

Исследование взаимодействия антигенов и компонентов матрикса трансдермального варианта вакцин

М.Н.Киреев, М.В.Овчинникова, О.А.Волох, С.В.Борисова, А.К.Никифоров

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

В статье представлены результаты модельных экспериментов по изучению влияния компонентов матрикса трансдермального варианта вакцин и потенциальных вспомогательных веществ на активность антигенов, входящих в вакцину.
Ключевые слова: природные биополимеры, энхансеры, трансдермальные вакцины

Для цитирования: Киреев М.Н., Овчинникова М.В., Волох О.А., Борисова С.В., Никифоров А.К. Исследование взаимодействия антигенов и компонентов матрикса трансдермального варианта вакцин. Бактериология. 2020; 5(1): 37–40. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-37-40

Investigation of interactions between antigens and matrix components of transdermal vaccine candidates

M.N.Kireev, M.V.Ovchinnikova, O.A.Volokh, S.V.Borisova, A.K.Nikiforov

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe” of the Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation

The paper presents the results of model experiments to study the effect of matrix components of transdermal vaccine candidates and prospective auxiliary substances on the activity of antigens included in the vaccine.
Key words: natural biopolymers, enhancer, transdermal vaccines

For citation: Kireev M.N., Ovchinnikova M.V., Volokh O.A., Borisova S.V., Nikiforov A.K. Investigation of interactions between antigens and matrix components of transdermal vaccine candidates. Bacteriology. 2020; 5(1): 37–40. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-37-40

Актуальность разработки нового поколения профилактических препаратов для предотвращения инфекционных болезней не вызывает сомнения. Одним из направлений по созданию новых вакцин является конструирование чрескожных вариантов вакцин. Такой подход может осуществляться при использовании трансдермальных конструкций, содержащих в своем составе иммуногенные антигены соответствующих возбудителей и вспомогательные вещества.

В настоящее время все большее внимание уделяют альтернативным способам введения в организм пациента лечебных и профилактических препаратов, в том числе вакцин. Для ряда инфекций перспективным является применение трансдермального способа введения. При создании таких препаратов наиболее подходящими материалами, на наш взгляд, являются композиции из природных полимеров животного и растительного происхождения – хитозана и аль-

гината натрия. Они обладают рядом свойств, которые будут полезны для биотехнологов [1–6].

Предварительно мы изучили возможность применения материалов из природных полисахаридных биополимеров в качестве контейнеров или матрикс-депо для компонентов химических вакцин – антигенов [7]. Было показано, что взятые в опыт биополимеры не снижают иммунохимическую активность антигенов. Напротив, благодаря своим уникальным свойствам они могут качественно улучшить свойства создаваемого препарата. Так, хитозан обладает бактерицидной активностью, биоциден, тормозит развитие грибов, совместим с тканями человека, обладает адьювантным действием, биodeградируется полностью до простых сахаров, которые выводятся из организма. Все эти свойства биотехнологи могут изменять (ослаблять или усиливать) и использовать в создаваемых вакцинах.

Для корреспонденции:

Киреев Михаил Николаевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории холерных вакцин ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора

Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 51-5446
E-mail: rusrap@microbe.ru

Статья поступила 30.01.2020 г., принята к печати 27.03.2020 г.

For correspondence:

Mikhail N. Kireev, MD, PhD, leading researcher of the laboratory of cholera vaccines, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe»

Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 51-5446
E-mail: rusrap@microbe.ru

The article was received 30.01.2020, accepted for publication 27.03.2020

Материалы и методы

Для конструирования прототипа вакцинного пластыря мы использовали различные варианты нетканого полотна, полученного из нановолокон хитозана электроформированием. Данный материал будет производиться в инновационно-технологическом центре Саратовского государственного университета «Перспективные материалы». В качестве биологически активного компонента использовали капсульный антиген чумного микроба. Такой выбор не случаен, поскольку данный антиген хорошо изучен, это основной иммуноген возбудителя чумы, он является важнейшей составной частью большинства чумных профилактических и диагностических препаратов и, что не менее важно, ранее мы показали, что он сохраняет свои биологические и иммунологические свойства в течение длительного периода даже при комнатной температуре [8]. Такие характеристики, на наш взгляд, позволяют говорить о возможности использования этого антигена для конструирования трансдермального варианта химической вакцины.

Для модельного эксперимента антигеном пропитывали подложку из нетканого хитозанового полотна, высушива-

ли и затем вносили в лунку чашки с агаром для реакции иммунодиффузии. Было показано, что антиген постепенно выходит из подложки и образует линию преципитации, соответствующую нативному, не связанному с подложкой антигену. Это говорит о том, что связь F1 с нановолокнами хитозана не ковалентная, а обусловлена адсорбционными взаимодействиями, причем линии преципитата появлялись с задержкой относительно лунки со свободным антигеном.

