А [23, 128]. Полный адьювант Фрейнда особенно эффективен как стимулятор клеточного иммунитета. Также, он значительно усиливает и продлевает гуморальный ответ, что впервые описано этим ученым. После внутримышечного введения эмульсии формируется «депо» иммуногена с медленным поступлением его в сосудистое русло. Основные свойства полного адьюванта Фрейнда обусловлены микобактериями, которые мощно стимулируют клетки региональных лимфоузлов и гранулом. Особенно выраженные свойства наблюдаются у *Mycobacterium tuberculosis* [23].

По стимуляции образования антител полный адьювант Фрейнда не имеет себе равных. Однако, применение его в терапевтических целях ограничено, так как он вызывает образование абсцесса в месте введения, острую боль, лихорадку, возможность повреждения органов. Особое стимулирующее действие адьюванта Фрейнда связано, по-видимому, с наличием на клеточной стенке *Mycobacterium tuberculosis* воска, который обладает выраженным стимулирующим действием. Широкого распространения для вакцинации людей и животных он не получил, его использование ограничилось только экспериментальными целями для иммунизации лабораторных животных [23].

Запатентованной водно - масляной эмульсией является адьювант MF59 [22, 36]. Он представляет собой масло - в - воде, сделан из сквалена в непрерывной водной фазе, с диаметром капель  $167 \pm 20$  нм. Эмульсия приводит к воспалительной реакции и действует, преимущественно, на макрофаги, находящиеся в месте инъекции. MF59 увеличивает поглощение антигена моноцитами и способствует его миграции в лимфатические узлы. По сравнению с солями алюминия MF59 вызывает более сильный иммунный ответ: стимулирует выработку антител и Т - клеточный иммунный ответ [22, 26].

Адьювантным действием обладают многие природные вещества: белки, пептиды, липополисахариды, нуклеиновые кислоты и другие. Эти веще-

ства стимулируют антителообразующую систему и называются адьювантами прямого действия.

Новым этапом в мире создания неспецифических стимуляторов явилось обнаружение свойств природного вещества - сквалена. Это ненасыщенный углеводород, который встречается в растениях, у животных и у людей, в пищевых продуктах [29]. Сквален синтезируется в печени организма каждого человека и циркулирует в крови. Ранее его получали преимущественно из печени акулы. Перед использованием сквалена в фармацевтических препаратах и вакцинах проводили его предварительную очистку [30]. Позднее традиционный способ получения из печени акул заменили производством из оливкового масла, масла зародышей пшеницы и масла рисовых отрубей [31].

Сам по себе сквален не является адьювантом, но совместные с ним эмульсии усиливают иммунный ответ. На сегодняшний день в промышленном производстве вакцин сквален добавляют к нескольким различным адьювантам. Например, адьювант MF59, содержащий сквален, выпускается компанией Novartis. Он включен в противогриппозную вакцину FLUAD, лицензированную изначально Корпорацией Chiron (1997 г.), а впоследствии данная вакцина была утверждена учреждениями здравоохранения в нескольких европейских странах [30].

К настоящему времени более 22 миллионов людей успешно вакцинированы этим противогриппозным препаратом. В некоторых случаях были отмечены незначительные местные реакции при полном отсутствии серьезных побочных эффектов. Описанная вакцина изначально вводилась людям старше 65 лет, поскольку она была лицензирована с целью применения у лиц данной возрастной категории. Были проведены клинические испытания скваленсодержащих вакцин на новорожденных и детях грудного возраста, подтвердивших полную безопасность данных препаратов.

Однако, появились противоречивые данные показывающие, что у ветеранов войны в Персидском заливе, которым была введена вакцина против сибирской язвы, появились антитела к сквалену. Это связали с нарушением иммунных реакций и с возникшей нетрудоспособностью вакцинированных [30]. В настоящее время доказано, что в вакцинах, введенных этим солдатам сквален не содержался вообще. У большинства взрослого населения, независимо от того, вводилась им скваленсодержащая вакцина или нет, имеются антитела к сквалену. Причем, установлено, что уровень описанных антител повышается с возрастом [29 - 30].

В настоящее время продолжают разрабатывать несколько экспериментальных вакцин против пандемического гриппа и малярии, а также различных вирусных и бактериальных вакцин с адьювантами, содержащими сквален. Хотя опасения в отношении скваленсодержащих вакцин оказались необоснованными, было рекомендовано после внедрения этих препаратов более молодому населению проводить тщательный постмаркетинговый контроль для выявления каких-либо побочных проявлений, связанных с вакциной [31].

Мурамилдипептид. Фрейнд обнаружил адьювантное действие убитых микобактерий, а Ледерер с сотрудниками идентифицировали компоненты клеточной стенки микобактерий, обладающие адьювантным действием. Этим веществом оказался трипептид – моносахарид, наименьшая активная часть которого мурамил-дипептид (МДП) [32]. Действующим веществом МДП является N – ацетилглюкозамин – N – ацетилмурамил – аланин – D – изоглутамин – это основной активный компонент клеточных стенок всех известных бактерий.

Мурамилдипептид способствует выработке антител к синтетическим антигенам. При введении данного адьюванта вместе с дегидроэпиандростерон сульфатом в физиологическом растворе у мышей вырабатываются исключительно JgG<sub>1</sub> [33, 36].

В настоящее время существует синтетический аналог мурамил-дипептид- (N-ацетил-мурамил-L-аланин-D-изоглутамин), обладающий сходной эффективностью. В продажу он поступил в виде коммерческого препарата и может быть использован для приготовления полного адьюванта Фрейнда вместо убитых нагреванием микобактерий. Преимуществом является относительная нетоксичность; пути введения - парентеральный или оральный; проявление адьювантного действия, как в масляных, так и в водных растворах. Как правило, мурамилдипептид усиливает гуморальный антительный ответ, действуя непосредственно на В-клетки. Однако, некоторые неспецифические стимуляторы, такие как адьювант Синтекса, стимулируют также клеточный иммунитет и по эффективности не уступают полному адьюванту Фрейнда. Адьювант Синтекса состоит из треонилового аналога мурамилдипептида и эмульсии сквалена с неионным детергентом. Наиболее активными аналогами, обладающими адьювантными свойствами, являются треонил-МДП и 3'-п-пропил-МДП [34].

В качестве адьювантов могут выступать различные компоненты клеточных стенок бактерий. Высокоактивными являются О-антигены. Они содержатся в каждой вакцине из сальмонелл и действуют как адьюванты для других антигенов, одновременно присутствующих в данном препарате [35]. Взвесь убитых клеток *B. pertussis* вводят совместно с другими антигенами для усиления гуморального ответа, увеличения образования IgG и IgE [24, 36]. Субъединицу В холерного токсина успешно применяют в качестве адьювантов при производстве вакцинных препаратов [3]. Можно привести ряд стимуляторов, полученных из различных бактерий: Р 40 - пептидогликан клеточной стенки *Corynebacterium*, нетоксическая часть термолабильного энтеротоксина *E. Coli*, инактивированный *Corynebacterium parvum*, нетоксичный мутант *E112K* холерного токсина *mCT E112K* и другие [3].

Адьювант QS-21 получают из коры мыльного дерева (*Quillaja saponaria*), произрастающего в Чили. Он представляет собой высокоочищенный растительный экстракт, который увеличивает способность иммунной системы реагировать на антигены, усиливает действие Т-зависимых и Т-независимых антигенов. QS-21 содержит растворимые в

воде тритерпеновые глюкозидные соединения, относящиеся к сапонидам [36]. Сапонин вызывает повреждение тканей и тем самым способствует задержке антигена в месте инъекции [135]. Частично очищенный препарат сапонины, получил название Квил-А (Quil A). Данное поверхностно-активное вещество способно солюбилизовать гидрофобные молекулы, проявляет выраженную адьювантную активность в низких дозах, хорошо переносится. Квил-А в присутствии холестерина образует мицеллии. Хочется остановиться еще на одном адьюванте – ISCOM. Он представлен холестерином, фосфолипидами и сапонидами. Это сферические структуры диаметром 35 нм, в которых амфифильные молекулы антигена и сапонины соединены через гидрофобную связь [138]. В Швеции на фирме "Спикозайд" разрабатываются иммуностимулирующие комплексы ISCOM, представленные поверхностными белками вируса гриппа (гемагглютинин и нейраминидаза) и сапонином. Полученные комплексы обладают более высокой иммуногенностью, чем исходные белки [139]. Поскольку ISCOM являются микрочастицами, они легко поглощаются макрофагами, где и происходит их процессинг и презентация.

В качестве примера депообразующего адьюванта, имеющего терапевтическое применение, можно назвать альгинат. При введении растворимого альгината натрия он превращается в нерастворимый альгинат кальция и образует депо [11].

Успешно применяемой является адьювантная система AS04. Она представлена иммуномодулятором MPL — монофосфорилипидом А. Это очищенная, детоксицированная производная бактериальных липополисахаридов, адсорбированная на различных соединениях алюминия [120]. Первый препарат с поверхностным антигеном вируса гепатита В, содержащий адьювант AS04, создали специально для пациентов с терминальными стадиями заболеваний почек, имеющими большой риск развития гепатита В. Данная вакцина позволила получить высокий титр специфических антител и повышенный уровень серопротекции, при меньшем количестве необходимых доз, по сравнению с классической вакциной от гепатита В в комбинации с соединениями алюминия [36]. Доказано, что при использовании вакцины с адьювантной системой AS04, защитный уровень антител сохраняется дольше при тех же сниженных количествах доз [38]. Вакцина против рака шейки матки, направленная против папилломы вируса человека (HPV) 16 и 18 типов также содержит адьювантную систему AS04. Данная вакцина одобрена в США, в Австралии и Европе и проходит процедуру регистрации в других странах [36, 39].

