

5. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Вакцины нового поколения на основе синтетических полиионов: история создания, феноменология и механизм действия, внедрения в практику // *Иммунология*. 1998. № 5. С. 4–11.
6. Симбирцев А.С. Цитокины — новая система регуляции защитных реакций организма. Цитокины и воспаление. 2002. Т. 1, № 1. С. 9–17.
7. Шестопалов А.М., Рассадкин Ю.Н., Устинова Е.Н. и др. Влияние фактора некроза опухолей альфа на эффективность вакцинации против бешенства // *Вопросы вирусологии*. 2002. № 3. С. 37–40.
8. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. 606 с.
9. Fradelizi D. Les cytokines: Facteurs solubles de la communication intercellulaire // *Med. trop.* 1998. Vol. 58, No. 4. P. 427–432.
10. Nash A.D., Lofthouse S.A., Barcham G.J. et al. Recombinant cytokines as immunological adjuvants // *Immunol. Cell Biol.* 1993. Vol. 71, No. 5. P. 367–379.

Поступила в редакцию 03.04.2009.

IMMUNOADJUVANT EFFECT OF CYTOKINES

Zh.I. Avdeeva, N.A. Alpatova, S.E. Akolzhina, N.V. Medunitsin
L.I. Tarasevich State Research Institute for Standardization and Control of Medical Biological Preparations (41 Sivtsev Vrazhek Lane Moscow 119002 Russia)

Summary — The paper gives consideration to the adjuvant properties of cytokines studied by using experimental models. They induced immunogenic activities by means of rabies vaccine. Combined with a complex of recombinant cytokines, the vaccine exhibited the most noticeable effects. Augmenting immune response was observed in parallel to high-level virus neutralizing antibody formation. The immunoadjuvant effects were observed when using recombinant interleukin-1b and tumor necrosis factor-α for monodrug therapy and "Polyoxidonium". The research results were indicative of the possibility to apply cytokines and other immune-response modulating drugs as adjuvants capable of increasing immunogenic activities of the vaccines and highlight promising opportunities of researching into new approaches to immune response control.

Key words: cytokines, adjuvants, vaccines, immune response.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 3, p. 19–22.

УДК 615.37:612.017.1

Ж.И. Авдеева, Н.А. Алпатова, С.Е. Акользина, Н.В. Медуницын

Государственный НИИ стандартизации и контроля им. Л.А.Тарасевича (119002 Москва, пер. Сивцев Вражек, 41)

ЦИТОКИНЫ И ВАКЦИНЫ

Ключевые слова: цитокины, иммуноадъюванты, вакцины, иммунный ответ.

Вакцины, изготовленные на основе клеток млекопитающих, содержат ряд провоспалительных цитокинов, набор и концентрация которых зависят от вида вакцины. Спонтанная и антигениндуцированная продукция цитокинов зависит от клеточной линии и характера антигена. Диплоидные клеточные штаммы (М-22 и L-68) секретируют цитокины спонтанно. Изучение синтеза цитокинов клеточными культурами может быть одним из критериев выбора субстрата для производства культуральных вакцин. Исследование адъювантных свойств цитокинов и препаратов, обладающих иммуномодулирующей активностью, на ряде экспериментальных моделей свидетельствуют о стимулирующем действии цитокинов на иммуногенную активность вакцин против гепатитов А и В. Наиболее выраженными иммуностимулирующими свойствами обладают рекомбинантные цитокины — фактор некроза опухоли-α и интерлейкин-1β, а также препараты «Полиоксидоний» и «Имунофан».

Цитокины оказывают влияние практически на все клетки, воздействуя на большинство процессов, протекающих в организме. Они обеспечивают межклеточную кооперацию и регулируют иммунные процессы. Их активная продукция происходит в ответ на различные стимулирующие агенты, их действие неспецифично. Цитокины образуют особую сеть, модулируя экспрессию поверхностных рецепторов и индуцируя секрецию друг друга. Благодаря высокоаффинным рецепторам на клетках-мишенях (константа диссоциации в пределах 10^{-10} – 10^{-12} М), они способны вызывать биологические эффекты в

малых концентрациях. Действие цитокинов плеiotропно, им присуща локальная (ауто- и паракринная) и системная (эндокринная) регуляторная активность [4, 8, 9, 12].

