

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОВАКЦИН ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ, АЛЛЕРГИЧЕСКИХ, АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И РАКА

Лия Шмуцер

В предыдущих сообщениях я представила подробные обзоры литературы о структуре и механизмах работы иммунной системы и её нарушениях — иммунодефиците, аллергических и аутоиммунных заболеваниях [1,2,3]. В данном сообщении я хочу лишь кратко напомнить, что такое иммунная система, останавливаясь лишь на тех положениях, которые необходимы для понимания дальнейшего изложения.

Итак, иммунитет — это способ защиты организма от живых тел и веществ, несущих признаки генетической чужеродности, это специфический ответ на внедрение «чужого» - распознавание этого чужого, уничтожение и удаление его из организма. Иммунитет возникает при проникновении антигенов. Антигены — это макромолекулы, чужеродные для данного организма, которые могут стимулировать специфический иммунный ответ. Антигенность присуща белкам, многим сложным полисахаридам, высокополимерным соединениям. Простые вещества не являются антигенами, но, попадая в организм, они могут присоединяться к аминокислотам и становиться антигенами.

Упрощённая схема иммунитета представлена на рисунке 1.

Попадая в организм, антиген захватывается макрофагами и подвергается частичному разрушению. Переработанный антиген соединяется с продуктами главного комплекса гистосовместимости (МНС—белок), который является уникальным для каждого индивидуума и определяют отличие «своего» от «чужого». Антиген, соединённый с МНС, присоединяется к главным клеткам иммунитета -- Т- и В- лимфоцитам. На данный комплекс могут реагировать лишь те Т- лимфоциты, на поверхности которых есть рецепторы, комплементарные к рецепторам антигена, и лишь те В- лимфоциты, которые имеют специфические антитела к данному антигену. Каждый организм располагает таким набором антител на В- лимфоцитах и специфических рецепторов на Т-лимфоцитах, что способен отвечать практически на любое антигенное воздействие. Далее после многочисленных превращений и активирующих воздействий, на которых я не буду здесь останавливаться, образуются либо специфические цитотоксические Т-лимфоциты—киллеры, либо специфические антитела – IgA, IgG, IgM, IgE.

Каждые из этих антител имеют свои особенности. Наибольшее значение в нормальном иммунном ответе имеют IgM и IgG. При воздействии антигена, кроме иммунного ответа, образуются также клетки памяти, которые сохраняются в организме очень долгое время, иногда до конца жизни человека. При повторном контакте с тем же антигеном они очень быстро делятся, и появляются специфические антитела и (или) специфические Т-лимфоциты—киллеры. Именно наличием иммунологической памяти объясняется иммунитет к инфекционным заболеваниям при вакцинации.

К сожалению, иммунная система далека от совершенства. При попадании большого количества антигенов или при возможности их быстрого размножения в организме, а также при дефиците иммунной системы, вызванном различными причинами, она не может самостоятельно справиться с уничтожением попавших антигенов. Кроме того, при определенной генетической предрасположенности наблюдаются извращенные иммунологические реакции — аллергические или аутоиммунные. Аллергия — это иммунный ответ на вещества, которые в норме не вызывают такого ответа. Аутоиммунная реакция — это нарушение в работе иммунной системы, когда она атакует «своё», т.е. собственные ткани, клетки или органы вместо «чужого».

