

В.Н.Мусиенко// Межведомственной тематический научный сборник "Ветеринарная медицина", № 82, Харьков, 2003, с. 409 - 412.7. Кистерная А.С. Оценка гемолимфы медоносных пчел при использовании биологических стимуляторов в лабораторных условиях. / А.С. Кистерная, В.В. Гаркавая, А. В. Мусиенко, В.Н. Мусиенко // СНАУ, Сумы 2012, выпуск 7 (31), с. 34-40.8. Нуждин А.С. Основы пчеловодства / А.С. Нуждин - Москва. ВО "Агропромиздат", 1988. - С 98 - 105.9. Руденко Е.В. Влияние вароатозной инвазии на клеточный состав гемолимфы и способы его корреляции / Е.В. Руденко, И.Г. Маслій, С.М. Немкова // Вестник СНАУ. - 2001. - № 6. - С. 100-104. 10. Федорчук Р. С. Факторы формирования иммунитета медоносных пчел / Р. С. Федорчук, И.И. Ковальчук, А.Р. Гавраняк // Биология животных. - 2009. - т. 11, № 1-2. - С. 83-90.

Статья передана в печать 19.06.2014 г.

УДК: 619:616.98

## ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ ГРУПП АДЬЮВАНТОВ

Красочко В.П., Яромчик Я.П.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь

*Рассматриваются адьюванты в современном представлении в соответствии с их классификацией и механизмом стимуляции иммунного ответа.*

*Adjuvants are characterized in according to modern view to their classification and mechanism of stimulating immune response.*

**Ключевые слова:** вакцины, адьюванты, иммунный ответ, Т-хелперы, цитотоксичные Т-лимфоциты.  
**Keywords:** vaccines, adjuvants, immune response, T-helpers, cytotoxic T-lymphocytes.

**Введение.** С целью усиления иммуногенной активности в технологию изготовления инактивированных вакцин включена стадия добавления адьювантов. Адьюванты (лат.«adjuvare» - помогать) - 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, применяются с начала прошлого столетия. В то время как количество веществ, обладающих адьювантной активностью, упоминаемых в литературе, значительно возросло, способ их действия точно неизвестен. Считается, что механизм действия адьюванта состоит, главным образом, в депонировании антигена в месте введения и его более медленной доставке к иммунокомпетентным клеткам, что усиливает действие вакцины. Также известно, что адьюванты способны вызывать синтез цитокинов, регулирующих лимфоцитарные функции.

**Материал и методы исследований.** На основании обзора литературных данных представлены основные подходы к классификации адьювантов.

**Результаты исследований.** В настоящее время известно множество веществ органической и неорганической природы, которые способны оказывать адьювантное действие.

В качестве адьювантов используют: минеральные соединения (гели гидрата окиси и фосфата алюминия, гидроксид железа, алюмокалиевые квасцы, азросил и др.); полимерные вещества; органические вещества - минеральные масла, альгинаты, сапонин, ДЭАЭ-декстран; сложные химические смеси (липополисахариды, белково-липополисахаридные комплексы, мурамилдипептид и его производные и др.); бактерии и компоненты бактерий (вытяжки вакцины БЦЖ, коклюшные бактерии – *Bordetella pertussis*); липиды и эмульгаторы (ланолин, арлацел); сложные адьюванты - полный и неполный адьювант Фрейнда.

В настоящее время не существует одной общепризнанной классификации адьювантов. Есть целый ряд различных критериев, которые могут быть использованы для группировки адьювантов, чтобы обеспечить их рациональное сравнение. Они могут быть разделены в зависимости от их происхождения, механизма действия и физико-химических свойств. Согласно данной классификации адьюванты представлены тремя группами:

- 1) вещества, выступающие в роли активных иммуностимуляторов, которые повышают иммунный ответ организма на введенный антиген;
- 2) иммуногенные белки, которые служат носителями и при этом вызывают Т-клеточный ответ;
- 3) адьюванты транспортного средства (масла, липосомы), которые являются матрицей для антигенов, они также стимулируют иммунный ответ.

Вторая система классификации разделяет адьюванты на группы: адьюванты на основе геля, поверхностно-активные вещества, бактериальные продукты, масляные эмульсии, белки или липопептиды.

Следующая классификация делит вспомогательные вещества на минеральные добавки, соли алюминия и подобные, бактериальные производные, поверхностно-активные вещества, транспортные средства и препараты, способствующие более медленному освобождению антигенов или цитокинов.

Существует еще одна классификация адьювантов, согласно которой они делятся на две большие группы: адьюванты, содержащие микро- или наночастицы и не содержащие оных. Обычно достоинства нанoadьювантов полностью раскрываются, когда иммуноген способен встраиваться или хотя бы связываться с частицей. К адьювантам, содержащим частицы, относятся: эмульсии,

иммуностимулирующие комплексы, нано и микрочастицы, соли алюминия, липосомы и другие.