В настоящее время для оптимизации вакцинального процесса используются различные иммуномодуляторы, которые отличаются друг от друга по происхождению и механизму действия. Исследования по использованию цитокинов в качестве адъювантов немногочисленны, хотя иммуномодулирующий эффект таких адъювантов, как липополисахарид и мурамилдипептид, объясняют вовлечением в этот процесс цитокинов [1, 10, 11].

Цитокины обнаружены в вакцинах и других иммунобиологических препаратах, субстратом для изготовления которых являются клетки эукариотов. Значимость выявления цитокинов в вакцинных препаратах важна для оценки их влияния на иммуногенную активность вакцин. Эпителиальные, фибробластные и лимфоидные клеточные линии, используемые для производства иммунобиологических препаратов, способны секретировать цитокины спонтанно или при антигенной стимуляции [3, 11, 12]. Установлено содержание интерлейкинов (ИЛ) 1 и 6, а также гранулоцитарного и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующих факторов в антирабической и ряде других противовирусных вакцин. ИЛ-1β и фактор некроза опухоли-α (ФНОα) выявлены в лекарственных препаратах моноклональных антител, изготовленных на основе лимфоидных клеток человека. Большое количество цитокинов присутствует

в препаратах интерферона, поскольку клетки человека (лейкоциты и фибробласты), используемые для их получения, способны секретировать цитокины как при обычных условиях культивирования, так и при стимуляции антигеном [6].

Несмотря на довольно высокую эффективность различных видов имеющихся в настоящее время вакцин, ни одна из них не дает 100% профилактического и лечебного эффекта. В связи с этим поиск способов повышения эффективности вакцинации, усиления иммуногенных свойств вакцин очень актуален [2, 5, 7, 9, 10]. Использование цитокинов, регулирующих в организме каскад иммунных реакций на антигенное воздействие, в качестве потенциальных иммуноадаювантов было ограничено из-за сложности их получения из природных источников в количествах, необходимых для экспериментальных и клинических исследований. Получение рекомбинантных цитокинов человека позволило приступить к решению этой задачи.

Материал и методы. Исследованы вакцины, приготовленные на основе клеток эукариотов (антирабическая, полиомиелитная, коревая экспериментальная, вакцина против гепатита А экспериментальная), а также субстраты: первичная клеточная культура почек зеленых мартышек (ПЗМ), перевиваемая линия клеток 4647 почек зеленых мартышек, диплоидный клеточный штамм фибробластов кожи и мышцы эмбриона человека (М-22), перевиваемая линия клеток VERO почек зеленых мартышек, диплоидная культура клеток фибробластов легкого человека (L-68).

Изучалась спонтанная и индуцированная вирусом полиомиелита 1, 2, 3-го типов выработка цитокинов субстратами ПЗМ, 4647 и М-22. Для определения содержания цитокинов в вакцинах и супернатантах клеточных культур использованы иммуноферментные тест-системы (ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург). Анализ иммуноадаювантных свойств цитокинов проведен на моделях иммунизации против гепатитов А и В. Использованы вакцина против гепатита А культуральная концентрированная очищенная инактивированная адсорбированная жидкая — «ГЕП-А-ин-ВАК» (ГНЦ ВБ «Вектор»), конъюгат вакцины против гепатита А с полиоксидонием, содержащий 25 нг антигена вируса гепатита А и 2,5 мкг полиоксидония, а также вакцина против гепатита В рекомбинантная (НПО «Вирион» г. Томск), приготовленная из полуфабриката вакцины Heberbiovac (Куба).