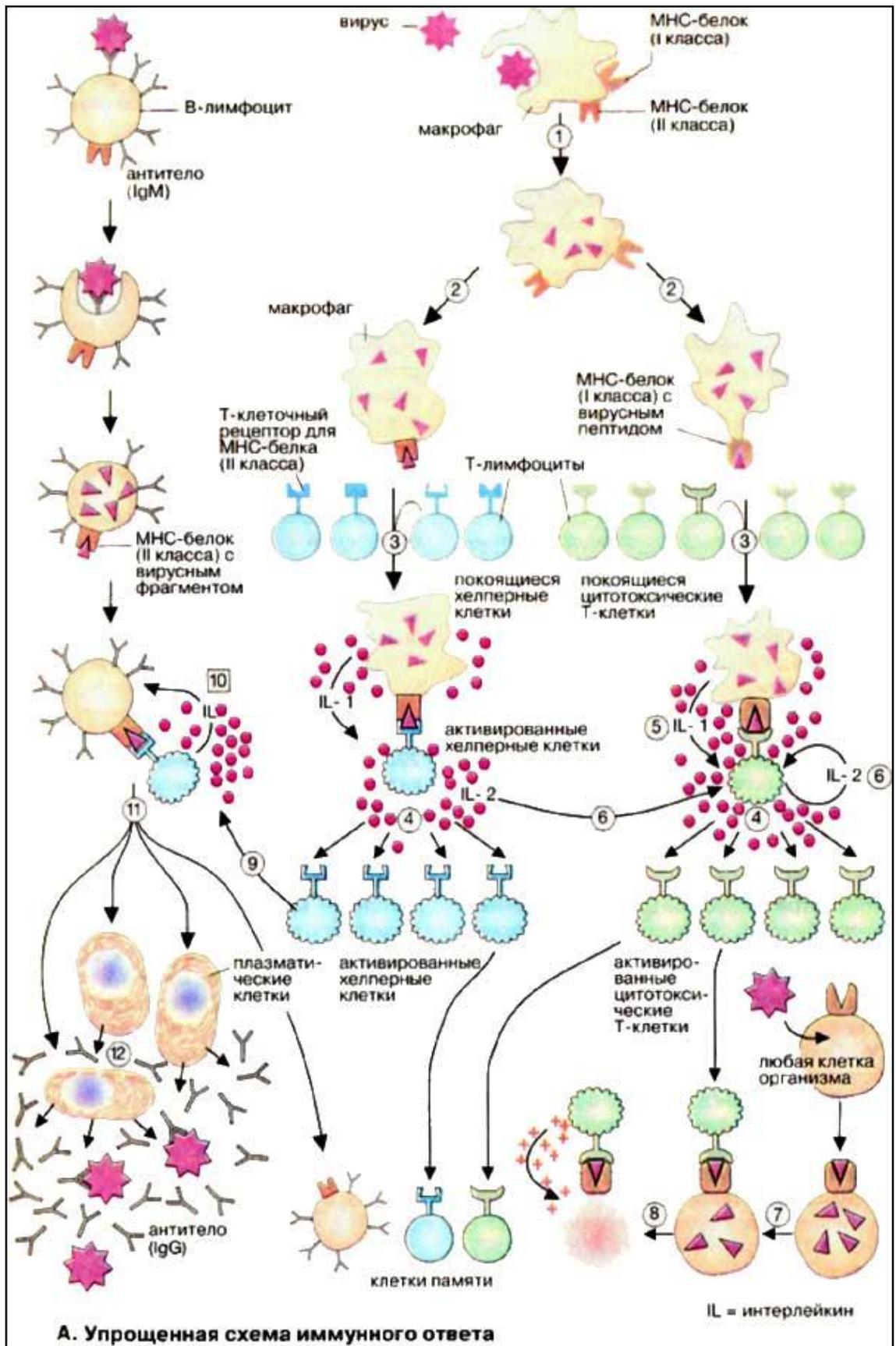


Рис. 1.

Подробнее я остановлюсь на этих извращённых реакциях, когда речь пойдёт об аллергических и аутоиммунных заболеваниях. Естественно, что всё время ведётся поиск оптимальных средств, вызывающих профилактический иммунный ответ или усиливающий его, когда это необходимо, и, наоборот, ослабление или устранение такого ответа при аллергических или аутоиммунных заболеваниях.

В последние годы внимание учёных привлекла возможность использования для этих целей наночастиц (НЧ). В этой работе я рассмотрю только использование наночастиц с присоединёнными к ним разнообразными антигенами. Этот комплекс можно назвать нановакциной.

Прежде, чем перейти непосредственно к использованию НЧ в различных областях иммунологии, я остановлюсь кратко на свойствах НЧ, применяемых в этой области. Известно, что НЧ — это любые частицы, естественные или искусственно созданные, имеющие размеры меньше, чем 1000nm. Они различаются по своему типу, размерам, форме, поверхностным свойствам, гидрофильности и другим [4,5]. Все эти свойства оказывают влияние при образовании комплекса наночастица—антиген. Так, например, НЧ, имеющие размер сопоставимый с антигеном, могут легче поглощаться антигенраспознающими клетками—макрофагами и дендритными клетками. При использовании различных типов наночастиц оптимальными могут быть разные размеры. Для взаимодействия НЧ с антигенраспознающими (антигенпрезентирующими) клетками важную роль играет форма поверхности наночастиц, особенно для больших НЧ (больше 100nm). Цилиндрические частицы с большим соотношением длины и ширины (больше 20) гораздо лучше поглощаются макрофагами, чем сферические. С другой стороны, сферические золотые НЧ размером 40nm. были более эффективны в индукции антительного ответа, чем другие формы. Существенную роль в иммунном ответе играет поверхностный заряд частицы — катионовые НЧ индуцируют лучший иммунный ответ, взаимодействуя с анионными клеточными мембранами. Показан также лучший иммунный ответ при использовании гидрофобных, чем гидрофильных НЧ.

Особое значение имеет тип наночастицы, так называемая платформа, к которой присоединяют антигены. Остановлюсь на основных типах, применяемых в иммунологии.

1. ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ

Эти НЧ являются одними из наиболее применяемых. Используются самые разнообразные синтетические полимеры, например, poly(D,L-lactide-co-glycolide)—PLG, poly(DL-lactic-co-glycolic acid)—PLGA, poly(ethylene glycol)—PEG и другие. PLG и PLGA исследуются наиболее интенсивно из-за их превосходной биосовместимости и способности саморазрушаться. Натуральные полимерные НЧ, основанные на полисахаридах, таких как инулин, читозан и другие, также часто используются для изготовления нановакцин, т.к. они, кроме того, что биосовместимы и легко саморазрушаются, не токсичны, могут легко принимать желаемую форму и размер и имеют большую поверхность для присоединения антигенов.

2. НЕОРГАНИЧЕСКИЕ НАНОЧАСТИЦЫ

Хотя эти частицы в большинстве своём не разрушаются в организме, их достоинством является твёрдая структура и контролируемый синтез. Часто используются частицы золота, т.к. они могут быть изготовлены в различной форме (сферической, круглой, кубической и др.) с размерами от 2-х до 150-и nm., и их поверхность может быть изменена углеводородами. Другим примером часто применяемых неорганических НЧ являются углеродные. Они могут быть синтезированы в виде нанотрубочек и наносфер. В иммунологии обычно используются нанотрубочки диаметром 0,2-2nm. и длиной 100 — 1000nm. Размер сфер приблизительно 500nm.

Одним из самых многообещающих неорганических наноматериалов для применения в иммунологии является кремний. НЧ на его основе могут иметь различные контролируемые

структурные параметры, химический состав, размер и форму, что позволяет изменять их взаимодействие с клетками иммунной системы. Можно использовать пористые кремниевые НЧ с размером 50—200nm., имеющие большую поверхность взаимодействия с антигеном и наилучшие свойства для доставки антигена и его медленного выделения.