Углеводородные адьюванты - низкомолекулярные, нетоксичные соединения с C<sub>16</sub>: крахмал, тапиока, агар – агар, танин, глицерин, сапонин, производные целлюлозы (ДЕАЕ – целлюлоза). Привлекают внимание два адьюванта этой группы: диметилдиоктадецилалейн (ДДА) и N, М-диоктадецил-N, N'-бис (2-гидроксиэтил) пропандиамин (авридин). Адьювантные свойства у авридина обнаружены при совместном его введении с субъединичной вакциной против трансмиссивного га-

строэнтерита свиней. Эти данные представляют большой интерес, поскольку наблюдается стимуляция выработки антител. Положительный заряд ДДА способствует взаимодействию с антигенами, образуя при этом более организованные структуры с высокой молекулярной массой. Предполагают, что в основе их иммуностимулирующего действия лежит активация макрофагов и освобождение интерлейкина-1 [40].

Новым этапом в развитии искусственных вакцин послужили разработки Р. В. Петрова и Р. М. Хаитова. В основу положено использование естественных антигенов и синтетических адьювантов. Принцип вакцин с искусственными адьювантами заключается в микроинкапсулировании бактериальных и вирусных антигенов в синтетические полимеры [25, 41]. Биологически активное соединение заключают в микрокапсулу из биологически совместимого полимера или сополимера, который может проходить через желудочно - кишечный тракт и сохраняться на поверхности слизистой, не подвергаясь разрушению или подвергаясь ему в незначительной степени. Благодаря этому антиген поступает в пейеровы бляшки или другие, ассоциированные со слизистой, лимфатические ткани в исходных эффективных количествах [25, 41, 79]. Полимер не должен обладать токсичностью, канцерогенным или воспалительным действием и способен разрушаться в ходе биологических процессов до продуктов, не накапливающихся в тканях и выводящихся из организма. Микрокапсулы должны иметь такие размеры и физико-химические свойства, которые обеспечивали бы их эффективное избирательное поступление в пейеровы бляшки. [41].

Известно, что пероральное введение антигенов приводит к образованию IgA и появлению в продуктах секреции (молоке, молозиве, слюне, слезах) [41 - 42].

Среди синтетических адьювантов можно назвать также полиакрилаты, полистиренсульфонат, модефицированный хитозан, Фикол С 400, полимеры молочной и гликолевой кислот, сульфатдекстран, полиаминокислоты и другие. [43 - 44]. К примеру, такие синтетические полиэлектролиты как поли - 4 - винилпиридин, поли - 2 - метил - 5 - винилпиридин и полиакриловая кислота, являются мощными иммуностимуляторами. Их совместное введение с белком увеличивает выход антителообразующих клеток в 5 — 15 раз, предположительно активируя В - лимфоциты и Т - хелперы. Добавление к белковому антигену сополимеров акриловой кислоты и N - винилпирролидона приводит к увеличению образования специфических антителообразующих клеток. Некоторые ученые считают, что такое взаимодействие способствует, своего рода, "корпускулированию антигена" и не уступает по своим положительным характеристикам адсорбции на минеральных носителях. Адьювантным действием обладают также ди- и трисульфиды, полисульфиды, пиридины, пиримидины и их производные.

В качестве примера можно представить один из блок-полимеров (L=121), который является эффективным адьювантом, стимулирующим синтез

антител, особенно когда в составе водной эмульсии используется 1 % минеральное масло. На его основе разработан синтетический адъювант, содержащий синтетические мурамилдипептиды и трехблочный полимер L=121, состоящий из оксипропилена и двух частей полиоксиэтилена. В качестве добавок используют сквален и твин-80. Адъювант не оказывает местного и системного повреждающего эффекта, стимулирует синтез антител, клеточный иммунитет и формирует Т- и В-клеточную память. Его используют для иммунизации животных против вируса лейкоза кошек, гриппа и гепатита В.

Примером вакцины с искусственными адъювантами, которая внедрена в практику здравоохранения, является гриппозная вакцина. Она представлена белками вируса гриппа (гемагглютинина и нейраминидазы) и искусственным стимулятором полиоксидонием, который проявляет выраженные адъювантные свойства [25].

Также внимание ученых привлекают неионные блоки - сополимеры, синтезированные из оксида этилена и оксида пропилена, которые способны доставлять антиген. Другие композиции антигена на основе поли-(L)-лактида стимулируют Т-клеточный иммунный ответ [78].

Несмотря на явные преимущества, существует ряд недостатков: дороговизна производства, низкая устойчивость к воздействию секретов желудочно - кишечного тракта. Поэтому ученые продолжают дальнейшие исследования в данном направлении, отдавая предпочтение более простым в производстве и недорогим полимерам. При этом учитывают период распада исследуемых адъювантов на физиологически безопасные вещества в организме. В последние годы уменьшение размеров капсул до 1 мкм позволило задействовать наибольшее количество клеток, способных к эндоцитозу [45].

В настоящее время интенсивно проводятся исследования, направленные на разработку новых и улучшение существующих систем доставки [54 - 65]. Они являются важными вспомогательными компонентами, которые позволяют не только надлежащим образом доставить антиген, а к тому же часто обладают собственной иммуногенной активностью [46 - 53]. Уделяют внимание рассмотрению состояния безопасности систем доставки частиц, их составу, физико-химическим свойствам, ассоциации антигенов и выбору путей введения [52].

Вакцины нового поколения чаще стимулируют клеточный иммунный ответ, особенно типа Th1. Важное значение данные разработки приобретают при хронических инфекционных заболеваниях, которые вызваны способными к внутриклеточному размножению микроорганизмами (вирус герпеса, вирус гепатита С, *Helicobacter pylori*, *Plasmodium falciparum*, *Mycobacterium tuberculosis*), а также для терапевтических вакцин против рака, аутоиммунных заболеваний, аллергии [55]. Новые технологии необходимы для создания препаратов против вируса гриппа, ВИЧ, вируса папилломы, поскольку требуют новых путей введения, нового состава и новых адъювантных систем [56].

Одним из самых перспективных адъювантов ученые рассматривают наночастицы, которые эффективно поглощаются антигенпредставляющими клетками [57]. В результате этого, если с наночастицами связать антиген, то он будет направленно поглощаться макрофагами, а это приведет к усилению иммунного ответа [58 - 59].

В качестве транспортных средств доставки антигена и стимуляции иммунной системы исследуется целый ряд наночастиц: липосомы, вирусомы, ниосомы, иммуностимулирующие комплексы, полимерные наносферы, вирусоподобные частицы и др [60]. Наночастицы представлены:

(а) структурными компонентами вируса, которые включают капсид и белки оболочек, но не имеют генетического материала,

(б) липосомы - средство доставки антигена и, при необходимости, стимулятор иммунной клетки,

(в) частицы, состоящие из синтетических биоразлагаемых полимеров, которые могут переносить антиген и стимулировать иммунитет (обычно антиген загружается внутрь частицы), о которых говорилось ранее,

(г) вирусные векторы, используемые для доставки генетического материала определенным клеткам-мишеням,

(д) фаговые частицы [61].

Липосомы. В результате поисков наиболее эффективных адъювантов появилось целое новое направление в науке, основателями которого по праву считаются Sessa и Weissmann: их изобретение липосом (в 1968 году) определило направления исследовательских работ последующих лет. Липосомы - микроскопические структуры, состоящие из нескольких концентрических липидных бимембранных структур, окруженных водой [62 - 63]. Они представляют собой везикулы, которые способны инкапсулировать антиген и выступать в качестве средств его доставки [26]. Ряд авторов считают, что липосомы, благодаря своему близкому строению с цитоплазматической мембраной клеток, позволяют предохранять антиген не только от разрушения в активных средах организма, но и от взаимодействий с компонентами крови, а также осуществлять направленный транспорт к клеткам ретикулоэндотелиальной системы [64 - 65]. Многочисленные исследования доказали возможность использовать липосомы не только в качестве носителей, но и в качестве иммуномодулятора, обнаружив иммуномодулирующие свойства самих липосом [66 - 67].

Недостаток липосомных носителей заключался в ограничении включаемых в них веществ. В последующем данная проблема была решена, хотя и повлекла за собой усложнение процесса их производства [68 - 70]. Сложное строение липосом позволило программировать свойства носителей (длительность циркуляции, афинность к клеткам и органам-мишеням, скорость запуска иммунологических реакций и т.д.), но при этом ещё больше усложнило процесс изготовления [71-72]. Кроме того, имея в основе своей структуры фосфолипиды, липосомы нуждались в эффективной защите от перекисного окисле-

ния, без которой длительное их хранение было бы невозможным [73-74].

Липосомы можно приготовить из лецитина, холестерина и стерилана. При включении в их состав дифтерийного анатоксина наблюдается более выраженный иммунный ответ. Антиген, заключенный в липосомах, после внутривенного введения быстро локализуется в селезенке, а после внутримышечного, подкожного и внутрикожного введения длительно высвобождается из депо [75].

При использовании липосом важное практическое значение имеет возможность применять высокотоксические вещества. Например, яд гадюки, который ранее не использовался для иммунизации из-за своей токсичности. Открытие липосом позволило проводить внутривенные и подкожные инъекции, приводящие к формированию длительного и выраженного гуморального ответа [24].

Когда в липосому включают кроме антигена (вирусный капсид) еще белки, которые способствуют слиянию мембран липосом и клеток, такой препарат называют виросомой. Виросома ведет себя как вирусная частица, попавшая в клетку. Это позволяет антигену оказаться на поверхности антигенпредставляющей клетки в том виде, который узнается Т-хелперами. Виросомы, созданные на основе липосом, успешно используются для иммунизации человека: они не только хорошо переносятся, но и антиген, включенный в такую виросому, вызывает выработку более высоких титров антител. Примером служат антигены вируса гепатита, включенные в смесь природных и синтетических фосфолипидов [62].

Существуют лицензированные продукты, содержащие виросомы. Эти сферические липидные пузырьки включают вирусные гликопротеины гемагглютинина и нейраминидазы гриппа. Гликопротеины облегчают поглощение антигена. Механизм действия предполагает непосредственное взаимодействие виросомы с В-клетками, в свою очередь, активируя Т-клетки. Существует несколько виросом-адьювантных вакцин, лицензированных в некоторых европейских и неевропейских странах [27].