Использованы препараты цитокинов — ИЛ-1 β человека рекомбинантный (рчИЛ-1 β), ФНО α человека рекомбинантный (рчФНО α), ФНО β человека рекомбинантный (рчФНО β); «Гаммаферон» (γ -интерферон человека рекомбинантный — рчИФ γ) и другие препараты-адаюванты: «Имунофан», «Полиоксидоний», «Ридостин».

Эксперименты проведены на беспородных белых мышках весом 14–18 г и морских свинках весом 250–350 г. При иммунизации животных дозы и схемы введения соответствовали принципам определения

иммуногенной активности соответствующих вакцин при оценке их качества. Эффект воздействия исследуемых препаратов в качестве иммуноадаювантов на иммуногенную активность вакцин оценивали по изменению иммунизирующей дозы вакцины (ИД₅₀), показателю сероконверсии, уровню титров специфических антител.

Наличие суммарных антител и выявление титров антител к антигену вируса гепатита А проводили с помощью коммерческих иммуноферментных тест-систем «Вектогеп-А-антитела» («Вектор-Майстар», г. Новосибирск). Уровень специфических антител против антигена вируса гепатита В определяли с помощью тест-системы «Гепаностика» («Органон техника»).

Цитокины в иммунобиологических препаратах

Вакцина против гепатита А, антирабическая, полиомиелитная и коревая вакцины, полученные на основе клеток эукариотов, содержали провоспалительные цитокины. Содержание ИЛ-1 β и ИЛ-6 колебалось в широких пределах. Наиболее высокий уровень ИЛ-1 β выявлен в вакцине против гепатита А, изготовленной на основе клеточной линии 4647. В полиомиелитной вакцине, изготовленной на клеточной линии VERO, ИЛ-1 β не выявлялся. Наибольшее количество ИЛ-6 выявлено в антирабической вакцине, наименьшее — в вакцине против гепатита А, изготовленной на основе клеточной линии 4647. Наиболее высокая концентрация ФНО α зарегистрирована в полиомиелитной вакцине, изготовленной на клеточной линии VERO. В полиомиелитной вакцине, изготовленной на культуре клеток ПЗМ, а также в коревой вакцине и вакцине против гепатита А содержание ФНО α было в пределах 575–779 пг/мл. В антирабической вакцине этот цитокин отсутствовал (табл. 1).

Супернатанты клеточных культур, используемых при изготовлении вакцин (культуры клеток ПЗМ, 4647, VERO), без дополнительной стимуляции не вырабатывали цитокинов. Исключение составил диплоидный клеточный штамм L-68, который спонтанно продуцировал небольшое количество ИЛ-6, и диплоидный клеточный штамм М-22, спонтанно продуцировавший ИЛ-6 и ФНО α . Под воздействием вируса полиомиелита клеточные культуры приобретали способность вырабатывать цитокины, которая зависела от типа вируса. Под влиянием вируса 1-го типа наблюдалась наибольшая выработка ФНО α всеми культурами. Под влиянием вируса 2-го типа установлена наибольшая продукция ФНО α и ИЛ-6 клеточным штаммом М-22, а также ФНО α и ИЛ-1 β клеточной линией 4647. Вирус полиомиелита 3-го типа индуцировал культуры клеток к продукции меньшего количества ИЛ-6 и ФНО α по сравнению с вирусом 1-го типа и не стимулировал выработку ИЛ-1 β (табл. 2).

Таким образом, установлено, что вакцины, изготовленные на основе клеток млекопитающих, содержат ряд провоспалительных цитокинов, набор и концентрация которых зависят от вида препарата.