При выполнении следующего этапа работы мы определили влияние ряда вспомогательных веществ (энхансеров) и методов физического воздействия на антиген.

Для повышения проницаемости кожи применяют химические вещества, слабые электрические поля, ультразвуковое воздействие. Как известно, местное действие некоторых веществ на кожу повышает ее проницаемость для других лекарственных средств, что увеличивает их всасывание и ускоряет лечебный эффект. Мы изучили два разрешенных фармацевтических препарата, диметилсульфоксид (ДМСО) и салициловую кислоту, применяемые в том числе для увеличения проницаемости кожи. ДМСО использовали в концентрации 1–10%. Салициловую кислоту, предварительно растворенную в ДМСО, добавляли до конечной концентрации 0,5–5%. Затем проверили влияние ультразвука на иммунохимическую активность антигена.

Для определения влияния энхансеров в качестве простейшего аналога эпидермиса использовали тонкий слой 1%-й агарозы, как при реакции иммунодиффузии в геле. Для подтверждения сохранения иммунохимической активности антигена после воздействия ультразвука проводили высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и дот-иммуноанализ.

Результаты и обсуждение

Трансдермальный вариант химических вакцин перспективен еще тем, что в слои подложки с активными компонентами – антигенами – можно добавлять лекарственные вещества, стимулирующие иммуногенез, повышающие прохождение антигенов через кожу и всасывание препаратов. При конструировании изделий медицинского назначения, основанных на принципах адсорбции антигенов, анатоксинов, ферментов, с дальнейшим использованием биологической активности этих компонентов в макроорганизме (вакцины, лекарственные препараты), принципиально важно, что природные биополимеры и вспомогательные вещества при своей биоинертности практически не изменяют основные характеристики биологически активных веществ – антигенов, но в тоже время обладают адьювантным действием и бактерицидной активностью.

В результате проведенных экспериментов показано, что ДМСО в концентрации от 1 до 10% и салициловая кислота в концентрации от 0,5 до 5% не влияют на иммунохимическую активность антигена (рис. 1, 2).

Обработка антигена ультразвуком показала увеличение титра в дот-иммуноанализе с антисывороткой. При исследовании антигена в аналитической ВЭЖХ показано, что высокомолекулярный пик капсульного антигена снижается и появляется второй, низкомолекулярный пик. Как



Рис. 1. Анализ иммунохимической активности антигена после инкубации с разными концентрациями ДМСО. (1) – 1%, (2) – 2%, (3) – 4%, (4) – 5%, (5) – 10%, (6) – контроль 10% ДМСО без антигена, (7) – антисыворотка.

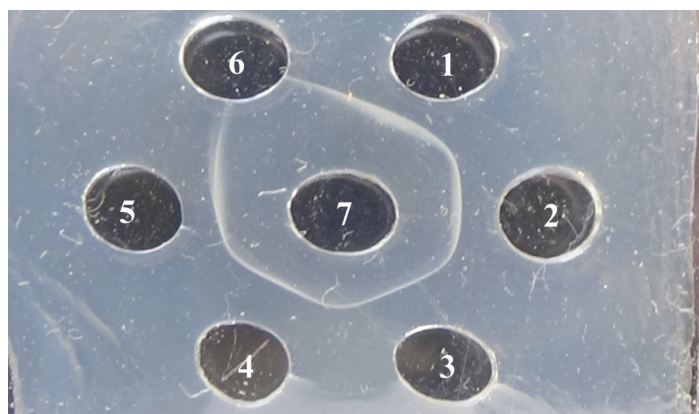


Рис. 2. Анализ иммунохимической активности антигена после инкубации с разными концентрациями салициловой кислоты. (1) – 0,5%, (2) – 1%, (3) – 2%, (4) – 3%, (5) – 5%, (6) – контроль 5%-я салициловая кислота без антигена, (7) – антисыворотка.

известно, капсульный антиген чумного микроба является полимером, состоящим из мономерных звеньев. При ультразвуковом воздействии происходит отделение мономеров, что влечет за собой увеличение иммунохимической активности.

В результате проведенного исследования показано, что изученные энхансеры ДМСО и салициловая кислота не влияют на взаимодействие антигена с иммуноглобулинами, а обработка ультразвуком повышает иммунохимическую активность капсульного антигена. В случае конструирования трансдермальных лечебных и профилактических лекарственных препаратов композит из природных биополимеров составит каркас такого кожного пластира или сорбента, а активные компоненты вакцины – антигены – и энхансеры, или усилители всасывания, будут включенной в него матрицей. Такие вакцинные препараты могут находиться в индивидуальных аптечках и применяться в условиях чрезвычайных ситуаций, при отсутствии чистой воды и квалифицированного медицинского персонала.