Ниосомы — везикулы, представляющие оболочку из двойного слоя неионогенного эмульгатора и холестерина. Диаметр их колеблется от 300 до 900 нм. В организме ниосомы ведут себя подобно липосомам [140]. Однако, по сравнению с последними имеют целый ряд преимуществ для внутриканальной доставки биологически активных веществ, антибиотиков, витаминов, растительных, животных экстрактов и т.д. Наличие ковалентной связи Si-O в гидрофобной части молекулы полидиметилсилоксановой основы эмульгатора, которая обладает большой эластичностью и реакционной способностью, позволяет ниосоме направленно доставлять необходимые вещества при помощи реакционно-способных участков и целенаправленно их выпускать из везикулы [140].

Детально изучают сферолиты (многослойные везикулы) и трансферсомы (высокоэластичные пузырьки), которые способны доставлять небольшие молекулы неинвазивно через кожу [76 - 77].

В вакцинологии успешно используют рекомбинантные вирусы. Для этих целей ДНК, кодирующие один или несколько антигенов, включают в вирусный вектор [80 - 81]. Идеальный вирусный вектор должен быть безопасным, способен переносить необходимый материал, обеспечивать эффективную презентацию антигенов и возможность вводить его несколько раз, чтобы повысить специфические иммунные реакции [76]. Поскольку именно выраженная иммуногенность аденовирусных векторов не позволила их использовать в генной терапии рака [82].

Экспериментально в качестве векторов разработано большое количество РНК и ДНК - содержащих вирусов [76, 83 - 86]. Некоторые из них были на основе ослабленных штаммов вируса, которые использовали в качестве вакцин (вирус коревой оспы, вирус полиомиелита, вирус желтой лихорадки) [87]. Другие вирусные векторные системы (альфа-вирусы, адено - ассоциированные вирусы и некоторые вирусы герпеса) требуют вспомогательных систем для их распространения (дендритные клетки, макрофаги) [87]. Успешно были изготовлены и испытаны на животных векторы из белка капсида (вирус папилломы человека, ротавирус) [88 - 89].

Еще одним интересным вирусным вектором, способным вместить большое количество нуклеиновой кислоты, является коронавирус, который имеет тропность к дыхательным путям, вызывая ОРВИ, иногда — бронхиты и пневмонию, а также гастроэнтериты и способен вызвать иммунный ответ организма [90 - 91]. Однако, практически у всех людей имеются антитела к подобным вирусам и интерес к их использованию в качестве векторов сомнителен.

Бактериальные векторы. Помимо вирусных векторов бактерии также используются в качестве систем - носителей для ДНК - вакцин [92]. Ослабленные штаммы грамположительных и грамотрицательных бактерий, способных к внутриклеточному размножению, используют для введения ДНК - вакцины через слизистую оболочку или в виде прямой системы доставки (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *Shigella flexnerii*) [93]. Такие бактерии способны выживать внутри клетки, предотвращать слияние фаголизосомы с лизосомами, а также на выходе из фагосомы в цитозоль могут освободить ДНК [93]. Эти ДНК впоследствии способны проникать в ядро и представлять кодированный антиген. Внутриклеточные бактерии способны индуцировать созревание дендритных клеток, тем самым оптимизировать презентацию гетерологичных антигенов [94]. При иммунизации мышей подобными векторами доказана возможность вызывать гуморальный и клеточный иммунный ответ (бактериальные, вирусные и опухолевые антигены) [93]. Альтернативой целых бактерий является использование бактериальных белков и липопротеинов в качестве носителей для Т-клеточных эпитопов. Примером служат белки наружной мембраны (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), бактериальные токсины (аденилатциклазный токсин *Bordetella pertussis*) [95].

Хотелось отметить следующие системы доставки: гидрогели, силиконовые мембраны, плазмидные ДНК, дендритные клетки, экзосомы и другие [96 - 98].

Вакцины на основе плазмидной ДНК вызывают выработку антител и мощный Т - клеточный ответ при введении животным, тогда как в организме человека не вызывают иммунного ответа даже при введении большого количества вакцины (ВИЧ1, антигены *P. falciparum*) [99 - 100]. В настоящее время занимаются усовершенствованием и устранением недостатков и получены обнадеживающие результаты [55]. Микроскопические частицы были покрыты плазмидой, кодирующей поверхностный антиген гепатита В, и их вводили добровольцам через кожу с помощью частицы - ускорителя Powderject XR1. Вакцина хорошо переносилась, но не способна была индуцировать выработку антител [101]. Еще одним примером усовершенствования вакцины, содержащей плазмидную ДНК, является соединение ДНК и вируса оспы, способное вызывать выработку антител у животных; на людях клинические испытания проводятся [55].

В настоящее время дендритные клетки используют в качестве платформы для презентации антигена при вакцинации онкологических больных [106]. Они усиливают реакции, протекающие по Т — клеточному типу [107]. Как правило, дендритные клетки представлены моноцитами, которые потом объединяют с опухолевыми антигенами (пептиды, белки, рекомбинантные вирусы, плазмидная ДНК, РНК с катионными липидами, опухолевые лизаты). В организме человека были испытаны антигены против следующих раковых заболеваний: В-клеточной лимфомы, меланомы (MAGE1, MAGE3, MART1, тирозиназы, опухолевые лизаты), рака мочевого пузыря (MAGE3), колоректального рака (CEA), рака предстательной железы (PSM-P1, PSM-P2, PSA, PAP) [106]. Эти вакцины хорошо переносились и вызвали определенный противоопухолевый ответ. Несмотря на обнадеживающие результаты, процедуры подготовки и загрузки антигенами дендритных клеток остаются дорогими и трудоемкими, что делает их применение невозможным в современной клинической практике [26 - 27, 107].

Полученные разработки открыли новые возможности создания вакцинных антигенов и транспортных средств [102 - 103]. К примеру, поверхностный антиген вируса гепатита В, гликопротеин вируса бешенства при пероральном введении мышам способствовали выработке антител. У людей, питавшихся трансгенным салатом (HbsAg), трансгенным картофелем (*E. coli*, капсидный белок вируса *Newcastle*) также обнаруживался значительный уровень антиген - специфических антител [102]. Известно, что использование клубней картофеля, как носителя, в которые экспрессирован бактериальный токсин и антигены гепатита В в сыром виде представляют собой "съедобные" вакцины, которые успешно прошли I фазу клинических испытаний [104].

Производство вакцин с использованием растительных компонентов привлекает внимание своей безопасностью и малыми затратами: не требуют сложных технологических манипуляций. Растительные вакцины не могут содержать животных белков, а также патогенов животного происхождения. Трансгенные растения, такие как картофель, томаты и бананы, в состав которых входят необходимые для вакцинации антигены, можно выращивать в промышленных масштабах, для чего не требуется разработки сложных и дорогостоящих производственных процессов и оборудования. Несмотря на экономически эффективную систему получения больших количеств рекомбинантных белков, она не может быть использована, поскольку, как правило, не вызывает выраженной иммунной реакции у человека.

Пероральный способ доставки вакцины является наиболее сложным из-за многочисленных барьеров желудочно-кишечного тракта. Такой вид доставки препаратов представляет трудности для биотехнологов: ферментативное расщепление, неэффективное поглощение. В результате разработок новых транспортных средств и усовершенствования имеющихся удалось обойти эти ограничения и повысить эффективность пероральной доставки препарата [105]. Некоторые из этих технологий уже находятся на последних стадиях клинических испытаний.

На стадии изучения находится возможность развития иммунологической толерантности слизистой оболочки ротовой полости при употреблении "съедобных" вакцин. Необходимо отработать схему приема таких препаратов. Важным моментом является поиск растений, являющихся оптимальными для производства вакцин, при этом учитывается необходимость съедобности плодов в сыром виде, чтобы избежать потери антигенов при термической обработке [137].

#### Основные свойства адьювантов:

- увеличение иммуногенности за счет образования антител в ответ на вещества с пограничными иммуногенными свойствами;
- снижение оптимальной дозы иммуногена или уменьшения количества прививок необходимых для образования защитного иммунитета;
- увеличение силы иммунного ответа у новорожденных, пожилых и лиц с ослабленным иммунитетом;
- использование в качестве системы доставки антигенов на слизистые оболочки;
- продление гуморального ответа благодаря эффекту депонирования, что препятствует резорбции иммуногена из места введения;
- изменение изотипического профиля секретируемых антител;
- увеличение средней avidности и аффинности антител;
- индуцирование защитных свойств слизистых оболочек;
- способность удерживать антиген в том месте, где он экспонируется лимфоцитам;
- увеличение иммуногенности «слабых» антигенов;
- предотвращение конкуренции антигенов в комбинированных вакцинах;

- повышение проницаемости лизосомных мембран и способности освобождать антигенные детерминанты;
- увеличение скорости антигенного катаболизма;
- задержка антигенного материала в фаголизосомной фракции макрофагов;
- активация эндогенных факторов, способствующих иммуногенезу [23, 24, 35, 136].

### Механизм действия

Механизм действия адъювантов достаточно сложен и до конца не изучен. Не вызывает сомнений, что действие неспецифических стимуляторов зависит непосредственно от исходного иммунного статуса организма. Считается, что применение любого адъюванта должно вызывать "иммунологически полезную перестройку организма" [108]. Поскольку под этим термином предполагают большое количество адъювантных эффектов: от скорости накопления антител и длительности их сохранения до изменения структуры антигена, адъюванты разделяют по механизму их влияния.

Большинство ученых выделяют два основных механизма действия неспецифических стимуляторов. Адъюванты действуют как на антиген - через изменение свойств антигена, так и на организм путем стимуляции функций иммунной системы последнего [109].