Таблица 1

Содержание цитокинов в противовирусных вакцинах

Вакцина и субстрат	Концентрация цитокинов ¹		
	ИЛ-1 β , пг/мл	ИЛ-6, МЕ/мл	ФНО α , пг/мл
Антирабическая вакцина на клеточной культуре	н/о ²	833,3 $\pm$ 211,8 (410–1060)	0,0
Полиомиелитная вакцина на культуре ПЗМ	26,0 $\pm$ 4,0 (19–55)	62,0 $\pm$ 3,3 (44–88)	779,0 $\pm$ 96,0 (380–1280)
Полиомиелитная вакцина на клеточной линии VERO	0,0	15,0 $\pm$ 4,0 (11–19)	2830,0 $\pm$ 30,0 (2800–2860)
Коревая вакцина на культуре L-68	27,0 $\pm$ 8,0 (19–35)	71,5 $\pm$ 32,1 (39–103)	600,0 $\pm$ 79,0 (520–680)
Вакцина против гепатита А на клеточной линии 4647	130,8 $\pm$ 12,8 (108–165)	0,9 $\pm$ 0,3 (0,4–1,5)	575,0 $\pm$ 39,0 (500–680)

¹ В скобках указаны пределы колебаний соответствующих показателей.² Не определяли.

Таблица 2

Уровень синтеза цитокинов клетками млекопитающих (спонтанный и индуцированный вирусом полиомиелита 1–3-го типов)

Субстрат		Концентрация цитокинов ¹		
		ИЛ-1 β , пг/мл	ИЛ-6, МЕ/мл	ФНО α , пг/мл
Первичная культура клеток ПЗМ:	без стимуляции	0,0	0,0	0,0
	стимуляция 1-м типом	34,5 $\pm$ 6,3	12,0	501,7 $\pm$ 208,0
	стимуляция 3-м типом	0,0	2,3	95,0 $\pm$ 65,0
Клеточный штамм М-22:	без стимуляции	0,0	0,3	190,0
	стимуляция 1-м типом	0,0	66,1	973,3 $\pm$ 279,6
	стимуляция 2-м типом	0,0	156,4	545,0 $\pm$ 186,0
	стимуляция 3-м типом	0,0	1,8	405,6 $\pm$ 167,1
Клеточная линия 4647:	без стимуляции	0,0	н/о	0,0
	стимуляция 1-м типом	36,0	н/о	140,0
	стимуляция 2-м типом	102,0	н/о	135,0 $\pm$ 5,0
	стимуляция 3-м типом	0,0	н/о	40,0
Клеточный штамм L-68:	без стимуляции	0,0	0,8	0,0
Клеточная линия VERO:	без стимуляции	0,0	н/о	0,0

¹ н/о — не определяли.

Наибольший уровень ИЛ-1 β зарегистрирован в вакцине против гепатита А, ИЛ-6 — в антирабической вакцине, ФНО α — в полиомиелитной вакцине, изготовленной на клеточной линии VERO. Концентрация цитокинов в различных вакцинах варьирует от серии к серии. Спонтанная продукция ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО α изученными клеточными субстратами, за исключением диплоидных клеточных штаммов М-22 и L-68, не установлена. Синтез цитокинов наблюдается при антигенной стимуляции клеточных культур вирусом полиомиелита. Продукция цитокинов зависит от клеточной линии и типа вируса, более выраженный эффект наблюдается под воздействием вируса 1-го и 2-го типов. Определение высокоактивных цитокинов в препаратах, при изготовлении которых используются культуры клеток эукариотов, является одним из новых направлений в вакцинологии. Изучение спонтанной и

антигениндуцированной продукции цитокинов на этапе культивирования клеточных культур, используемых для производства коммерческих вакцин, дает возможность прогнозировать присутствие цитокинов в конечном продукте. Это предопределяет необходимость изучения влияния сопутствующих цитокинов на свойства готового продукта. Изучение их синтеза экспериментальными клеточными культурами может быть одним из критериев выбора субстрата для производства культуральных вакцин.

