

УДК 571.27

ТЕХНОЛОГИЯ КАПСУЛЯЦИИ АЛЛЕРГЕНОВ ДЛЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ АЛЛЕРГИИ**М.В. Коновалова¹, Е.И. Каширина¹, К.Р. Бельцова², Е.В. Свирцевская¹**

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Аллергия – одно из самых распространенных заболеваний в мире. Выделяют I, II, III и IV типы гиперчувствительности. Среди них наиболее распространена реакция гиперчувствительности первого типа, которая опосредована специфическими иммуноглобулинами класса E (IgE). Такая аллергия возникает в ответ на попадание в организм безвредных соединений из окружающей среды: пыльцы деревьев и трав, фрагментов бытовых микроорганизмов и т. д. На сегодняшний день единственным способом лечения аллергии, а не предотвращения симптомов, является аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ), которая заключается в длительном подкожном введении малых доз экстрактов аллергенов. После АСИТ формируются IgG4 антитела, которые предотвращают развитие гиперчувствительности при контакте с аллергенами и замедляет переход в тяжёлые формы аллергии (бронхиальную астму и атопический дерматит). При лечении аллергии АСИТ вакцины вводят в небольшой дозе и постепенно ее наращивают из-за возможности анафилактического шока, чем затрудняется переход от иммунного ответа с синтеза IgE на IgG. Целью этой работы было создание капсулированных белков-аллергенов, которые можно безопасно вводить в больших дозах для ускорения терапии. Яичный белок Gal d 1 использовали в качестве модельного антигена. Для получения частиц сукцинилхитозан растворяли в фосфатном буфере, концентрация 2,5 мг/мл, а затем добавляли аллерген Gal d1, меченный родамином Б. Соотношение антигена и сукцинилхитозана – 1:5. Формирование частиц осуществляли добавлением по каплям раствора лимонной кислоты (4 мг/мл) с 1-Этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимидом (8 мг/мл) при перемешивании. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Для закрытия возможных тммуногенных участков белка частицы дополнительно покрывали кватернизированным хитозаном (1 мг/мл) в фосфатном буферном растворе и перемешивали еще в течение 30 мин. По данным динамического светорассеяния частицы сукцинилхитозана с белком имели размер 710 ± 12 нм и заряд -11 мВ, а после покрытия кватернизированным хитозаном их размер увеличивался до 1230 ± 44 нм, а заряд становился положительным +9 мВ, что свидетельствует о создании положительно заряженной оболочки. Полученные частицы показали низкую токсичность (в пределах 20 %) на клеточных линиях макрофагов и фибробластов мышей. Фагоцитоз полученных частиц макрофагами ТНР-1 анализировали методами конфокальной микроскопии и проточной цитометрии. При совместной инкубации частиц с клетками макрофагов в течение 18 ч с происходило практически полное поглощение частиц клетками ($99 \pm 0,6$ %), при этом выживаемость клеток составила более 93 %. Самок мышей BALB/c иммунизировали частицами подкожно 3 раза в неделю в течение 2 недель. Продукцию IgG оценивали с помощью иммуноферментного анализа. Показано, что иммунизация мышей капсулированными аллергенами приводит к образованию антител IgG1, а не IgE. Таким образом, предложена технология капсуляции аллергенов, которая способствует быстрой и безопасной продукции IgG-антител к аллергенам.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20–015–00360.