Под влиянием адъювантов изменяется структура антигена, его молекулярная масса, полимерность, растворимость и другие физико-химические параметры. Действие на антиген сводится к превращению растворимых антигенов в корпускулярные, благодаря укрупнению его молекулы (сорбция, химическая связь с полимерным носителем). В результате антиген лучше захватывается и активнее представляется фагоцитирующими и другими иммунокомпетентными клетками, т.е. превращается из тимусзависимого в тимуснезависимый антиген. Кроме того, адъюванты вызывают на месте инъекции воспалительную реакцию с образованием фиброзной капсулы, гранулемы, которая может существовать длительное время. В результате последнего антиген длительно сохраняется, депонируется на месте инъекции и медленно выводится из «депо». Длительное представление антигенов создает более выраженный иммунный ответ и более длительную память. При этом важное значение имеет стабильность самого антигена на протяжении всего этого времени.

Адъюванты усиливают иммуногенность антигенов в несколько раз, а некоторых растворимых белковых антигенов, таких как дифтерийный, столбнячный, ботулинический анатоксины — до ста раз.

Второй основной механизм действия адъювантов основан на неспецифическом иммуностимулирующем действии. Он сводится к увеличению продукции клетками организма соответствующих цитокинов, экспрессии молекул взаимодействия. Адъюванты усиливают реакции со стороны лимфатических узлов, активируют систему комплемента, стимулируют пролиферацию, дифференцировку и функциональную активность Т- и В-кле-

ток, образование цитокинов, усиливают синтез защитных белков организма [24].

Наиболее сильные адъюванты содержат в своем составе микроорганизмы ослабленных штаммов или их субстанции. Эти компоненты являются стимуляторами клеток врожденного иммунитета, например макрофагов или других антигенпрезентирующих клеток. В зависимости от свойств адъюванты могут стимулировать только гуморальный или только клеточный иммунитет или одновременно оба вида иммунитета. Например, минеральные сорбенты и неполный адъювант Фрейнда активируют Тх2 - хелперы, а полный адъювант Фрейнда активирует Тх1 – клетки [24].

Следует дополнительно отметить механизм действия адъювантов - носителей. Благодаря им осуществляется направленная доставка антигена в лимфоидные органы. Преимуществами является возможность точной дозировки антигена, отсутствие влияния на структуры, не вовлеченные в формирование иммунного ответа. В иммунопрофилактике и иммунотерапии инфекционных болезней важное значение имеет ускорение транспортировки антигена в иммунокомпетентных клетках [110].

Механизм действия адъювантов на иммунокомпетентные системы организма недостаточно понятен и до настоящего времени нет единого мнения среди ученых по этому вопросу. Существует мнение, что масляные адъюванты освобождают антиген в течение более длительного времени, чем сорбированные вакцины, и это частично объясняет более мощную иммунную стимуляцию после первой дозы препарата. Данный факт был доказан при проверке иммуногенных свойств инактивированных эмульгированных вакцин против ящура, везикулярной болезни, болезни Тешена и Ауески по сравнению с вакцинами, содержащими гидроксид алюминия. Прививка людей инактивированными вакцинами против гриппа и полиомиелита с неполным адъювантом Фрейнда подтвердила данное предположение. Однако имеются единичные сообщения, свидетельствующие о более высокой эффективности сорбированных вакцин. Примером служит иммунизация обезьян очищенным гликопротеиновым антигеном (gp 350/220) вируса Эпштейн-Барр, сорбированным на гидроксиде алюминия, которая защищала животных от экспериментального заражения, тогда как аналогичный препарат с адъювантом Фрейнда их не защищал [24, 35].

**Адъюванты используют** для усиления иммунного ответа в здоровом организме, для вакцинации и в лабораторной практике для иммунизации животных. Наиболее важным достоинством любого адъюванта является то, что при совместном с ним введении антигена создается более напряженный и продолжительный иммунитет, снижается токсичность вакцины и создается, так называемое, депо антигенов в организме вакцинированного [111 - 114]. Поиск и внедрение новых высокоэффективных адъювантов позволил сократить число ревакцинаций, снизить антигенную нагрузку на организм, зна-

чительно упростить и удешевить сам процесс вакцинации [115 — 119].

#### Адьюванты в современном мире

Несмотря на большой ассортимент адьювантов в экспериментальной иммунологии использование неспецифических стимуляторов иммуногенеза в практике промышленного производства ограничено [136]. Можно сказать, что на протяжении нескольких десятилетий "монополистом" среди адьювантов были соли алюминия. Это единственный адьювант, который использовался в составах лицензированных вакцин для человека до 1990-х годов и считался безопасным. На сегодняшний день ряд детских вакцин содержат гидрат окиси алюминия: против гепатита А, гепатита В, дифтерии, столбняка и коклюша (АКДС), гемофильной инфекции типа В (Hib), вируса папилломы человека, пневмококковой инфекции. Гидрат окиси алюминия часто используется в производстве тривакцины против гриппа.

В настоящее время несколько других адьювантов уже входят в состав лицензированных вакцин, а некоторые вероятно появятся в последующие

годы. Следует отметить эмульсии на масляной основе (MF 59 и Montanide ISA 720), иммуностимуляторы (монофосфатный липид А, CpG олигонуклеотиды), сапонины (QS-21) и мукозные адьюванты, основанные на бактериальных экзотоксинах, которые были разработаны для интраназального и перорального применения. Активно ведутся разработки новых вакцин против ВИЧ/СПИДа, туберкулеза, малярии, лейшманиоза и других заболеваний [120].

Масляные адьюванты с успехом используют в ветеринарии для усиления иммуногенности вирусных вакцин против ящура, парагриппа-3, болезни Ауески, чумы плотоядных, инфекционного гепатита собак, болезни Гамборо, ньюкаслской болезни, гриппа лошадей, ротавирусной диареи телят и других болезней.

Поиск и внедрение новых высокоэффективных адьювантов позволил сократить число ревакцинаций, снизить антигенную нагрузку на организм, значительно упростить и удешевить сам процесс вакцинации [136]. В таблице представлены некоторые адьювантные препараты, применяемые для вакцинации людей.

**Таблица - Некоторые адьювантные вакцины, лицензированные для применения у человека**

Адьювант *	Описание	Вакцина
Соединения алюминия	гидроксид или фосфат алюминия	против дифтерии, коклюша, столбняка, гепатитов А и В (HBV, HAV) (6/11/16/18), полиомиелита, гриппа, гемофильной палочки, пневмококка и др.
MF-59	микроэмульсия «масло в воде», включая сквален и поверхностно-активные вещества Твин 80 и Span 85	против гриппа H1N1, H5N1 и др.
Виросомы	иммунопотенцирующие ресуспендированные виросомы гриппа (IRIV) — поверхностные гликопротеины гриппа H1N1, помещенные в натуральные и синтетические фосфолипиды	против гепатита А, гриппа
Экзотоксины	бактериальные АДФ-рибозилированные экзотоксины (bAREs)	интраназальная виросомная гриппозная вакцина (bARE)
AS03		против гриппа H1N1, H5N1
липополисахарид	липополисахарид	против <i>Brucella ovis</i>
Montanide™ ISA51		против рака
AS04	соединение алюминия и монофосфориллипида А (очищенной, детоксицированной производной бактериальных липополисахаридов)	против гепатита В (16/18) для пациентов на гемодиализе и ВПЧ-вакцина (против вируса папилломы человека)
Синтетические MPL (RC-529)	монофосфориллипид А	против гепатита В
MPL (монофосфориллипид)	белок и S-липополисахарид из вирулентного штамма <i>Brucella abortus</i> 2308	вакцина "Subunit"
CpG DNA	рекомбинант <i>O. anthropi</i> 49237SOD	рекомбинантная векторная вакцина

\* По работам [3, 26, 35, 36].

**Недостатками адьювантов** на основе гидрата окиси алюминия является относительно крат-

современное образование антител: титры понижаются через 3—4 нед. после введения антигена. Частично этот недостаток устраняется путем повторной вакцинации.

Большинство антигенов быстро десорбируется из солей алюминия. Кроме того, нерастворимые соли алюминия активируют врожденные иммунные клетки. Предполагают, что они могут привести к образованию мочевой кислоты в клетках [27].

Соли алюминия представляют собой органические соединения тяжелых металлов (алюминия). На сегодняшний день доподлинно известно негативное влияние данного металла на нейроны головного мозга и возможность развития некоторых заболеваний у взрослых и детей [4, 121 - 123]. Предполагают, что алюминий в организме человека может вызывать болезнь Альцгеймера, синдром хронической усталости [4, 124]. Это связано с обнаружением взаимосвязи между вакцинацией и статистической вероятностью увеличения данных заболеваний среди населения. Научно обосновать данное предположение практически невозможно, т.к. негативный эффект от употребления малых доз тяжелых металлов проявляется через довольно длительное время.

Исследования пациентов с миопатическими симптомами начались с 2002 г. во Франции. Биопсия дельтовидных мышц показала наличие микроскопических воспалительных очагов макрофагов и микроскопических мышечных некрозов в них (макрофагальный миофасцит (ММФ)). В местах поражения были обнаружены соли алюминия. Поскольку поражение совпадало с обычным местом введения инъекций, причиной посчитали введение вакцин, содержащих алюминиевые адъюванты.

Глобальный консультативный комитет по безопасности вакцин (ГККБВ) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) проанализировал полученную информацию и пришел к заключению, что нет доказательств того, что вакцинация приводит к развитию заболевания с выраженными клиническими симптомами [126]. Однако, были проведены дополнительные исследования на обезьянах и крысах для изучения долгосрочного присутствия алюминия и гистопатологических изменений на месте инъекций, а также макрофагальной функции пациентов с ММФ в сравнении с таковой у контрольной здоровой группы. Первоначальные результаты подтвердили предположение, что ММФ возможно является простым маркером вакцинации с долгосрочным присутствием алюминия на месте инъекции и местной воспалительной реакцией без других симптомов и последствий [126]. Позднее у пациентов с ММФ была отмечена утомляемость в начале заболевания, которая приводила к связанным с ней функциональным ограничениям и к мышечной биопсии. Вопреки предыдущим сообщениям, случаи миалгии и артралгии у пациентов с ММФ регистрировались не часто и других симптомов, специфичных для пациентов с ММФ, выявлено не было. Независимые рекомендации, представленные французскому Министерству здравоохранения в отношении результатов последних исследований подтвердили

мнение ГККБВ и, более того, не рекомендовали проведение на данном этапе дополнительных эпидемиологических исследований. Вероятный подъем числа случаев макрофагального миофасцита, выявленных во Франции, может быть связан с изменением методики проведения прививок: от подкожного введения к внутримышечному, а также с широким применением вакцины против гепатита В среди взрослого населения [126].