3. НАНОЛИПОСОМЫ

Нанолипосомы хорошо биосовместимы и образуются из нетоксичных фосфолипидов. Они могут инкапсулировать антиген для лучшей доставки и, таким образом, усиливать иммунный ответ. Кроме того, поверхностный заряд этих наночастиц может быть изменен на катионный, т.к. катионные липосомы значительно более мощные в генерации иммунного ответа, чем анионные или нейтральные. Множество липосомных НЧ утверждены для использования у человека, такие как Inflexal, Erapaxal, Simurax и другие.

4. ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИЕ КОМПЛЕКСЫ (ISCOM)

Это наночастицы в виде клетки, размером приблизительно 40nm, которые созданы из таких веществ как сапонин, холестерин, фосфолипиды. Эти сферические частицы могут захватывать различные антигены, образуя иммуностимулирующие комплексы.

5. ВИРУСОПОДОБНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ (VLP)

Эти НЧ образуются из частиц вирусов, не имеющих инфекционного компонента, путём самоорганизации при определённых условиях биосовместимых частиц вирусов, несущих вирусную структуру. Эти частицы сохраняют лучшие свойства вирусов. Оптимальный размер, как и у вирусов, приблизительно 40nm. Их повторный структурный порядок определяет мощный иммунный ответ. Это первый класс НЧ, вышедших на рынок. VLP-вакцины могут быть получены из разных вирусов с использованием различных технологий. Ожидается большое увеличение утверждённых нановакцин, основанных на VPL.

6. НАНОЭМУЛЬСИИ

Ещё один тип наночастиц, широко используемых в иммунологии – наноэмульсии. Они состоят из двух жидких фаз — или масляные капли в воде, или водные капли в масле. Эти системы нестабильны пока они не стабилизированы специальными стабилизаторами. Их размер от 50 – до 600nm. Наноэмульсии могут нести антигены или внутри капли или быть смешаны с антигеном. Наноэмульсионные вакцины вызывают мощный местный иммунитет при инфекциях, проникающих через слизистые, а также клеточный иммунитет. Большое преимущество этих нановакцин состоит в том, что они могут применяться интраназально и сохраняются при высоких температурах, что делает их особенно ценными для применения в развивающихся и тропических странах.

Применение наночастиц для профилактики и лечения инфекционных заболеваний

Больше всего и дольше всего наночастицы используются для улучшения существующих и создания новых вакцин для профилактики инфекционных заболеваний.

Прежде всего определим, что такое вакцины. Вакцины — это либо микроорганизмы, либо вирусы или простейшие, способные вызывать иммунный ответ. Термин «вакцина» произошёл от латинского слова *vassa*—корова. Его ввёл Луи Пастер в честь английского врача Эдварда Дженнера, который является пионером в области иммунопрофилактики. Он заметил, что фермеры, работающие с коровами и инфицированные коровьей оспой, не болеют натуральной оспой. В 1796 году он привил коровью оспу мальчику и доказал, что тот стал невосприимчивым к натуральной оспе. Этот метод был применён, когда ещё не были открыты ни бактерии, ни вирусы, и получил широкое распространение в Европе. Однако только почти через 100 лет был предложен научный подход к вакцинации. Его автором стал Луи Пастер, который, основываясь на научном подходе, создал вакцину против бешенства в 1885 году. Разработка вакцин пошла полным ходом с начала XX века,

когда появились стабильные методы ослабления микроорганизмов. С тех пор появилось более 100 различных вакцин, которые защищают от 40 с лишним инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями, вирусами и простейшими. Наиболее эффективными являются вакцины из живых ослабленных патогенов. Однако эти вакцины могут вызывать очень сильные реакции вплоть до сходных с настоящим заболеванием, особенно у ослабленных людей. Затем начали больше использовать убитые микроорганизмы, которые вызывают меньше нежелательных реакций, но всё же вводится много ненужного белкового материала. Сейчас идут по пути минималистской композиции, т.е. используются только антигенные белки или фрагменты белков патогенных микроорганизмов. Это ведёт к более специфичному ответу и большей безопасности, но резко уменьшает иммуногенность (т.е. силу ответа). Поэтому всё время ведутся поиски безопасных и эффективных усилителей иммуногенности для получения новых улучшенных вакцин.

В этом плане наноносители антигенов привлекают всё большее внимание как один из наиболее многообещающих новейших подходов к методологии вакцинации. Нановакцины более эффективны чем обычные вакцины по многим параметрам [4,5,6].

Во-первых, применяя разнообразные наночастицы, можно улучшить стабильность вакцин, защитив присоединённый или инкапсулированный в НЧ антиген от разрушения энзимами и другими системами организма.

Во-вторых, такой защищённый антиген в зависимости от размера наноплатформы доставляется непосредственно к антигенпрезентирующим клеткам (АПК). При размере НЧ 10-100nm они могут проникать через межклеточное пространство и доставляться непосредственно в лимфоузлы, где сосредоточены Т- и В- лимфоциты. Большие частицы действуют на локальные АПК (макрофаги и дендритные клетки), тогда как НЧ размером меньше 10nm переносятся капиллярами крови и также доставляют антиген непосредственно в АПК.