Адьювантное действие рчФНО α и полиоксидония на иммуногенную активность вакцины против гепатита А в экспериментах на мышах

Проведены исследования по изучению иммуногенной активности конъюгата антигена вируса гепатита А и полиоксидония с добавлением его лекарственной

формы в различных концентрациях, а также иммуногенной активности указанных выше компонентов в сочетании с рчФНО α . Для получения антигена вируса гепатита А, конъюгированного с полиоксидонием, был использован полуфабрикат одной из коммерческих серий вакцины против гепатита А — «ГЕП-А-ин-ВАК» (без гидроокиси алюминия). В ГНЦ «Институт иммунологии» на основе указанного полуфабриката были приготовлены три экспериментальные серии препарата, одна прививочная доза которых (25 нг антигена вируса гепатита А) содержала различные дозы полиоксидония (1000, 200 или 40 мкг).

В экспериментах использован препарат рчФНО α с активностью 1×10^6 Ед/мл. Его вводили подкожно в дозе 100 Ед на мышь в объеме 0,5 мл одновременно с полуфабрикатом вакцины. Иммуногенную активность каждой из трех серий конъюгированного препарата и полуфабриката вакцины без полиоксидония исследовали на мышах, используя как неразведенные формы препарата, так и его разведения 1:2, 1:4, 1:8 и 1:16. Сыворотки от опытных и контрольных групп мышей были получены через 28 дней от начала иммунизации и исследованы на наличие суммарных антител и титров антител к антигену вируса гепатита А.

Исследования адъювантных свойств рчФНО α и полиоксидония при оценке иммуногенной активности конъюгата на экспериментальных животных выявили дозозависимый эффект его лекарственной формы. В группах животных, получивших рчФНО α одновременно с конъюгатом вакцины с добавлением лекарственной формы полиоксидония в оптимальной дозе (200 мкг), отмечено усиление иммунного ответа на антиген по сравнению с животными, которым не вводили рчФНО α . При этом показатель ИД₅₀ составил 2,0 нг антигена в первой группе и 2,65 нг антигена во второй группе (снижение ИД₅₀ составило 24,6%). При сопоставлении групп животных, иммунизированных полуфабрикатом вакцины в сочетании с рчФНО α и только полуфабрикатом вакцины, установлено снижение ИД₅₀ на 45%.

Оценка уровня титров специфических антител к антигену вируса гепатита А показала, что при введении рчФНО α в сочетании с полуфабрикатом вакцины наблюдалась стимуляция выработки антител по сравнению с животными, иммунизированными только полуфабрикатом вакцины. Так, у животных, иммунизированных вакциной в дозе 12,5 нг антигена с рчФНО α , в 40% случаев выявлялись антитела в титре 1:160 и выше, тогда как в контрольной группе — в титре 1:10. Аналогичная закономерность наблюдалась и при использовании разведений вакцины.

Наиболее выраженное влияние полиоксидония на формирование специфических антител наблюдалось при использовании его в дозе 200 мкг на мышь. Указанный дозозависимый эффект отмечался и при сочетанном применении полиоксидония и рчФНО α .

В группах животных, иммунизированных конъюгатом вакцины (цельной и разведенной 1:2) в сочетании с рчФНО α и полиоксидонием в дозе 200 мкг на мышь титры антител 1:160 и выше выявлялись в 50–62,5% случаев.

Следует отметить, что наиболее выраженный стимулирующий эффект рчФНО α проявлялся при иммунизации животных малыми дозами конъюгированной вакцины (3,12 и 1,56 нг антигена) и при сочетанном использовании его с малой дозой полиоксидония (40 мкг на мышь). Таким образом, можно заключить, что рчФНО α и полиоксидоний оказывают стимулирующее влияние на иммуногенную активность вакцины «ГЕП-А-ин-ВАК», индуцируя синтез специфических антител к антигену вирусного гепатита А.