Неоднократно в литературных данных отмечались побочные эффекты масляных адъювантов, даже модифицированных эмульсий - водно-масляно-водной: способность вызывать аутоиммунные осложнения, образование кист и свищевых абсцессов (обусловленных высвобождением олеиновой кислоты) [126 -128]. К тому же, слишком крупные и плотные эмульсии приводят к перераздражению иммунной системы, а слишком жидкие – обладают очень слабым адъювантным действием.

Отрицательными характеристиками, общими для полного адъюванта Фрейнда, БЦЖ, анаэробных коринебактерий, является угнетение клеточного иммунитета [137]. Часто отмечается временная иммунодепрессия на антиген. Иногда, иммуностимуляция может вызывать реакции гиперчувствительности, направленные против тканей собственного организма, с развитием амилоидоза, гломерулонефрита и аллергического энцефаломиелита [137]. Также установлено, что иммунологическая способность адекватно ответить на введение в организм антигена не связана с особенностями самого антигена или отдельной линии животных, а контролируется генетически (Iг-генами главного комплекса гистосовместимости) у каждой особи индивидуально [128].

К недостаткам также нужно отнести отсутствие строгого единого контроля безопасности адъювантов. Стимуляторы должны быть свободными от балластных веществ, не иметь в своем составе антигенов похожих на антигены хозяина, не обладать онкогенными, аллергенными и токсическими свойствами, легко метаболизироваться в организме. Однако, специфических требований безопасности адъювантов не существует: проводятся острые и хронические тесты на опытных животных, но этого недостаточно [130 - 132]. При рассмотрении схемы исследований на предмет безопасности адъювантов внимание было привлечено к ограниченному количеству животных при исследовании безопасности адъювантов [130, 132 – 133]. ВОЗ считает это проблемой, которой до настоящего времени не уделялось достаточно внимания и которая приобретает все большее значение в связи с последними достижениями в разработке и производстве вакцин [130].

Глобальный консультативный комитет по безопасности вакцин занимается созданием системы надзора за безопасностью адъювантов новых вакцин, после их регистрации, а также тех вакцин, которые уже имеются в настоящее время [132 - 133].

Еще одной проблемой является невысокая активность получаемых препаратов, трудоёмкость процесса их изготовления, высокая стоимость, низкий выход целевого продукта и т.д. [133, 137].

Таким образом актуальным остается улучшение существующих и создание новых профилактических препаратов. Повышение эффективности вакцин часто добиваются благодаря использованию неспецифических стимуляторов. Это значит, несмотря на существующие достижения, разработки перспективных адьювантов продолжаются.

## References

1. Imani Fooladi A. A. Synergistic effects between Staphylococcal enterotoxin type B and Monophosphoryl lipid A against mouse fibrosarcoma [Text] / A. A. Imani Fooladi, M. Sattari, M. Reza Nourani // J BUON. – 2010. - Vol. 15, № 2. – P. 340-347.
2. Aguilar J. C. Vaccine adjuvants revisited [Text] / J. C. Aguilar, E. G. Rodriguez // Vaccine. – 2007. - № 25. - P. 3752–3762.
3. The specific immunoprophylaxis and immunotherapy of infectious diseases: ucheb. method . grant [Text] / T. A. Kanashkova [ et al.] - Minsk : BSMU, 2009 . - 84.
4. Tomlenovich Lucia Mechanisms of aluminum adjuvant toxicity and autoimmunity in pediatric populations [Electronic resources] / Tomlenovich Lucia , Christopher A. Shaw // Lupus. - 2012 , № 21. - P. 223-230.
5. Allison A. C. Immunological adjuvants: desirable properties and side-effects [Text] / A. C. Allison, N. E. Byars // Mol. Immunol. – 1991. - № 28. – P. 279–284.
6. Ralph Niven Prospects and challenges: inhalation delivery systems [Text] / Ralph Niven // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 5. - P. 519-522.
7. Chehun V. Cancer vaccines [Text] / V. Chekhun // Oncology. – 2009. – T. 10, № 2. – P. 204 – 205.
8. Sally A. Peyman Research Spotlight: Microbubbles for therapeutic delivery [Text] / Sally A. Peyman, Radwa H. Abou-Saleh, Stephen D. Evans // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 5. – P. 539-542.
9. Christine Dufès Transferrin and the transferrin receptor for the targeted delivery of therapeutic agents to the brain and cancer cells [Text] / Christine Dufès, Majed Al Robaian, Sukrut Somani // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 5. – P. 629-640.
10. James Potticary Industry Update: The latest developments in therapeutic delivery [Text] / James Potticary // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 3. – P. 293-296.
11. Jarel K. Gandhi Alginate-based strategies for therapeutic vascularization [Text] / Jarel K. Gandhi, Emmanuel C. Opara, Eric M. Brey // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 3. – P. 327-341.
12. Vogel F. R. Adjuvants in perspective [Text] / F. R. Vogel // Dev. Biol. Stand. — 1998. — Vol. 92. — P. 241-248.
13. Modern vaccine adjuvants [Text] / Kwak L. W. [et al.] // Canc. Chemother. Biother. — 1996. — P. 749–763.
14. Ramon G. Sur la toxine et surranatoxine diphtheriques [Text] / G. Ramon // Ann. Inst. Pasteur. — 1924. — Vol. 38. — P. 1-7.
15. Singh M. Recent advances in vaccine adjuvants [Text] / M. Singh // Pharm. Res. — 2002. — Vol. 19. — P. 715-728.
16. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium-alum [Text] / A. T. Glennly [et al.] // J. Path. Bact. — 1926. — Vol. 29. — P. 38-45.
17. A summary compendium of vaccine adjuvants and excipients [Text] / F. R. Vogel [et al.] // Vaccine design: the subunit and adjuvant approach. — 1995, N. 5. — P. 234-250.
18. Vogel F. R. Adjuvants in Perspective. Modulation of the Immune Response to Vaccine Antigens [Text] / F. R. Vogel // Dev. Biol. Stand. – 1998. - Vol. 92. – P. 241–248.
19. Byars N. E. Immunologic adjuvants: general properties, advantages, and limitations [Text] / N. E. Byars, A. C. Allison // Laboratory Methods in Immunology. – 1990. – P. 39–51.
20. Jennings R. Adjuvants and Delivery Systems for Viral Vaccines-Mechanisms and Potential [Text] / R. Jennings, J. R. Simms, A. W. Heath // Dev. Biol. Stand. – 1998. - Vol. 92. – P. 19–28.
21. Pat. 2432173 Russian Federation, MPK A61K39/095. Vaccines containing aluminum adjuvants and histidine / Contorno M., M. Maffei : the applicant and patentee Chiron SRL. - № 2007139924/15 ; appl. 29.10.2007, publ. 10.05.2009.
22. Derek T O’Hagan MF59 is a safe and potent vaccine adjuvant that enhances protection against influenza virus infection [Text] / Derek T O’Hagan // Expert Review of Vaccines,. – 2007. - Vol. 6, No. 5. – P. 699 - 710.
23. Kathy D. Antibodies. Methods: [book 1] [Text] / Kathy D. - M.: Mir, 1991. – 287 c.
24. Medunitsyn N. V. Basics of immunization and immunotherapy of infectious diseases [Text] : [textbook tutorial] / N. V. Medunitsyn, V. I. Pokrovsky. - M: GEOTAR-Media, 2005. — 512 p.
25. The vaccine adjuvant alum inhibits IL-12 by promoting PI3 kinase signaling while chitosan does not inhibit IL-12 and enhances Th1 and Th17 responses [Text] / Andres Mori, Ewa Oleszycka, Fiona A. Sharp [et al.] // European Journal of Immunology. – 2012. - Vol. 42, № 10. – P. 2709 - 2719.
26. Nathalie Garçon Vaccine adjuvants [Text] / Nathalie Garçon, Geert Leroux-Roels, Wen-Fang Cheng // Perspectives in Vaccinology. – 2011. – Vol. 1, № 1. – P. 89 – 113.
27. The study of adjuvant properties of gamma-interferon in the hybrid protein IFN-AFP [Text] / S. I. Tat’kov, V. N. Bondarenko [et al.] // Immunology. - 1999. - N 5. - P. 30 – 33.
28. The Global Initiative for Vaccine Safety. Global Advisory Committee on Vaccine Safety held on 6-7 June 2006 [Electronic resource] // World Health Organization (WHO). – 6–7.06.2006. – Access mode: [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/reports/Jun\\_2006/ru/index.html](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/reports/Jun_2006/ru/index.html)
29. Detection of antibodies to squalene III. Naturally occurring antibodies to squalene in humans and mice [Text] / G. Matyas, M. Rao, P. Pittman [et al.] // JIM. – 2004. – P. 286. –P. 47-67.