Таким образом, применение природных биополимеров позволит создавать более эффективные лечебные и профилактические препараты с незначительным побочным действием. Рациональное использование вспомогательных веществ (энхансеров) даст возможность биотехнологам потенцировать действие активных компонентов вакцины, увеличить всасываемость антигенов, что позволит снизить антигенную нагрузку с сохранением терапевтического эффекта. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения описанных биотехнологических подходов при разработке новых и усовершенствовании имеющихся профилактических препаратов.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Гендон ЮЗ, Маркушин СГ, Кривцов ГГ, Аكوпова ИИ. Хитозан как адъювант для инактивированных гриппозных вакцин, вводимых парентерально. Вопросы вирусологии. 2008;53(5):14-9.
- Гендон ЮЗ, Васильева ЮМ, Маркушин СГ, Аكوпова ИИ, Коптяева ИБ, Кривцов ГГ. Хитозан как адъювант для инактивированных вакцин против вирусов гриппа птиц. Журнал микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 2009;2:40-7.
- Васильев ЮМ. Адъюванты гриппозных вакцин – современное состояние. Журнал микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 2010;1:100-10.
- Шиповская АБ, Фомина ВИ, Киреев МН, Казакова ЕС, Касьян ИА. Биологическая активность олигомеров хитозана. Известия Саратовского университета. Химия. Биология. Экология. 2008;8(2):46-9.
- Избранные труды по комбустологии. Под ред. Н.В.Островского. Изд-во «Научная книга»; 2009.

- Miksza JA, Dekker JP, Harvey NG, et al. Microneedle-based intradermal delivery of the anthrax recombinant protective antigen vaccine. Infect Immun. 2006 Dec; 74(12):6806-10. DOI: 10.1128/IAI.01210-06
- Киреев МН, Волох ОА, Никифоров АК. Композиты на основе природных биополимеров: свойства и перспективы применения при создании трансдермальных форм вакцин. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016;1(14):70-4.
- Киреев МН, Тараненко ТМ, Храменкова ТА, и др. Структурно-функциональные свойства препаратов капсульного антигена Ф1 в процессе хранения. Биотехнология. 2005;5:41-3.

References

- Gendon YuZ, Markushin SG, Krivtsov GG, Akopova II. Chitosan as an adjuvant for parenteral inactivated influenza vaccines. Problems of Virology, Russian Journal. 2008;53(5):14-9. (In Russian).
- Gendon YuZ, Vasilyev YuM, Markushin SG, Akopova II, Koptyaeva IB, Krivtsov GG. Chitosan as an adjuvant for inactivated vaccines against avian influenza viruses. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2009;2:40-7. (In Russian).
- Vasilyev YuM. Influenza vaccines adjuvants – contemporary state. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2010;1:100-10. (In Russian).
- Shipovskaya AB, Fomina VI, Kireev MN, Kazakova ES, Kasi'yan IA. Biological Activity of Chitosan Oligomers. Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology. 2008;8(2):46-9. (In Russian).
- Izbrannye trudy po kombustiologii. Edited by N.V.Ostrovskii. Moscow: «Nauchnaya kniga» Publ.; 2009. (In Russian).
- Miksza JA, Dekker JP, Harvey NG, et al. Microneedle-based intradermal delivery of the anthrax recombinant protective antigen vaccine. Infect Immun. 2006 Dec;74(12):6806-10. DOI: 10.1128/IAI.01210-06
- Kireev MN, Volokh OA, Nikiforov AK. Natural biopolymer-based composites: properties and prospects of utilization in constructing transdermal formulation of vaccines. Drug development & registration (Razrabotka i registraciâ lekarstvennykh sredstv). 2016;1(14):70-4. (In Russian).
- Kireev MN, Taranenko TM, Kravtsov AL, Guseva NP, Polunina TA, Sharapova NA, Klyueva SN, Shmelkova TP. Structural and functional properties of the capsular antigen F1 preparations during of a long-time storage. Biotekhnologiya (Biotechnology). 2005;5:41-3. (In Russian).