Адъювантное действие цитокинов на иммуногенную активность вакцины против гепатита А в экспериментах на морских свинках

Влияние препаратов цитокинов на иммуногенность вакцины «ГЕП-А-ин-ВАК» изучено в экспериментах на морских свинках. Животным одновременно с вакциной вводили препараты цитокинов, иммунизацию проводили подкожно трехкратно с интервалом в две недели. Дозы цитокинов были выбраны на основании данных литературы и результатов собственных предварительных исследований и составили для рчФНО α 1 мкг или 1000 Ед, для ИЛ-1 β — 1 мкг, для рчИФ γ — 50000 Ед на морскую свинку в объеме 0,5 мл. Контрольным группам животных вводили «ГЕП-А-ин-ВАК» без цитокинов.

В экспериментах использовали три серии вакцины, различающиеся по содержанию антигена вирусного гепатита А. В первых двух сериях по данным иммуноферментного анализа оно составляло 60–70 Ед, в третьей — 120 Ед. Результаты исследований оценивали по титру специфических антител и по числу сероположительных животных. Титр антител определяли с помощью иммуноферментного анализа. Сероположительными считались сыворотки животных с титром более 1:10. Эффективность иммунизации оценивали в динамике на 14-е сутки после 2-го и 3-го введений препаратов.

После двукратного введения препаратов более высокий титр антител отмечен в группе морских свинок, иммунизированных «ГЕП-А-ин-ВАК» в сочетании с рчФНО α . Средние титры антител в этой группе превышали показатели в контроле в 7,8 раза. Частота выявления сероположительных животных после двукратного введения препаратов в группах с рчФНО α статистически достоверно отличалась от аналогичных показателей в контрольной группе. Показатели в группе морских свинок, иммунизированных вакциной в сочетании с рчИЛ-1 β , статистически значимо не отличались от контроля.

После трехкратного введения препаратов увеличение титров антител в группе с рчФНО α было в 12,4

Таблица 3

Оценка влияния цитокинов на иммуногенную активность вакцины «ГЕП-А-ин-ВАК» (содержание антигена 60–70 Ед) в экспериментах на морских свинках

Группа животных	Кол-во животных	Срок обследования ¹	Xlg±Ilg ²	Средний титр антител	Кол-во серопозитивных животных, %
«ГЕП-А-ин-ВАК» (контроль)	12	I	0,62±0,24	1:4	41,7±14,8
		II	1,32±0,27	1:21	75,0±13,1
«ГЕП-А-ин-ВАК»+рчФНОα	9	I	1,49±0,23 ³	1:31	88,9±11,1 ³
		II	2,42±0,20 ³	1:261	100,0
«ГЕП-А-ин-ВАК»+рчИЛ-1β	9	I	0,98±0,28	1:10	66,7±16,4
		II	2,15±0,28 ³	1:140	100,0

¹ I – 14-е сутки после двукратного введения препаратов, II – 14-е сутки после трехкратного введения препаратов.

² Средняя геометрическая титров антител.

³ Различие достоверно по отношению к контрольной группе.

Таблица 4

Оценка влияния цитокинов на иммуногенную активность вакцины «ГЕП-А-ин-ВАК» (содержание антигена 120 Ед) в экспериментах на морских свинках

Группа животных	Кол-во животных	Срок обследования ¹	Xlg±Ilg ²	Средний титр антител	Кол-во серопозитивных животных, %
«ГЕП-А-ин-ВАК» (контроль)	19	I	1,34±0,22	1:22	73,7±10,3
		II	2,07±0,25	1:119	89,5±7,2
«ГЕП-А-ин-ВАК»+рчФНОα	8	I	2,47±0,29 ³	1:295	100,0 ³
		II	3,21±0,22 ³	1:1622	100,0
«ГЕП-А-ин-ВАК»+рчИЛ-1β	8	I	2,42±0,22 ³	1:263	100,0 ³
		II	3,13±0,18 ³	1:1349	100,0
«ГЕП-А-ин-ВАК»+рчИЛ-2	18	I	1,98±0,12 ³	1:96	100,0 ³
		II	2,75±0,16	1:565	100,0
«ГЕП-А-ин-ВАК»+рчИФγ	10	I	1,74±0,25	1:55	90,0±10,0
		II	2,77±0,23	1:589	100,0
«ГЕП-А-ин-ВАК»+рчФНОα+рчИФγ	19	I	2,01±0,21 ³	1:102	89,5±7,2
		II	2,91±0,16 ³	1:813	100,0
«ГЕП-А-ин-ВАК»+«Имунофан»	18	I	1,97±0,15 ³	1:94	95,3±6,4 ³
		II	3,02±0,14 ³	1:1054	100,0

¹ I – 14-е сутки после двукратного введения препаратов, II – 14-е сутки после трехкратного введения препаратов.