В-третьих, некоторые наночастицы могут внедряться вместе с антигеном в антигенпрезентирующие клетки, модифицируя иммунный ответ к антигену. Это и некоторые другие свойства НЧ важны для развития клеточного иммунитета ко многим антигенам, особенно к внутриклеточным патогенам, аллергенам, раковым клеткам. Таким образом, способность нановакцин стимулировать не только гуморальный, но и клеточный иммунитет является решающим фактором в создании многих вакцин. При этом в зависимости от применяемой наноплатформы, размера НЧ и других их параметров может преобладать нужный ответ—преимущественно гуморальный, преимущественно клеточный или можно получить тот и другой сильный иммунный ответ.

В-четвёртых, нановакцины обеспечивают медленное постепенное высвобождение антигена и соответственно более длительное действие его на клетки иммунной системы.

В-пятых, очень важно, что некоторые нановакцины (в основном на основе наноэмульсий) способны проникать через слизистые оболочки и создавать, кроме общего, местный иммунитет, что очень важно для инфекций, проникающих через слизистые оболочки, например, грипп и ВИЧ-инфекция.

В-шестых, с применением нановакцин появляется больше возможностей доставлять вакцину не только путём инъекций, но другими путями — интраназально, через рот, на кожу, а также применять одноразовую вакцинацию вместо многократной.

В-седьмых, на основе НЧ можно создавать вакцины, устойчивые к высокой температуре, что наряду с преимуществами, изложенными в предыдущем параграфе, позволяет применять их в слаборазвитых и жарких странах.

Имеются и другие преимущества нановакцин. В настоящее время апробируется нанесение на одну наноплатформу не одного, а двух- трёх антигенов одновременно. В отличие от обычных вакцин, в которых антигены могут противодействовать друг другу, при применении нановакцин наблюдают сильный иммунный ответ к каждому антигену.

Отмечая многочисленные положительные аспекты применения НЧ для изготовления вакцин, необходимо учитывать и отрицательные. Так, нужно учитывать, что сами НЧ могут вызывать иммунную или аллергическую реакцию организма. Поэтому, очень важна биосовместимость нановакцин. Нужно также учитывать при создании нановакцин, как организм будет избавляться от НЧ. Многие НЧ саморазрушаются в организме, другие, особенно некоторые неорганические, не разрушаются и должны быть выведены из организма. Очень важно при этом, чтобы эти вещества не были токсичными.

Приведу несколько наиболее ярких примеров применения нановакцин для профилактики инфекционных заболеваний.

Самое распространённое инфекционное заболевание — это грипп. Многие исследователи используют различные типы наночастиц для получения наиболее активных противогриппозных вакцин. При этом применяют различные наноплатформы — натуральные полимеры, иммуностимулирующий комплекс, наноплатформы на основе липосом. Все они дают более или менее мощный иммунный ответ. При применении наноэмульсий можно вводить вирусный антиген интраназально, что позволяет получить как местный, так и системный иммунитет к заболеванию. Одна из противогриппозных нановакцин на основе наноэмульсий в настоящее время проходит клинические испытания в США. Ведутся разработки и испытания противогриппозных нановакцин, когда к одной наночастице присоединяется два или три типа гриппозного вируса. При этом получают такой же мощный ответ на каждый тип, как и при введении трёх отдельных нановакцин [4,5,6].

Очень важны вакцины против тяжелейших заболеваний гепатитом А, В, С, Е. Против этих заболеваний создаются и испытываются как профилактические, так и лечебные нановакцины с использованием различных наноплатформ, таких как синтетические и натуральные полимеры, вирусоподобные частицы, наноэмульсии и другие [4,5]. Так, вакцина, которая названа HBs Ag, составлена из наноэмульсии масла в воде размером 400nm., содержащей на своей поверхности антиген из вируса гепатита В. Показан мощный специфический как системный, так и местный иммунитет при интраназальном введении при испытании этой нановакцины на людях [4]. В 2011 году одобрена нановакцина против гепатита Е на основе вирусных частиц, которая несёт вирусную структуру, но не имеет инфекционного компонента и даёт мощный иммунный ответ [4]. Учёные из Бостонского института MIT разработали способ доставки нановакцин против гепатита и других инфекционных заболеваний (СПИД, дифтерия и других) прямо в лимфатические узлы, что позволяет улучшить доставку этих вакцин.

Применяются новые подходы к разработке нановакцин против многих детских инфекций с целью создания наилучших условий для получения нановакцин для одноразового применения. Разрабатываются одноразовые нановакцины для безыгольного применения с использованием биосовместимых полимерных наночастиц. Подобные нановакцины могут применяться также для предотвращения таких болезней как легочная чума, сибирская язва, пневмония и других. Так, недавно показано на мышах, что одно внутриназальное введение нановакцины полностью защищало от последующего введения смертельной дозы бактерий чумы, тогда как в контрольной группе без введения нановакцины 100 % мышей погибали через 2-4 дня после инфицирования [6].

Многие исследователи занимаются разработкой терапевтических нановакцин против малярии, которая является огромной проблемой в развивающихся и тропических странах [4,5,6]. Применяются липосомные и большая группа эмульсионных наночастиц. Используются НЧ размером 25nm, что позволяет этим нановакцинам проходить через межклеточное пространство, аккумулироваться в лимфоузлах, а затем достигать специализированных антигенпредставляющих клеток. На этой технологии, предложенной Liquidia technologies, будет основана следующая генерация противомаларийных нановакцин.

Разработана и проверяется на мышах нановакцина против лейшманиоза, тяжёлого хронического инфекционного заболевания, основанная на присоединении антигена из лейшмании к полисахаридной наночастице на основе читоэана. Показано, что после введения одной дозы нановакцины эффект был значительно лучшим, чем при введении вакцин без наночастиц. Очень важно, что при введении нановакцины резко усиливался клеточный иммунитет, необходимый для удаления лейшманий. Эта однократная нановакцина может применяться с целью профилактики и лечения лейшманиоза [6].