30. Squalene -based adjuvants in vaccines / Global Initiative for Vaccine Safety [Electronic resource] // World Health Organization (WHO). - 14.07.2006. - Access mode: [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/topics/adjuvants/squalene/ru/](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/topics/adjuvants/squalene/ru/)
31. Five decades of sci-fi in drug delivery [Text] / Viness Pillay, Pradeep Kumar, Lisa C du Toit [et al.] // Therapeutic Delivery. - 2013. - Vol. 4, No. 3. - P. 285-287.
32. Immunostimulant activities of a lipophilic muramyl dipeptide derivative and of a desmuramyl peptidolipid analogue [Text] / M. A. Parant, F. M. Audibert, L. A. Chedid [et al.] // Infect. Immun. - 1980. - Vol. 27. - P. 826 - 30.
33. Influence of Th 1 / Th 2 - polarizing agents - dehydroepiandrosterone sulfate and muramyl dipeptide - on metabolic state of macrophages [Text] / V. O. Tkachev, N. Volski, O. T. Kudaeva [et al.] // Russijskij Immunol. zhurnal - 2009. - V. 3 (12), № 2. - P. 158 - 163.
34. Pavlovich N. N. Immunomoduliruyuschie and antitoxic properties of LPS preparations of the genus Francisella [Text] / N. N. Pavlovich, N. V. Maslova // Journal of the microb., epidem. and immunobiology. - 1999. - № 4. - P. 50 - 56.
35. Adjuvants are an important component of vaccines [Electronic resource] // Biopreparaty. - 2010. - № 4. - P. 40. - Access mode: [http://www.biopreparaty-magazine.ru/review/40\\_01/](http://www.biopreparaty-magazine.ru/review/40_01/)
36. Vaxjo: A Web-Based Vaccine Adjuvant Database and Its Application for Analysis of Vaccine Adjuvants and Their Uses in Vaccine Development [Text] / Samantha Sayers, Guerlain Ulysse, Zuoshuang Xiang [et al.] // Journal of Biomedicine and Biotechnology. - 2012. - Vol 10, Article ID 831486. - P. 13.
37. Immunogenicity and safety of an adjuvanted hepatitis B vaccine in pre-hemodialysis and hemodialysis patients [Text] / N. K. C. Tong [et al.] // Kidney Int. - 2005. - Vol. 6. - P. 2298-2303.
38. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only [Text] / S. L. Giannini [et al.] // Vaccine. - 2006. - Vol. 24. - P. 5937 - 5949.
39. Rogovskaya S. I. Vaksiny against human papillomavirus : new possibilities of prevention of cervical cancer (To help the practitioner ) [Electronic resource] / S. I. Rogovskaya // Gynaecology. - 2007. - V. 9, № 1. - Access mode: <http://www.consilium-medicum.com/article/7854>
40. Pat. 2127118 RU, MPK A61K39/00, A61K9/50. Sposob delivery of a bioactive agent to an animal for the initiation of an immune response (options) / R. T. Thomas, Richard M. D., John K. E., Jay K. S. : applicant and patentee Southern Riessersee Institute, Tze Yu-AB Research Foundation. - № 4831769/13; appl. 16. 03. 1989, publ. 10.03.1999.
41. Selective Induction of an Immune Response in Human External Secretions by Ingestion of Bacterial Autigen [Text] / J. Mestecky, J. R. Me Ghee, R. R. Arnold [et al.] // J. Clin. Invest. - 1978. , Vol. 731, № 61.
42. Ed C. Lavelle Delivery systems and adjuvants for oral vaccines [Text] / Ed C Lavelle, D. T. O'Hagan // Expert Opinion on Drug Delivery. - 2006. - Vol. 3, No. 6. - P. 747-762.
43. Pat. 2257198 RU, MPK A61K9/16. Kompozitsii microparticles and methods for their preparation / Fang D. H., Singh M., O'Heygan D., Hoare M. : applicant and patentee Chiron Corporation. - № 2003112239/15 ; appl. 28.09.2001, publ. 27.07.2005
44. Nathalie Garçon GlaxoSmithKline Adjuvant Systems in vaccines: concepts, achievements and perspectives [Text] / Nathalie Garçon, Patrick Chomez, Marcelle Van Mechelen // Expert Review of Vaccines. - 2007. - Vol. 6, No. 5. - P. 723-739.
45. Towards tailored vaccine delivery: Needs, challenges and perspectives [Text] / Jean-Pierre Amorij, Gideon F.A. Kersten, Vinay Saluja [et al.] // Journal of Controlled Release. - 2012. - Vol. 161, № 2. - P. 363 - 376.
46. Oliver C Steinbach Industry Update: The latest developments in therapeutic delivery [Text] / Oliver C Steinbach // Therapeutic Delivery. - 2013. - Vol. 4, No. 5. - P. 531-535.
47. Strategies for enhanced peptide and protein delivery [Text] / Maeliosa TC McCrudden, Thakur Raghu Raj Singh, Katarzyna Migalska [et al.] // Therapeutic Delivery. - 2013. - Vol. 4, No. 5. - P. 593 - 614.
48. Vladimir P. Torchilin Interview with Vladimir P Torchilin: liposomal carriers for drug delivery [Text] / Vladimir P. Torchilin // Therapeutic Delivery. - 2013. - Vol. 4, No. 5. - P. 537 - 538.
49. Ralph Niven Prospects and challenges: inhalation delivery systems [Text] / Ralph Niven // Therapeutic Delivery. - 2013. - Vol. 4, No. 5. - P. 519 - 522.
50. Luís Vasconcelos Therapeutic potential of cell-penetrating peptides [Text] / Luís Vasconcelos, Kalle Pärn, Ülo Langel // Therapeutic Delivery. - 2013. - Vol. 4, No. 5. - P. 573 - 591.
51. Camilla Foged Subunit vaccines of the future: the need for safe, customized and optimized particulate delivery systems [Text] / Camilla Foged // Therapeutic Delivery. - 2011. - Vol. 2, No. 8. - P. 1057-1077.
52. Regina Scherließ Delivery of antigens used for vaccination: recent advances and challenges [Text] / Regina Scherließ // Therapeutic Delivery. - 2011. - Vol. 2, No. 10. - P. 1351-1368.
53. Safety and Immunogenicity of Human Papillomavirus-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine: A Randomized Trial in 10-25-Year-Old HIV-Seronegative African Girls and Young Women [Text] / P. S. Sow, D. Watson-Jones, N. Kiviat [et al.] // Journal of Infectious Diseases. - 2013. - Vol. 207, № 11. - P. 1753-1763.
54. Swapan K Ghosh Synthetic adjuvants for vaccine formulations: phytol derivatives [Text] / Swapan K Ghosh, Roshni Roy Chowdhury // Expert Opinion on Drug Delivery. - 2013. - Vol. 10, № 4. - P. 437-450.

55. Mucosal immunity and tolerance: relevance to vaccine development [Text] / C. Czerkinsky, F. Anjuere, J. McGhee [et al.] // Immunol Rev. – 1999. – Vol. 170. – P. 197–222.
56. Kotlyarov R. Y. Virus-like nano-sized particles - carriers antigenovvirusov influenza and rubella : author. dis. uch. stepenikand. biol. comp. science : special. 03.01.03 - molecular biology / R. Y. Kotlyarov. - M., 2010. – 26 p.
57. Gavrilova L. A. Nanoparticles hydrophobic natural compounds as adjuvants : author. dis. stepenikand . chemical science / L. Gavrilova . - M., 2011 . – 22 p.
58. Intelligent drug-delivery devices based on micro- and nano-technologies [Text] / A. H. Chi, K. Clayton, T. J. Burrow [et al.] // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 1. – P. 77 – 94.
59. Inspired by nature: fundamentals in nanotechnology design to overcome biological barriers [Text] / Milagros Avila-Olias, Carla Pegoraro, Giuseppe Battaglia [et al.] // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 1. – P. 27 - 43.
60. Sebastian K. Grimm Vaccine design: emerging concepts and renewed optimism [Electronic resource] / Sebastian K. Grimm; Margaret E Ackerman // Current Opinion in Biotechnology. - Access mode : <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2013.02.015>.
61. Fully mobilizing host defense: building better vaccines [Text] / S. Raychaudhuri, K. L. Rock // Nat Biotech. – 1998. - Vol. 16. – P. 1025–1031.
62. Pharmacotherapy by intracellular delivery of drugs using fusogenic liposomes: application to vaccine development [Text] / J. Kunisawa, S. Nakagawa, T. Mayumi // Adv Drug Deliv Rev. – 2001. - Vol. 52. – P. 177–186.
63. Derek T. O'Hagan Adjuvants: From Serendipity to [Text] / Derek T. O'Hagan, Andreas Wack // Rational Discovery. – 2012. –P. 348-360.
64. Towards tailored vaccine delivery: Needs, challenges and perspectives [Text] /Jean-Pierre Amorig, Gideon F.A. Kersten, Vinay Saluja [et al.] // Journal of Controlled Release. – 2012. - Vol. 161, № 2. – P. 363-376.
65. Regina Scherlie  $\beta$  Delivery of antigens used for vaccination: recent advances and challenges [Text] / Regina Scherlie // Therapeutic Delivery. – 2012. - Vol. 2, № 10. – P. 1351-1368.
66. Foged Camilla Subunit vaccines of the future: the need for safe, customized and optimized particulate delivery systems [Text] / Camilla Foged // Therapeutic Delivery. – 2011. - Vol. 2, № 8. – P. 1057-1077.
67. Possible approaches to the design of complex liposomal drug delivery systems [Text] / Bezrukov D. A., Balandin T. G. [et al.] // Bulletin of MITHT. - 2006 . – Vol. 1, № 1. - P. 14-18.
68. Nanotechnology medicine and biotechnology [Text] / Kaplun A.P., Symon A.V. [et al.] // Nanotechnics. - 2004. - № 1. P. - 40-41.
69. Shvets V. I. From liposomes semidesyatyh k nanobiotechnology XXI century [Text] / V. I. Shvets, A. P. Kaplun // Russian nanotechnology. - 2008. – Vol. 3, № 11-12.
70. Moingeon P. Towards the rational design of Th1 adjuvants [Text] / P. Moingeon, J. Haensler, A. Lindberg // Vaccine. – 2001. - № 19. – P. 4363–4372.
71. Liposomes containing glucosyl ceramide specifically bind T4 bacteriophage: a self-assembling nanocarrier formulation [Text] / Carl R. Alving, Mangala Rao, Kristina K. Peachman [et al.] // Journal of Liposome Research. – 2011. - Vol. 14-Mar. – P. 1-7.
72. Incorporation of the TLR4 Agonist Monophosphoryl Lipid A Into the Bilayer of DDA/TDB Liposomes: Physico-Chemical Characterization and Induction of CD8+ T-Cell Responses In Vivo [Text] / Pernille Nordly, Else Marie Agger, Peter Andersen [et al.] // Pharmaceutical Research. – 2011. – Vol. 28, № 3. – P. 553-562.
73. Combination adjuvants: the next generation of adjuvants? [Text] / George Mutwiri, Volker Gerdt, Sylvia van Drunen Littel-van den Hurk [et al.] // Expert Review of Vaccines. – 2011. – Vol. 10, № 1. – P. 95 – 107.
74. Development of an AS04-adjuvanted HPV vaccine with the adjuvant system approach [Text] / N. Garçon [et al.] // BioDrugs. – 2011. - Vol. 1;25, № 4. – P. 217-226.
75. Ali M Harandi Vaccine adjuvants: scientific challenges and strategic initiatives [Text] / Ali M Harandi, Gwyn Davies, Ole F Olesen // Expert Review of Vaccines. – 2009. - Vol. 8, № 3. – P. 293 – 298.
76. Recombinant viruses as a tool for therapeutic vaccination against human cancers [Text] / M. C. Bonnet, J. Tartaglia, F. Verdier [et al.] // Immunol Lett. - 2000. - Vol. 74. – P. 11–25.
77. Raychaudhuri S Fully mobilizing host defense: building better vaccines [Text] / S. Raychaudhuri, K. L. Rock // Nat Biotech. - 1998. - Vol. 16. – P. 1025–1031.
78. Mucosal immunity and tolerance: relevance to vaccine development [Text] / C. Czerkinsky, F. Anjuere, J. McGhee [et al.] // Immunol Rev. - 1999. - Vol. 170. – P. 197–222.
79. Mohammad Hossein Somi Improving Hepatitis B Vaccine Efficacy in End-Stage Renal Diseases Patients and Role of Adjuvants [Text] / Mohammad Hossein Somi, Babak Hajipour // ISRN Gastroenterology. - August 2012. – Vol. 10. – P. 5402 – 5411.
80. Lali K Medina-Kauwe Development of adenovirus capsid proteins for targeted therapeutic delivery [Text] / Lali K Medina-Kauwe // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 2. – P. 267 – 277.
81. Hepatitis B core-based virus-like particles to present heterologous epitopes [Text] / Kenny Roose, Sarah De Baets, Bert Schepens [et al.] // Expert Review of Vaccines. – 2013. - Vol. 12, № 2. - P. 183-198.
82. Prasolov V. S. Retroviral vectors in gene therapy [Text] / V. S. Prasolov, D. S. Ivanov // Issues med. him. - 2000. - № 3.
83. ‘Smart’ non-viral delivery systems for targeted delivery of RNAi to the lungs [Text] / Joanne M Ramsey, Alan Hibbitts, James Barlow [et al.] // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 1. – P. 59 - 76.