² Средняя геометрическая титров антител.

³ Различие достоверно по отношению к контрольной группе.

раза, в группе с рчИЛ-1β – в 7 раз выше по сравнению с показателями контроля. Частота выявления сероположительных животных после третьего введения препаратов в контрольной группе составила 75%, а в группах животных, получивших вместе с вакциной препарат рчФНОα или рчИЛ-1β, – 100% (табл. 3).

После двукратного введения препаратов в группах морских свинок, получивших вместе с вакциной все исследуемые цитокины или комбинацию рчФНОα и рчИФγ, средние титры антител превышали показатели контрольной группы в 4,6–13,4 раза. При этом частота выявления сероположительных животных в группах с рчФНОα, рчИЛ-1β и ИЛ-2 достигла 100%, аналогичный показатель в контроле составлял 73,7%.

После трехкратного введения препаратов средние титры антител в группах животных с индивидуальным использованием цитокинов (рчФНОα, рчИЛ-1β или «Имунофан») превышали в 9–13 раз, с комбинацией из рчФНОα и рчИФγ – в 6,8 раза уровень контроля. Следует отметить, что частота выявления сероположительных животных после 3-го введения препаратов в контрольной группе морских свинок, иммунизированных «ГЕП-А-ин-ВАК» без цитокинов, составила 89,5%, а в группах животных, иммунизированных «ГЕП-А-ин-ВАК» в сочетании с цитокинами – 100% (табл. 4).

При сопоставлении экспериментов с использованием различных серий «ГЕП-А-ин-ВАК» наблюдалось возрастание эффективности иммунизации

вакциной, содержащей большее количество антигена (120 Ед). При введении с цитокинами отмечалось усиление иммуногенного эффекта вакцины, независимо от количественного содержания в ней антигена вируса гепатита А.

Таким образом, в экспериментах на морских свинках выявлено стимулирующее влияние цитокинов (рчФНО α , рчИЛ-1 β , рчИЛ-2, рчИФ γ) и препарата «Имунофан» на иммуногенную активность вакцины против гепатита А. Введение цитокинов в качестве адъювантов способствовало увеличению титров антител к вирусу гепатита А по сравнению с контрольной группой, иммунизированной одной вакциной, и обеспечивало 100% сероконверсию животных после окончания введения препаратов.

Адъювантное действие рчФНО β и ридостина на иммуногенные свойства вакцины против гепатита В

Влияние рчФНО β и ридостина на иммуногенную активность вакцины против гепатита В оценивали в экспериментах на белых мышках по уровню специфических антител к антигену вирусного гепатита В и по числу сероположительных животных.

Вакцина в дозах 2,5, 1,25, 0,6, 0,3 и 0,15 мкг на мышь вводилась внутривенно однократно. Контрольные животные получали только указанные дозы вакцины. Опытным животным 1-й группы вводили дозы вакцины в сочетании с препаратом рчФНО β из расчета 50 Ед на мышь. Для животных 2-й группы дозы вакцины сочетались с препаратом «Ридостин» из расчета 50 мкг на мышь. Через 30 суток индивидуально у каждого животного была получена сыворотка крови для определения уровня специфических антител.