Самое большое число исследований проводится для получения эффективных нановакцин против СПИДа, заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Учёные испытывают самые разные наноплатформы. Для присоединения вакцинного варианта вируса иммунодефицита используются частицы золота, натуральные полимеры читоэан и инулин, антигены, выделенные из ВИЧ, используются для создания иммуностимулирующего комплекса, имеющего размер приблизительно 40nm, что соответствует размеру вируса. Интересный подход представляет собой создание вирусоподобных наночастиц, которые несут вирусную структуру, но не имеют инфекционного компонента. Разрабатываются терапевтические вакцины против ВИЧ-инфекции на основе липосом. Наиболее перспективным является применение наноземульсий. Исследователи показали, что т.к. вирус иммунодефицита размножается в слизистых оболочках гениталий, мощный местный иммунитет, характерный при применении нановакцин на основе наноземульсий, может эффективно препятствовать размножению или даже полностью уничтожить вирус до того, как он попадёт в кровь. Наноземульсионные вакцины вызывают также мощный клеточный иммунитет, что позволяет уничтожать попавшие в кровь вирусы. Большие преимущества этих нановакцин состоят ещё и в том, что они вводятся через нос или рот и устойчивы к высокой температуре и поэтому идеально подходят для использования в развивающихся и тропических странах [4,5,6].

Сказанное мною о применении нановакцин для профилактики и лечения инфекционных заболеваний, конечно, и близко не охватывает всех исследований, но даже из этого видно как интенсивно ведутся работы в этой области.

Применение наночастиц для профилактики и лечения раковых заболеваний

Попытки создать противораковый иммунитет предпринимаются многие десятилетия. Эти попытки в основном не имели успеха. Во-первых, большинство противораковых вакцин вызывали только гуморальный ответ, а антитела не только не защищали организм от рака, но, зачастую покрывая раковые клетки, делали их невосприимчивыми к воздействию Т-киллеров. Кроме того, раковые опухоли блокируют антираковый иммунный ответ, усиливая влияние Т-лимфоцитов--супрессоров и угнетая действие Т--киллеров. Поэтому попытки усилить иммунный ответ против рака должны идти в двух направлениях: 1 — снизить влияние Т-супрессоров и стимулировать Т--киллеры и 2 — создать специфический ответ на раковые антигены.

В отличие от этих вакцин различные варианты нановакцин отличаются тем, что вызывают не только антительный, но и клеточный иммунитет, что может наряду с другими преимуществами нановакцин привести к продукции специфичных к раковым антигенам Т-лимфоцитов—киллеров, необходимых для убийства и элиминации раковых клеток, а также позволяют преодолеть способность раковых клеток подавлять иммунную систему [7]. Исследования по применению наночастиц для создания новых нановакцин начаты в последние годы и находятся на различных стадиях разработки. Принципиальный подход к использованию НЧ для создания противораковых нановакцин не отличается от такового при создании антимикробных и антивирусных препаратов. Апробируются те же

наноплатформы с применением различных технологий присоединения к НЧ разнообразных частиц из раковых антигенов в надежде получить специфичный и действенный противоопухолевый иммунитет.

Приведу несколько примеров таких исследований. Лучше всего получается создание нановакцин против опухолей, вызываемых вирусами. Так, известно, что рак шейки матки, как правило, вызывается папилломавирусом. Имеется утверждённая обычная вакцина для профилактики рака шейки матки. Для получения более совершенной вакцины на основе вирусоподобных НЧ была разработана нановакцина с использованием антигенов из папилломавируса. Эта нановакцина была одобрена к применению ещё в 2006-м году [4]. Однако до настоящего времени вакцины против папилломавируса использовались лишь как профилактические, т.к. не могли разрушать уже инфицированные вирусом или опухолевые клетки. В 2014-м году группа тайваньских учёных сообщила, что они создали новую наночастицу на основе наноэмульсии и, соединив эту НЧ с пептидными или протеиновыми антигенами из папилломавируса, получили препарат для лечения рака шейки матки. При однократном подкожном введении мышам выявлено усиление специфического цитотоксического Т-клеточного ответа. Мыши, имеющие данную опухоль, после введения этой нановакцины демонстрировали полную регрессию опухоли, т.е. препарат оказался пригодным для иммунотерапии [8].

Разрабатываются терапевтические нановакцины на основе липосом против рака простаты, толстой и прямой кишки, лёгких и другие. Например, Stimulvax—нановакцина, поражающая раковые клетки, выделяющие муцин-1-протеин, проходит 3-ю стадию испытаний в 30-и странах, включая США, у больных с 3-ей стадией определённого вида рака лёгких [5].

Две различные разработки американских учёных направлены на подавление способности раковых клеток угнетать иммунный ответ. Так, группа учёных показала, что наночастицы на основе золота могут эффективно доставлять стимулирующие иммунную систему нуклеиновые кислоты в макрофаги, что позволяет затем успешно атаковать опухоли у животных. Использовали специально созданные короткие участки нуклеиновых кислот с повторяющимися сегментами цитозин-фосфат-гуанина, которые снижали иммуносупрессирующую активность опухолей. Эксперименты на мышах, имеющих опухоли, показали появление выраженного специфического иммунного ответа, что приводило к подавлению роста опухоли и увеличивало выживаемость животных. Авторы полагают, что этот подход может работать наряду с другими методами терапии и при лечении метастазов. Другие исследователи применяли иной подход, используя углеродные нанотрубочки как способ доставки агентов, которые поражают Т-лимфоциты--супрессоры, подавляющие иммунную систему. При этом авторы нашли вещества, которые доставляются непосредственно в иммунные клетки внутри опухоли, изменяя соотношение Т-регулирующих клеток--супрессоров и Т-эффекторных клеток—киллеров. Авторы утверждают, что это первый опыт воздействия на иммунные клетки внутри опухоли, что может явиться новым подходом к иммунотерапии рака [9].