Иммуностимулирующие комплексы (адъювант Iscotac AB) представляют собой структуры в форме открытой клетки диаметром 40 нм, образованные в результате взаимодействия сапонинов с холестеролом и фосфолипидами. К этому органическому комплексу добавляется иммуногенная молекула (антиген). Они используются в вакцинах для животных и проходят стадию изучения для использования в вакцинах для людей. Иммуностимулирующие комплексы вызывают сильный ответ Т-хелперов 1 и 2 типа, обеспечивают хорошее распознавание и антиген-презентацию, а также великолепный ответ цитотоксических Т-лимфоцитов. Они достаточно дешевы, в экспериментах на животных показали себя безвредными и просты в изготовлении.

Нано и микрочастицы – это мелкие твердые частицы в диапазоне 10-1000 нм (наночастицы) и 1-100 мкм (микрочастицы), образованные из различных биосовместимых и биоразлагаемых полимеров, наиболее типично цианоакрилаты и сополимеры PLG (поли-D,L-лактид-со-гликолид). Они могут выступать в качестве долгосрочного депо (от недель до многих месяцев), дать отличное распознавание антигена, если диаметр меньше 5 мкм. Наночастицы являются оптимальным вариантом для однодозовых вакцин с мульти-релиз эффектом. Включение иммуномодуляторов к наноадъювантам повышает их эффективность. Недостатком данного вида адъювантов является сложная технология изготовления и контроля качества.

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  $AlPO_4$ . Антиген адсорбируется на них посредством ионного взаимодействия, поэтому вакцины, приготовленные с такими традиционными адъювантами, принято называть адсорбированными или сорбированными. Минеральные адъюванты позволяют обеспечить более длительный процесс поступления антигенов (депонирующий эффект). 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. 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). Доподлинно известно, что многие сорбированные вакцины обладают достаточной антигенностью при первичной иммунизации. Однако, при повторном введении препарата существенной разницы между нативной и адъювантной вакциной 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. 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.

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 (маннидианолеат). К этому типу также относят неполный адъювант Фрейнда. Противоположный тип эмульсии – «масло в воде», представляет собой микрокапли масла размером около 290 нм, стабилизированные Твином-80 и/или Спан-85. Этот тип эмульсии обеспечивает высокий уровень антиген-презентации и умеренное распознавание антигена, хорошо сочетается с липофильными иммуномодуляторами. При выборе типа эмульсии руководствуются гидрофильностью или гидрофобностью антигена, так как он должен хорошо соединяться с частицами эмульсии.

Липосомы предлагают универсальную композицию, в которую могут быть включены различные иммуномодулирующие молекулы. Они представляют собой пузырек, заключенный в одно- или многооболочечную двухслойную мембрану, размером от 20 нм до 3 мкм, состоят из холестерола и фосфолипидов. Примеры включают MPL, липофильный MDP и Quil A. Хотя гидрофильные молекулы могут быть включены в липосомы, их эффективность, как правило, низкая и липосомные составы являются наиболее подходящими для амфипатических иммуногенов. Липосомы имеют потенциал для хорошего распознавания антигена, активации цитотоксических Т-лимфоцитов и антиген-презентации. При этом остаются сложности в формировании липосом и интеграции в них иммуногена.

Существуют и другие адъюванты, содержащие частицы, однако они получили меньшее распространение:

- Соли кальция – похожи по действию на соли алюминия, но обладают слабой иммуномодулирующей активностью. Одобрены для использования в медицине.
- Протеосомы – мультимерные агрегаты бактериальных (например, Neisseria) трансмембранных белков, в состав которых включают амфипатические иммуногены. В то время как они не имеют иммуномодулирующей активности, они обеспечивают хорошую презентацию и распознавание иммуногенов. При этом индукция цитотоксических Т-лимфоцитов является минимальной.
- Виросомы – аналогпротеосом, но используются вирусные трансмембранные белки (например, гемагглютинин гриппа).
- Стеарил тирозина – это вспомогательное вещество образует стабильный комплекс с

гидрофильными белками, чтобы выступить в качестве среднесрочной депо и стимулирует ответ Т-хелперов 1 типа.

- гамма-инулин существует в виде мелких (1-2 мкм) овальных частиц, которые вызывают ответ Т-хелперов 1 типа, возможно, путем модификации альтернативного пути активации комплемента.
- Альгаммулин. Сочетание гидроксида алюминия и гамма-инулин с комбинированными свойствами. В настоящее время в 1-й фазе клинических испытаний.