При иммунизации минимальной дозой вакцины в сочетании с препаратами рчФНО β или «Ридостин» у 30% животных наблюдалось формирование антител к антигену вирусного гепатита В. В контрольной группе, иммунизированной только вакциной в указанной дозе, антитела не выявлялись. Стимуляция формирования специфических антител при иммунизации дозой вакцины, которая не вызывает иммунного ответа у экспериментальных животных, свидетельствует о возможности снижения эффективной иммунизирующей дозы вакцины при использовании ее в сочетании с рчФНО β и ридостином.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о стимулирующем действии цитокинов на иммуногенную активность вакцин против гепатитов А и В. Наиболее выраженными свойствами обладают рекомбинантные цитокины ФНО α , ИЛ-1 β , а также препараты «Полиоксидоний» и «Имунофан». Указанные соединения при индивидуальном или сочетанном использовании усиливают иммуногенность вакцины, повышая уровень титров специфических антител, и обеспечивают более высокий уровень сероконверсии, чем иммунизация моновак-

циной. В заключение следует отметить, что присутствие высокоактивных цитокинов в вакцинах определяет необходимость изучения их биологической значимости и целесообразности стандартизации и контроля вакцинных препаратов по содержанию в них цитокинов.

Литература

1. Авдеева Ж.И., Акользина С.Е., Алпатова Н.А., Медуницын Н.В. Оптимизация вакцинального процесса с помощью цитокинов // *Russian Journal of Immunol.* 1999. Т. 4, прил. 1. С. 54.
2. Авдеева Ж.И., Акользина С.Е., Алпатова Н.А., Карпович Л.Г., Медуницын Н.В. Влияние цитокинов на иммуногенные свойства вакцины против гепатита А // *Вопросы вирусологии.* 2005. № 2. С. 23–27.
3. Акользина С.Е. Цитокины в вакцинах и их адъювантное действие: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1996. 20 с.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 554 с.
5. Медуницын Н.В. Вакцинология. М.: Триада Х, 2004. 446 с.
6. Медуницын Н.В., Кузнецов В.П., Крылов О.Р., Авдеева Ж.И. и др. Сопутствующая цитокиновая активность в препаратах интерферона // *Иммунология.* 1987. № 4. С. 34–40.
7. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Вакцины нового поколения на основе синтетических полионосов: история создания, феноменология и механизм действия, внедрения в практику // *Иммунология.* 1998. № 5. С. 4–11.
8. Титов Л.П. Цитокины // *Медицина.* 1998. № 2. С. 30–32.
9. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. 606 с.
10. Armitage J.O. Emerging applications of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor // *Blood.* 1998. Vol. 92, No. 12. P. 4491–4508.
11. Medunitsin N.V., Avdeeva J.I., Acolzina S.E. et al. Presence of cytokines in biological preparations // *Biological.* 2002. No. 30. P. 1–6.
12. Senda T. Structure and function of cytokines and receptors // *Protein Nucl. Acid and Enzyme.* 1999. Vol. 44, No. 4. P. 318–324.

Поступила в редакцию 03.04.2009.

CYTOKINES AND VACCINES

Zh.I. Avdeeva, N.A. Alpatova, S.E. Acolzina, N.V. Medunitsin
L.I. Tarasevich State Research Institute for Standardization and Control of Medical Biological Preparations (41 Sivtsev Vrazhek Lane Moscow 119002 Russia)

Summary — The mammalian cell culture-derived vaccines contain some pro-inflammatory cytokines, the number and concentration of which depend on the vaccine type. Spontaneous and antigen-induced production of cytokines is subject on the cell line and nature of antigen. Diploid cell strains (M-22 and L-68) spontaneously secrete cytokines. Studying the cell culture-induced cytokine synthesis can serve as one of the criteria to choose substrate required to produce tissue culture vaccine. As the researches into adjuvanticity of cytokines and related immunomodulating drugs in some experiments show, there is a stimulatory effect produced by cytokines on the immunologic activity of the A and B hepatitis vaccines. Recombinant cytokines being tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β as well as “Polyoxidonium” and “Imunofan” are considered to have most evident immunomodulation properties.

Key words: cytokines, immunoadjuvants, vaccines, immune response.