84. Florian Schlenk Recent developments and perspectives on gene therapy using synthetic vectors [Text] / Florian Schlenk, Stefan Grund, Dagmar Fischer // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 1. – P. 95 – 113.
85. Supotnitsky M. V. Gene therapy vector systems based on virus [Text] / M. V. Supotnitsky // Biopreparaty. - 2011. - № 3. – C. 43.
86. Toxicology, biodistribution and shedding profile of a recombinant measles vaccine vector expressing HIV-1 antigens, in cynomolgus macaques [Text] / Clarisse Lorin, Lawrence Segal, Johann Mols [et al.] // Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. – 2012. - Vol. 385, № 12. - P. 1211-1225.
87. Human dendritic cells are activated by chimeric human papillomavirus type 16 virus-like particles and induce epitope-specific human T cell responses in vitro [Text] / M. Rudolf, S. Fausch, Da Silva D. [et al.] // J Immunol. – 2001. - Vol. 166. – P. 5917–5924.
88. Recombinant parvovirus-like particles as an antigen carrier: a novel nonreplicative exogenous antigen to elicit protective antiviral cytotoxic T cells [Text] / C. Sedlik, M. Saron, J. Sarraseca [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. - 1997. - Vol. 94. – P. 7503–7508.
89. Determination of the complete nucleotide posledovatelnostigenoma new strain of potato virus X and creation on its osnovevirusnogo vector for the production of target proteins in plants [Text] / N. V.Ravin , E. S. Mardanova [et al.] // Biochemistry. – 2008. - Vol. 73. – P. 54 – 61.
90. Increasing effektivnosti produktsii recombinant proteins in plants is due optimizatsii translyatsii RNK virus-vector [Text] / E. S.Mardanova, R. Yu. Kotlyarov [et al.] // Molecular biology. - 2009 - Vol. 43, № 3, - P. 568-571.
91. Pat. 2477753 RU, MPK C12N15/11 A61K31/7088 A61P43/00 C12N15/117. The immunostimulatory oligonucleotides / Davis J. L., Veeratna R. D. : applicant and patentee Coley Pharmaceutical Group, Inc. - № 2011122418/10 ; appl. 01.12.2009, publ. 11.07.2011.
92. Gram-positive and Gram-negative bacteria as carrier systems for DNA vaccines [Text] / G. Dietrich, A. Kolb-Maurer, S. Spreng [et al.] // Vaccine. – 2001. - Vol. 19. – P. 2506 – 2512.
93. Coordinated events during bacteria-induced DC maturation [Text] / M. Rescigno, F. Granucci, S. Citterio [et al.] // Immunol Today. – 1999. - Vol. 20. – P. 200–203.
94. Cancer vaccine design: a novel bacterial adjuvant for peptide-specific CTL induction [Text] / I. Miconnet, I. Coste, F. Beerman [et al.] // J Immunol. - 2001. - Vol. 166. – P. 4612–4619.
95. Kenneth B Sloan A surrogate for topical delivery in human skin: silicone membranes [Text] / Kenneth B Sloan; Jennifer Synovec, Hemamalini Ketha // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 2. – P. 203 - 224].
96. Marta González-Alvarez Hydrogels: an interesting strategy for smart drug delivery [Text] / Marta González-Alvarez, Isabel González-Alvarez, Marival Bermejo // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 2. – P. 157 - 160.
97. Noninvasive insulin delivery: the great potential of cell-penetrating peptides [Text] / Noriyasu Kamei, Ebbe Juel Bech Nielsen, El-Sayed Khafagy [et al.] // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 3. – P. 315 – 326.
98. Ultradeformable liposomes with terpenes for delivery of hydrophilic compound [Text] / Thirapit Subongkot [et al.] // Journal of Liposome Research. - 2012. - Vol. 22, No. 3. – P. 254–262.
99. Induction of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in humans by a malaria DNA vaccine [Text] / Wang R, Doolan D, Le Thong P [et al.] // Science. – 1998. - Vol. 282. – P. 476–480.
100. Phase I safety and immune response studies of a DNA vaccine encoding hepatitis B surface antigen delivered by a gene delivery device [Text] / C. Tacket, M. Roy, G. Widera [et al.] // Vaccine. - 1999. - Vol. 17. – P. 2826–2829.
101. Arntzen C. High-tech herbal medicine: plant-based vaccines [Text] / C. Arntzen // Nat Biotech. - 1997. - Vol. 15. – P. 221–222.
102. Koprowski H. The green revolution: plants as heterologous expression vectors [Text] / H. Koprowski, V. Yusibov // Vaccine. - 2001. - Vol. 19. – P. 2735–2741.
103. Vaccine manufacturing: challenges and solutions [Text] / B. U. Jeffrey, V. Ulrich [et al.] // Nature Biotechnology. – 2006. - № 8. – P. 1038 – 1045.
104. Drug carriers for oral delivery of peptides and proteins: accomplishments and future perspectives [Text] / Catarina Pinto Reis, Catarina Silva, Nuno Martinho [et al.] // Therapeutic Delivery. – 2013. - Vol. 4, No. 2. – P. 251 - 265.
105. Burdin N. Cancer vaccines based on dendritic cells loaded with tumor-associated antigens [Text] / N. Burdin, P. Moingeon // Cell Biol Toxicol. - 2001. - Vol. 17. – P. 67–75.
106. Natural products and the search for novel vaccine adjuvants [Text] / Jose Rey-LadinoAllan W. Cripps Allen G. Rossa [et al.] // Vaccine. – 2011. – Vol. 29, № 38. – P. 6464 – 6471
107. Modulation of Dendritic Cells by Lipid Grafted Polyelectrolyte Microcapsules [Text] / Marie-Luce De Temmerman, Joanna Rejman, Bart Lucas [et al.] // Advanced Functional Materialsn. – 2012. - 14-Jun.
108. Zverev V. V. Medicinskaja mikrobiologija, virusologija i immunologija: volume 1 : textbook / V. V. Zverev , M. N. Boitchenko . – M. : GEOTAR-Media. – 2010. Зверев В. В.
109. Petrovsky N. Vaccine adjuvants: current state and future trends [Text] / N. Petrovsky, J. C. Aguilar // Immunology and Cell Biology. -2004. vol. 82, № 5. – P. 488–496.
110. Development of a novel mucosal vaccine against strangles by supercritical enhanced atomization spray-drying of Streptococcus equi extracts and evaluation in a mouse model [Text] / M. Murillo, C. Gamazo, M. Goñi [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2002. - Vol. 242, № 1-2.- P. 341-344.