Применение нановакцин для лечения аллергических заболеваний

Как я упомянула в начале статьи, аллергия — это извращённая реакция иммунной системы на вещества, которые в норме не вызывают иммунного ответа. Основное значение в возникновении аллергии имеет генетическая предрасположенность. Гены, способствующие возникновению аллергии, могут активироваться под влиянием многих факторов.

Наиболее распространённой является гиперчувствительность немедленного типа или реактивный тип реакции. При этом начальный этап ответа на аллерген не отличается от нормального иммунного ответа. Однако в отличие от иммунного ответа переработанный

аллерген, соединённый с главным комплексом гистосовместимости, присоединяется к другому типу Т-лимфоцитов- хелперов—Th2, а не Th1, что способствует выработке плазматическими клетками большого количества IgE. Эти антитела имеют способность фиксироваться на тучных клетках и базофилах. Тучные клетки находятся на коже, на слизистых оболочках рта, дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Базофилы— это клетки крови. И те, и другие клетки наполнены гранулами, содержащими биологически активные вещества, такие как гистамин, серотонин, гепарин и другие. Когда аллерген повторно поступает в организм, он связывается со специфичными к нему антителами, фиксированными на тучных клетках и базофилах, под влиянием чего меняется структура мембраны этих клеток и начинается выделение в кровь биологически активных веществ. Эти вещества воздействуют на различные органы и ткани, вызывая аллергические реакции — нарушение проницаемости мембран клеток, повышение секреции слизистых желез, спазм гладкой мускулатуры, в том числе бронхов, отёк лёгких и другие явления, что и является проявлением аллергических заболеваний. При гиперчувствительности замедленного типа роль антител выполняют Т-лимфоциты, имеющие на своей поверхности рецепторы к определенным аллергенам. При повторном или длительном воздействии аллергена эти клетки начинают быстро делиться, выделяя большое количество медиаторов иммунного ответа, что приводит к чрезмерной и длительной воспалительной реакции. В процесс могут вовлекаться любые органы и ткани.

Говоря о лечении аллергических заболеваний, я остановлюсь только на наиболее распространённом типе аллергических заболеваний — гиперчувствительности немедленного типа. Чаще всего применяется симптоматическое лечение, то есть лечение, связанное с реакцией организма на действие биологически активных веществ. Применяются также стероидные гормоны, которые подавляют всю иммунную систему. Единственным методом, который действительно может излечить больного от аллергии, является аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ). Это единственный метод, позволяющий устранить имеющийся дефект иммунной системы и воздействовать на извращенный иммунный ответ. Метод заключается в том, что если известно, какое именно вещество вызывает аллергическую реакцию, это вещество вводится больному с постоянным увеличением дозы, что со временем вызывает устойчивость к данному аллергену. Метод применяется очень широко. Однако он имеет ряд недостатков. Лечение длится не менее 6-и месяцев с частотой инъекций от одного раза в день в начале курса до одного раза в 7—10 дней в конце. Практически всегда необходимы повторные курсы лечения. Введение аллергенов может проводиться только в период ремиссии и даже при этом может вызывать сильную аллергическую реакцию у некоторых больных. Кроме того, метод можно применять только у ограниченного числа больных, которые имеют аллергические реакции не более, чем к 2—3м аллергенам.

Очень возможно, что преодолеть эти недостатки может применение наночастиц с присоединёнными к ним аллергенами, учитывая все преимущества нановакцин, о которых я говорила раньше. Методы представляют другие пути введения аллергенов, стабилизацию аллергенов, снижают их дозу, позволяют доставлять аллергены непосредственно к антиген—презентирующим клеткам, уменьшают присоединение аллергических антител к базофилам и тучным клеткам, модулируют иммунный ответ, перепрофилируя его с выработки аллергических антител на выработку иммунных, позволяют использовать одну наноплатформу для присоединения нескольких аллергенов. Таким образом, использование нановакцин представляется новым и перспективным методом лечения аллергических заболеваний [10].

В настоящее время исследователи начали интенсивно изучать возможность применения разных типов наночастиц для создания противоаллергических нановакцин. Все данные, которые мне удалось найти,—это результаты экспериментов, проведённых *in vitro* или на мышах. Приведу лишь несколько примеров самых последних исследований. Чаще

всего применяются полимерные наночастицы, как синтетические, так и натуральные. Так, PLGA-наночастицы, покрытые главным аллергеном из пыльцы берёзы, снижали уровень аллергических антител и повышали уровень иммунных антител. Другие полимерные наночастицы (PLG) были успешно применены как носители аллергена из пыльцы масличного дерева для превращения аллергического ответа в иммунный [11]. Показана принципиальная возможность лечения аллергии к пищевым продуктам при пероральном (через рот) введении нановакцины. Так, выявлено увеличение иммунных иммуноглобулинов после введения специально созданных наночастиц, покрытых овальбумином, на модели мышей, сенсибилизированных к овальбумину. Эта нановакцина предотвращала анафилактический шок у мышей при последующем введении аллергена [11]. Другие исследователи продемонстрировали эффективность наночастиц из читозана, покрытых овальбумином, при их пероральном введении для снижения овальбумин—индцированной пищевой аллергии [5]. Разрабатывается нановакцина против аллергии к арахису. Инициировали пищевую аллергию к арахису у мышей путем введения им главного аллергена из арахиса, а затем проводили пероральную иммунотерапию, используя покрытые этим аллергеном наночастицы. После его введения один раз в неделю мыши были защищены от анафилаксии при последующем введении аллергена арахиса. Лечение характеризовалось значительным снижением IgE и индукцией выработки специфических антител- IgA. Авторы считают, что эта вакцина может быть успешно применена для специфической пероральной иммунотерапии у людей [12].