Вторая группа – это адъюванты, не содержащие частиц. Их свойства не обусловлены структурой частицы. Как правило, это иммуномодуляторы, поэтому большинство улучшает распознавание иммуногена. В связи с этим, их часто сочетают с адъювантами на основе частиц. К ним относят:

- Мурамил дипептид и производные – это компонент пептидогликана, извлеченного из микобактерий. Является индуктором интерлейкина-1: гидрофильные производные стимулируют Т-хелперы 1 типа, а гидрофобные – Т-хелперы 2 типа. Наилучшее применение находят при использовании с масляными эмульсиями.
- Неионные блокирующие сополимеры состоят из областей гидрофобного полиоксипропилена и областей полиоксиэтилена. Молекулярная масса составляет от 2500 до 12500. Разные полимеры используют как добавки в масляные эмульсии. Их главная функция – улучшить презентацию амфипатических антигенов, также предполагается наличие иммуномодулирующих свойств.
- Сапонины извлекают из коры *Quillaia saponaria*. Они индуцируют сильный ответ Т-хелперов 1 и 2 типов и умеренный цитотоксических Т-лимфоцитов за счет образования мицелл протеин-сапонин.
- Липид А вызывает сильный ответ Т-хелперов 1 типа.
- Цитокины являются дорогими, видоспецифичными и в дополнение имеющими проблемы в отношении стабильности, токсичности и развитию аутоиммунитета адъювантами. При этом являются идеальными стимуляторами иммунного ответа. Если будут преодолены вышеперечисленные сложности, то они войдут в состав некоторых профилактических и большинства терапевтических вакцин.
- Полимеры углеводов (глюкан, ацеманнан, летиан) могут стимулировать и направлять макрофаги (за счет маннозного рецептора), дендритные клетки и регулировать ответ Т-хелперов 1 типа.
- Измененные полисахариды (высокомолекулярные сульфаты декстрина или диэтиламиноэтилена) используются в вакцинах для животных. Обладают комплексным действием – поглощение Купферовскими клетками или митогенностью Т или В-лимфоцитов.
- Бактериальные токсины – это комплексные белки, например, токсин холерного вибриона, LT токсин *Escherichia coli*. Их действие недостаточно изучено. Предполагают, что происходит распознавание за счет ганглиозидного рецептора или стимуляция эндогенной активности аденилатциклазы.

**Заключение.** Таким образом, рассмотренные разновидности адъювантов, представляют широкое поле для экспериментов при конструировании вакцин. При этом современные достижения в изучении механизма действия разных адъювантов сужают спектр поиска идеального адъюванта для выбора в соответствии с химическими свойствами иммуногена и предпочтительности активации определенных типов клеток иммунной системы.

**Литература.** 1. Адъюванты в современной вакцинологии / Исаенко Е.Ю., Бабич Е.М., Елисеєва И.В. и др. // *Анналы Мечниковского института*. Харьков, - 2013. - №4. С. 5-21. 2. *Биотехнология* / А.Я. Самуйленко, Ф.И. Василевич, Е.С. Воронин и др. // Учебник - 2-е переработанное изд. - М., 2013. - 746 с. 3. Бирюков, В. В. *Основы промышленной биотехнологии* / В. В. Бирюков. - М.: КолосС, 2004. - 296 с. 4. Глик, Б. *Молекулярная биотехнология. Принципы и применение* / Б. Глик, Дж. Пастернак. - М.: Мир, 2002. - 589 с. 5. *Potential of porous poly-D,L-lactide-co-glycolide particles as a carrier for recombinant human bone morphogenetic protein-2 during osteoinduction in vivo* / B.D. Boyan, C.H. Lohmann, A. Somers and others // *J Biomed Mater Res*. 1999 Jul; 46(1):51-9.

Статья передана в печать 11.06.2014 г.

УДК 611.441.599.742.4

### МОРФОГЕНЕЗ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И НАДПОЧЕЧНИКОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА «ЛАКТОКАЛЬЦЕВИТ»

\*Кучинский М.П., \*\*Федотов Д.Н.

\*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

\*\*УО «Витебска ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

В статье представлен материал по росту и развитию щитовидной железы у цыплят от 1 до 40 суток выращивания при применении препарата на основе витаминов и минералов. Установлено, что за весь период исследования высота тироцитов увеличилась в 1,22 раза в контрольной группе и в 2,05 раза в опытной группе. Учитывая, что к концу опыта у подопытных бройлеров диаметр фолликулов меньше в 1,54 раза по сравнению с контрольной группой птиц, то индекс Брауна снижается до 40 суток в 3,43 раза, а это указывает на повышение активности структур железы в тиреоидогормонотропизме при применении препарата «Лактокальцевит». Применение препарата оказывает положительное влияние на морфогенез надпочечников бройлеров.