111. Effect of diphtheria–tetanus–pertussis (DTP) vaccination on child survival [Electronic resource] / Global Vaccine Safety // Extract from report of GACVS meeting of 10-11 June 2004, published in the WHO Weekly Epidemiological Record on 16 July 2004. – Access mode : [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/reports/june\\_2004/en/index.html](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/reports/june_2004/en/index.html)
112. David M Webster Corrigendum to Injectable nanomaterials for drug delivery: Carriers, targeting moieties, and therapeutics [Text] / David M Webster, Padma Sundaram, Mark E Byrne // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2013. - Vol. 84, № 1. – P. 1 - 20.
113. Kozhevnikova T. N. Using Fosprenil as an adjuvant for vaccines and stimulant production of specific antibodies in the production of hyperimmune sera [Electronic resource] / T. N. Kozhevnikov, M. F. Vorovich, V. G. Kozlov – Access mode : <http://vetanimals.ru/flash/vet/satc17.htm>.
114. Nikolaeva T. N. Immunoprotektivnye properties modulators of bacterial origin [Electronic resource] / T. N. Nikolaeva, V. V. Zorina. – Access mode : <http://vetanimals.ru/flash/vet/satc14.htm>.
115. Bicellar systems as vehicle for the treatment of impaired skin [Electronic resource] / L. Rubio, C. Alonso, G. Rodríguez [et al.] // European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V. – 2013. - Access mode : <http://www.researchgate.net/publication/237093367>.
116. Natural and synthetic saponin adjuvant QS-21 for vaccines against cancer [Text] / Govind Ragupathi, Jeffrey R Gardner, Philip O Livingston [et al.] // Expert Review of Vaccines. – 2011. - Vol. 10, № 4. – P. 463 – 470.
117. Liposomal vaccine delivery systems [Text] / Malou Henriksen-Lacey, Karen Smith Korsholm, Peter Andersen [et al.] // Expert Opinion on Drug Delivery. – 2011. - 8:4, 505-519.
118. Antu K Dey Novel adjuvants and delivery systems for enhancing immune responses induced by immunogens [Text] / Antu K Dey, Indresh K. Srivastava // Expert Review of Vaccines. – 2011. - Vol. 10, № 2. – P. 227-251.
119. Highly effective generic adjuvant systems for orphan or poverty-related vaccines [Text] / Mangala Rao, Kristina K. Peachman, Qin Li [et al.] // Vaccine. – 2011. - Vol. 29, № 5. – P. 873-877.
120. Four-Year Follow-up of the Immunogenicity and Safety of the HPV-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine When Administered to Adolescent Girls Aged 10–14 Years [Text] / Tino F. Schwarz, Li-Min Huang, Doris Maribel Rivera Medina [et al.] // Journal of Adolescent Health. – 2012. – Vol. 50, № 2. – P. 187 – 194.
121. Published in the WHO Weekly Epidemiological Record on 16 July 2004. [Electronic resource]. – Access mode : [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/topics/adjuvants/June\\_2004/ru/](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/topics/adjuvants/June_2004/ru/)
122. Fawcett H. A. Injection-site granuloma due to aluminum [Text] / H. A. Fawcett, N. P. Smith // Arch Dermatol. – 1984. - Vol. 120. - P.1318 - 1322
123. IRX-2 increases the T cell-specific immune response to protein/peptide vaccines [Text] / P. H. Naylor [et al.] // Vaccine. – 2010. – Vol. 28, № 43. – P. 7054-7062.
124. Kols Elena Vaccination against flu and new adjuvants: beware [Electronic resource] / Elena Kols Helen // Access mode : <http://paininfo.ru/influenza/more/2840.html>
125. Fred Zepp Principles of vaccine design—Lessons from nature [Text] / Fred Zepp // Vaccine. – 2010. – Vol. 28, № 3. – P. C 14 – C 24.
126. Questions and answers regarding MMF and results of recent issledovaniy May 2004 [Electronic resource] / Global Advisory Committee on Vaccine Safety. World Health Organization (WHO). - Access mode : [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/topics/aluminium/questions/ru/](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/topics/aluminium/questions/ru/)
127. Factors affecting the pharmacokinetics and pharmacodynamics of liposomal drugs [Text] / Gina Song [et al.] // Journal of Liposome Research. – 2012. - Vol. 22, № 3. – P. 177–192.
128. Meshkova R. Y. Guide to Immunization for doctors [Electronic resource] / R. Y. Meshkova. — Access mode : <http://www.antibiotic.ru/books/immun/imm16.shtml>
129. Behalo V. A. Innovative tehnologii in the development of mucosal vaccines. The mechanisms of immune protection against HepesSimplex and ChlamydiaTrachomatis / V. A. Behalo, E. V. Sysolyatina, E. V. Nagurskaya // Herald of the Russian Academy of Sciences. – 2010. - № 4. – C. 75 – 80.
130. Published in the WHO Weekly Epidemiological Record on 7 January 2005. [Electronic resource]. – Access mode : [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/topics/adjuvants/ru/](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/topics/adjuvants/ru/)
131. Safety evaluation of vaccine adjuvants. National Cooperative Vaccine Development Working Group [Text] / K. L. Goldenthal, J. A. Cavagnaro, C. R. Alving [et al.] // AIDS Res. Hum. Retroviruses. – 1993. - Vol. 9. – P. 645–649.
132. Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 6-7 June 2006 / WHO Weekly Epidemiological Record on 7 July 2006 [Electronic resource]. - Access mode : [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/reports/June\\_2006/ru/](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/reports/June_2006/ru/)
133. A global perspective on vaccine safety and public health: the Global Advisory Committee on Vaccine Safety. [Electronic resource] / American Journal of Public Health – 2004. – 94. – P. 1926-1931. - Access mode : [http://www.who.int/vaccine\\_safety/committee/reports/june\\_2004/ru/index.html](http://www.who.int/vaccine_safety/committee/reports/june_2004/ru/index.html)
134. Improvement of the PapMV nanoparticle adjuvant property through an increased of its avidity for the antigen [influenza NP] [Text] / Christian Savard, Marie-Ève Laliberté-Gagné, Cindy Babin [et al.] // Vaccine. – 2012. - Vol. 30, № 15. - P. 2535-2542.
135. Design and Synthesis of Potent Quillaja Saponin Vaccine Adjuvants [Text] / Michelle M. Adams, Payal Damani, Nicholas R. Perl [et

al.] // Journal of the American Chemical Society. – 2010. - Vol. 132, № 6. – P. 1939 – 1945.

136. Kvitash V. I. Principles of selection dlyapromyshlennogo receiving adjuvant therapeutic and diagnostic sera [Text] / V. I. Kvitash, N. I. Zacepin // Theoretical and practical issues of vaccine - whey case. – 1970.-Vol. 4. – P. 5 – 7.

137. Published in the WHO Weekly Epidemiological Record [Electronic resource] / WHO. - Access mode : <http://www.who.int/bulletin/volumes/91/ru/>.

138. Rubanik L. V. Mehanizmy protivohlamidynogo immunity and vaccine design protivohlamidynoy [Text] / L. V. Rubanik // Medical news. 2006. -№11. – P. 29-35.

139. Modern problems of allergy, immunology and immunopharmacology : fri. proceedings of the 5th congress (Moscow, 12-14 novem. 2002.) / M., v.1. 2002. - 134-179 p.

140. Pat. 2320323 RU, МПК А61К9/127, А61К8/03, А61К8/14, А61К8/89, А61К8/892, А61К8/895, А61Р17/00 Sisitema delivery of biologically active substances by niosomes / Bazikov I. A. Omeljanchuk P. A. : applicant and patentee Bazikov I. A. Omeljanchuk P. A -№ 2006128323/15 ; app. 03.08.2006 ; opubl. 27.06.2011.

**УДК 615.371 – 025 (048.82)**

#### **АДЬЮВАНТЫ В СОВРЕМЕННОЙ ВАКЦИНОЛОГИИ**

**Исаенко Е. Ю., Бабич Е. М., Елисеєва И. В., Ждамарова Л. А.,**

**Белозерский В. И., Колпак С. А**

В статье охарактеризовано понятие адьювантов, история их создания, приведены различные виды неспецифических стимуляторов, их формообразующие вещества и классификация. Описаны основные свойства адьювантных систем, существенные преимущества адьювантов и их недостатки. Особое внимание уделено современным системам доставки антигенов, включая живые векторы, наночастицы, бактериальные токсины и др. Рассмотрены механизмы действия неспецифических стимуляторов на иммунную систему организма, их взаимодействие с антигенами. Приведены примеры применения различных адьювантов в лицензионных вакцинах.

**Ключевые слова:** адьюванты, неспецифические стимуляторы иммунной системы, системы доставки антигенов, иммуногенность, иммунитет.

**УДК 615.371 – 025 (048.82)**

#### **АДЬЮВАНТЫ В СУЧАСНІЙ ВАКЦИНОЛОГІЇ**

**Ісаєнко О.Ю., Бабич Є. М., Єлисеєва І. В., Ждамарова Л. А.,**

**Білозерський В. І., Колпак С.А.**

У статті охарактеризовано поняття ад'ювантів, історія їх створення, наведені різні види неспецифічних стимуляторів імунної системи, їх формоутворюючі речовини та класифікація. Описані основні властивості ад'ювантних систем, суттєві переваги ад'ювантів та їх недоліки. Особливу увагу приділено сучасним системам доставки антигенів, включно живі вектори, наночасточки, бактеріальні токсини та ін. Розглянуті механізми дії неспецифічних стимуляторів на імунну систему організму, їх взаємодія з антигенами. Наведені приклади застосування різних ад'ювантів у ліцензійних вакцинах.

**Ключові слова:** ад'юванти, неспецифічні стимулятори імунної системи, системи доставки антигенів, імуногенність, імунітет

**UDC 615.371 – 025 (048.82)**

#### **ADJUVANTS IN MODERN VACCINOLOGY**

**Isaenko Ye. Yu., Babych Ye. M., Yelyseyeva I. V., Zhdamarova L. A.,**

**Belozersky V. I., Kolpak S. A.**

A concept of adjuvants and their story of creation is characterized in the article. They're presented the various types of non-specific stimulators of immune systeme, thier excipients and classification. They're described basic properties of adjuvant systems, their significant advantages and disadvantages. Particular attention is paid to the numerous antigen delivery systems, including alive vectors, nanoparticles, bacterial toxins, etc. They're considered non-specific stimulators mechanisms of action on immune system and their interaction with antigens. They're given examples of different adjuvants in licensed vaccines use.

**Key words:** adjuvants, non-specific stimulators of immune systeme, antigen delivery systems antigen delivery systems, immunogenicity, immunity.