Нановакцина, состоящая из полимерной наночастицы поливинилпирролидон (PVP), соединённой с антигеном патогенных грибов *Aspergillus fumigatus*, ответственных за многие аллергические заболевания, была с успехом использована для лечения аллергии у мышей. При этом значительный уровень защитных IgG-антител наблюдался в течение 12-ти недель, тогда как при специфической иммунотерапии свободным аллергеном – лишь в течение 7-и дней [11]. Недавно было опубликовано большое исследование по применению нановакцины для профилактики аллергии у мышей, вызванной клещами домашней пыли [13]. Это один из самых распространённых видов аллергии, который может приводить к астме, аллергическому риниту и другим аллергическим заболеваниям. Существует АСИТ к этому аллергену, но требуется регулярное введение больших доз аллергена не менее, чем в течение 3-х лет. Авторы создали нановакцину из полимерных наночастиц PLGA, покрытых аллергеном из наиболее часто вызывающих аллергию клещей, и показали, что эта нановакцина стимулирует мощный антигенспецифический иммунный ответ, увеличивая уровень IgG и снижая уровень аллергических IgE. Последующее введение аллергена не вызывало симптомов аллергического заболевания у мышей. Исследователи считают, что эта стратегия использования нановакцин имеет огромный потенциал для предупреждения аллергии к клещам домашней пыли. Дальнейшие исследования должны быть проведены для оценки потенциала использования таких нановакцин в терапевтических целях при существующей аллергии с определением оптимальных концентраций, интервалов введения и количества введений для получения максимальной эффективности.

Применение наночастиц для лечения аутоиммунных заболеваний

Основным методом лечения АИ, кроме применения симптоматических средств, является использование иммуносупрессантов -- от огромных доз кортизона и его производных до самых сильнодействующих средств. Эти вещества угнетают не только аутоиммунный ответ, но и всю иммунную систему, снижая её защитное действие. Кроме того, они имеют множество других побочных эффектов. Представлялось интересным проследить применяется ли при АИ заболеваниях антигенспецифическая иммунотерапия (АСИТ), широко используемая при аллергических заболеваниях. Для её применения необходимо точно знать, какой именно аутоантиген вызывает аутоиммунную реакцию. При

некоторых заболеваниях он известен. Так, при рассеянном склерозе — это основной протеин миелина, при аутоиммунном диабете 1-го типа — это антиген из островковых клеток поджелудочной железы. В 2010 году появилось сообщение о создании нановакцины против аутоиммунного диабета 1-го типа на основе принципа использования антигенспецифической иммунотерапии. Канадские учёные во главе с Pere Santamaria создали комплекс из наночастиц, покрытых антигеном из островковых клеток поджелудочной железы в комбинации с главным комплексом гистосовместимости. Авторы показали, что созданная ими нановакцина, влияя на клеточный иммунитет, вызывает увеличение специфических к антигену Т-супрессоров, которые полностью подавляют патологические Т-лимфоциты, разрушающие инсулинпродуцирующие клетки поджелудочной железы, и таким образом восстанавливают нормальное функционирование иммунной системы. В эксперименте эта нановакцина эффективно предохраняла от диабета мышей с наследственной предрасположенностью к нему и даже излечивала животных, страдающим этим заболеванием. По данным учёных, это лечение не ослабляет иммунную систему в целом [14]. Представлялось интересным проследить результаты работы этих учёных в последующие годы. В 2011 году появилось сообщение доктора Santamaria с соавторами, что предварительное изучение закончено и начинаются клинические испытания на людях. Технология была запатентована Parvus Therapeutic Inc., и создан клинический центр по развитию и клиническому применению данного препарата для потенциального лечения диабета 1-го типа. В 2013 году появилось сообщение о нескольких излеченных пациентах. Компания становится мировым лидером в развитии наномедицины для лечения аутоиммунных заболеваний. В 2014 году опубликована большая статья, в которой подводятся итоги по созданию нановакцины для лечения аутоиммунного диабета, а также приводятся данные по восстановлению паралича конечностей у мышей с другим АИ заболеванием — АИ энцефаломиелитом. Принцип создания этой нановакцины был абсолютно таким же — наночастицы покрывали специфическим антигеном, соединённым с главным комплексом гистосовместимости. Авторы полагают, что такой подход может быть применён также при других хронических АИ заболеваниях, таких как рассеянный склероз, ревматоидный артрит и другие [15].