Информация об авторах:

Овчинникова Мария Владимировна, кандидат биологических наук, заведующая отделом диагностических препаратов ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 51-5446
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Волох Оксана Александровна, кандидат биологических наук, заведующая отделом профилактических препаратов лаборатории холерных вакцин ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 51-5446
E-mail: lhv@microbe.ru

Борисова Светлана Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории холерных вакцин ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 51-5446
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Никифоров Алексей Константинович, доктор биологических наук, заместитель директора по экспериментальной и производственной работе ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 51-5446
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Information about authors:

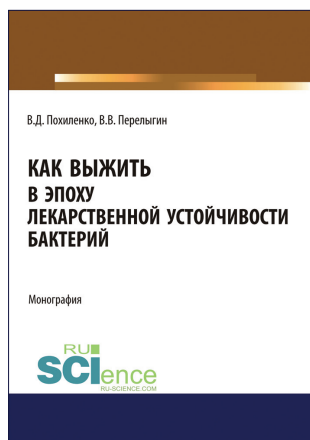
Maria V. Ovchinnikova, PhD (Biology), head of the department of diagnostic preparations, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe»
Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 51-5446
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Oksana A. Volokh, PhD (Biology), head of the department of prophylactic preparations of the laboratory of cholera vaccines, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe»
Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 51-5446
E-mail: lhv@microbe.ru

Svetlana V. Borisova, researcher of the laboratory of cholera vaccines, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe»
Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 51-5446
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Alexey K. Nikiforov, Dr. Sci. (Biology), Deputy Director for experimental and industrial work, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe»
Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 51-5446
E-mail: rusrapi@microbe.ru

НОВЫЕ КНИГИ



Похиленко В.Д. Как выжить в эпоху лекарственной устойчивости бактерий / В.Д.Похиленко, В.В.Перельгин // М.: РУСАЙНС. – 2019. – 94 с. – ISBN 978-5-4365-3540-1

Предмет исследования – штамм *Bacillus subtilis* ПСФ-19, выделенный нами из растительного сырья (препарат «Пассифлора»), который способен продуцировать антимикробное вещество (АМВ), подавляющее патогенные бактерии. В статье рассматриваются способ и условия извлечения из культуральной жидкости фракции АМВ, активного против *Listeria monocytogenes* – одного из опасных кишечных патогенов, инфицирующих пищевые продукты. С помощью биохимических методов и масс-спектрологии определена молекулярная масса и установлена пептидная природа активной фракции АМВ. Бактерицидной активностью обладает фракция АМВ с молекулярной массой около 3,4–3,6 кДа, которая разрушается при обработке протеолитическими ферментами, что позволило отнести ее к группе низкомолекулярных антимикробных пептидов – бактериоцинам. Проведенные исследования позволяют рассматривать штамм *Bacillus subtilis* ПСФ-19 в качестве продуцента бактериоцина, особенно эффективного против возбудителей кишечных листериозов. Установление факта разрушаемости протеолитическими ферментами, нахождение условий микробиологического синтеза АМВ, его выделения и накопления для исследований предоставляют возможности практического использования в качестве средства для деконтаминации среды обитания взамен традиционным антибиотикам.

Проведенные исследования позволяют рассматривать штамм *Bacillus subtilis* ПСФ-19 в качестве продуцента бактериоцина, особенно эффективного против возбудителей кишечных листериозов. Установление факта разрушаемости протеолитическими ферментами, нахождение условий микробиологического синтеза АМВ, его выделения и накопления для исследований предоставляют возможности практического использования в качестве средства для деконтаминации среды обитания взамен традиционным антибиотикам.



Экологические средства борьбы с патогенами человека, животных и растений / Воложанцев Н.В., Дунайцев И.А., Дятлов И.А. [и др.]; под редакцией И.А.Дятлова; Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. – Оболенск; Москва: Буки Веди, 2019. – 231 с.: ил.; 25 см. – Библиогр. в конце гл. – 500 экз. – ISBN 978-5-4465-2414-3 (в пер.)

В монографии обобщены данные литературы и результаты собственных исследований коллектива ученых ФБУН ГНЦ ПМБ по разработке экологических средств оздоровления среды обитания человека, охраны его здоровья и методов борьбы с патогенами человека, животных и растений. Обсуждаются возможности применения вирусов бактерий (бактериофагов), микробов-антагонистов и их антимикробных субстанций, а также низкотемпературной плазмы для снижения численности патогенов в окружающей среде и среде обитания человека. В работе приводятся теоретические и практические аспекты исследований, выполненных в ГНЦ ПМБ в рамках отраслевой научно-исследовательской программы «Научные исследования и разработки с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и снижения инфекционной заболеваемости в Российской Федерации» (на 2011–2015 гг.) и выполняемой в настоящее время программы «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями» (на 2016–2020 гг.).

Предложенный труд может быть полезен ученым, преподавателям, студентам физических, химических, биологических и медицинских факультетов, а также специалистам здравоохранения.