Ещё одно большое исследование по применению нановакцин касается лечения рассеянного склероза (РС). Учёные из North—Western университета в Чикаго Stephen Miller и Daniel Getts с коллегами в 2012 году опубликовали сообщение о создании нановакцины для лечения РС путём присоединения основного протеина миелина к усовершенствованным ими полимерным наночастицам. Эксперименты, проведённые на мышах, показали, что введение таких нановакцин «обманывает» иммунную систему, которая перестаёт считать основной миелин чужеродным антигеном, и таким образом останавливает атаки болезни. При направленной на выработку толерантности терапии поражаются только аутореактивные Т-лимфоциты, которые реагируют со специфичным антигеном и не подавляется вся иммунная система [16]. В мае 2014 года профессор Miller прочёл доклад на собрании учёных, занимающихся лечением аутоиммунных заболеваний, в котором он подробно изложил полученные в эксперименте достижения [17]. Доктор Miller планирует в ближайшее время начать первую фазу испытаний на людях нановакцины, которая очень проста в применении и дала прекрасные результаты на мышах. Хотя учёный предупредил, что требуются огромные исследования в этом направлении, он выразил осторожный оптимизм, что направленная на создание толерантности иммунотерапия с использованием нановакцин в ближайшие годы сможет применяться для лечения многих аутоиммунных заболеваний. Полученные учёными результаты были опубликованы в 2014 году [18].

Заключение

В заключение хотелось бы отметить, что применение нановакцин, вследствие их многочисленных преимуществ, привлекает в последние годы огромный интерес. Многочисленные учёные занимаются созданием нановакцин для профилактики и лечения инфекционных заболеваний, рака, аллергических и аутоиммунных заболеваний. Некоторые нановакцины уже находят применение на практике, другие находятся на стадии клинических испытаний, большая часть—только на ранней стадии исследования или испытываются на животных. Нановакцинология находится в начале своего пути. Остаётся много нерешённых вопросов по созданию наилучшего дизайна, стабильной воспроизводимости желаемых свойств, функций и эффективности нановакцин. Ясно одно — нановакцинология, т.е. создание нановакцин путём присоединения различных антигенов к наночастицам для различных нужд медицины, значительно улучшит возможности профилактики и лечения многих заболеваний.

Источники

1. Шмуцер Лия. Иммунная система человека, иммунодефициты и иммунокоррекция, Сб. Второе Дыхание, 2008, 20, 61-67, www.russianscientist.org
2. Шмуцер Лия. Аллергия и аллергические заболевания, Сб. Второе Дыхание, 2010, 23, 62-70, www.russianscientist.org
3. Шмуцер Лия, Аутоиммунные заболевания, Сб. Второе Дыхание, 20013, 29, 94 – 102, www.russianscientist.org
4. Liang Z. Arjun S, Nami W. etc., Nanoparticle Vaccines, Vaccine, 2014, 32, 3, 327-337 www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0284410X13016319
5. Zoinik B., Gonzales-Fernandes M., Dobrovskaya M. etc., Nanoparticles and Immune System, Endocrinology, 2010, 151 (2), 458-465, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2817614>
6. Sekhon B. and Saluja V., Nanovaccines – an overview, International Journal of Pharmaceutical Frontier Research (IJPFRR), 2011, 1, (1), 101-109.
7. Sheen M., Lizotte P., Toraya-Brown S, etc., Stimulation antitumor immunity with nanoparticles, Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology, 2014, 6, 5, 496-505, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002>
8. Song Y-C, Cheng H. Leng Ch.etc., A novel emulsion-type adjuvant containing CpG oligodeoxynucleotides enhances CD8 T-cell-mediated antitumor immunity, Journal of Controlled Release, 2014, 173, 10, 158-165, www.sciencedirect.com/article/pii/S0168365913008766
9. Boosting immune therapy for cancer with nanoparticles, <http://phys.org/news/2013-07-boosting-immune-therapy-cancer-nanoparticles.html>
10. Gamazo C. Gataminza G. Ferrer M.etc., Nanoparticlebased immunotherapy against allergy, Immunotherapy, 2014, 6, 7, 885-897.
11. Reboucas J., Esparza I., Ferrer M. etc., Nanoparticulate Adjuvants and Delivery System for Allergen Immunotherapy, Journal of Biomedicine and Biotechnology, <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2012/474605>
12. Srivastava K., Siefert A., Fahmy T. etc., Investigation of Peanut Oral Immunotherapy Using CpG/peanut – nanoparticles in a Murine Model of Peanut Allergy, The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2015, 135, 2, AB235, <http://www.jacionline.com/article/S0091-6749>
13. Salem A., A promising CpG adjuvant – loaded nanoparticlesbased vaccine for treatment of dust mite allergies, Immunotherapy, 2014, 6, 11, 1161-1163.
14. Tsai S., Shameli P., Santamaria P. Etc., Novel nanoparticle vaccine cures type 1 diabetes in mice, <http://www.Sciencedaily.com/releases/2010/04/100408121054.html>

15. Santamaria P., A nanomedicine platform for the treatment of autoimmune disease, Viernes, 21 February 2014, <http://www.Neuroimmunologybcn.org/agenda/33/a-nanomedicine-platform-for-the-treatment-of-autoimmune-disease-dr-pere-santamaria>
16. Miller S. Gugenheim J., Shea L. Etc. Nanoparticles help to cope with multiple sclerosis without affecting immunity, RS (Revoseek) 11.23.12, <http://revoseek.com/life/nanoparticles-cope-multiple-sclerosis-affecting-immunity/>
17. Miller S., Tolerance- Directed Immunotherapies:the Future of MS Treatment?, news from the 6-th Cooperative meeting of the consortium of Multiple Sclerosis Center (CMSC) and the Americas Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ACTRIMS), Dallas,29 May 2014, <http://medscap.com/viewarticle/825900>
18. Hanter Z., Getts D., Shea L., Miller S. etc., A biodegradable nanoparticle platform for the induction of antigen-specific immunotolerance for treatment of autoimmune disease, ACS Nano, 2014, 8 (3), 2148-2160, <http://www.scholars.northwestern.edu/pubDetail.asp>