ФОРМИРОВАНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА И *IN VIVO* ТЕСТИРОВАНИЕ ЛИПОСОМИРОВАННЫХ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К ПРОИЗВОДНЫМ МОРФИНА

В.Н. Каркищенко¹, А.Г. Берзина^{2,*}, Т.А. Климова², Н.Б. Гамалея², Р.А. Агельдинов^{1,3},
А.Е. Кузнецов³, И.С. Корсун³, М.С. Нестеров¹, Л.И. Ульянова²

¹ ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии
им. В.П. Сербского» Минздрава России
119034, Российская Федерация, Москва, Кропоткинский пер., 23

³ ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева»
125047, Российская Федерация, Москва, Миусская пл., 9

Роль искусственных мембранных структур, содержащих лекарственные вещества, значима и перспективна в наши дни при разработке новых препаратов. Липосомальные препараты активно применяются в медицинской практике. Они демонстрируют повышенные показатели эффективности и относительно низкую токсичность. Цель данной работы состояла в инкапсуляции антиидиотипических антител в липосомальную композицию для улучшения их иммуногенных свойств. После приготовления методом дегидратации/регидратации с использованием ультразвуковой обработки были исследованы размер, дзета-потенциал и эффективность загрузки липосом. Были проведены предварительные исследования *in vivo* для оценки адъювантных свойств липосом, различающихся по своим размерам. Нагруженные липосомы наименьшего диаметра (около 110 нм) показали возможность усиления иммунного ответа аналогично ответу, полученному с применением адъюванта Фрейнда. Эти результаты позволяют сконцентрировать внимание на возможности использования нагруженных антителами липосом в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова: искусственные мембранные везикулы, липосомы, антитело, иммуноглобулин, вакцины, адъюванты

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Каркищенко В.Н., Берзина А.Г., Климова Т.А., Гамалея Н.Б., Агельдинов Р.А., Кузнецов А.Е., Корсун И.С., Нестеров М.С., Ульянова Л.И. Формирование, характеристика и *in vivo* тестирование липосомированных антиидиотипических антител к производным морфина. *Биомедицина*. 2021;17(4):8–17. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-4-8-17>

Поступила 11.06.2021

Принята после доработки 30.08.2021

Опубликована 10.12.2021

PREPARATION, CHARACTERIZATION, AND PRELIMINARY IN VIVO TESTING OF LIPOSOMATED ANTIIDiotypic ANTIBODIES AGAINST MORPHINE DERIVATIVES

Vladislav N. Karkischenko¹, Asya G. Berzina^{2*}, Tatiana A. Klimova²,
Natalia B. Gamaleya², Ruslan A. Ageldinov^{1,3}, Alexander E. Kuznetsov³, Irina S. Korsun³,
Maksim S. Nesterov¹, Lyudmila I. Ulyanova

¹ Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

² V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology
of the Ministry of Health Care of Russia
119034, Russian Federation, Moscow, Kropotkinskiy Lane, 23

³ Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
125047, Russian Federation, Moscow, Miusskaya Square, 9

Artificial membrane structures containing medicinal substances are highly promising for the development of new drugs. Liposomal preparations are actively used in medical practice due to their high efficacy and relatively low toxicity. Our aim was to encapsulate anti-idiotypic antibodies into a liposomal composition with the purpose of improving their immunogenic properties. Following the preparation of a liposomal composition by the dehydration/rehydration method using ultrasonic treatment, the size, zeta potential, and loading efficiency of liposomes were investigated. Preliminary *in vivo* studies were conducted to evaluate the adjuvant properties of liposomes of varying size. Loaded liposomes of the smallest diameter (about 110 nm) showed the potential of enhancing the immune response similar to that obtained using Freund's adjuvant. These results justify further research into the properties of liposomes loaded with antibodies.

Keywords: artificial membrane vesicles, liposomes, antibody, immunoglobulin, vaccines, adjuvants

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Karkischenko V.N., Berzina A.G., Klimova T.A., Gamaleya N.B., Ageldinov R.A., Kuznetsov A.E., Korsun I.S., Nesterov M.S., Ulyanova L.I. Preparation, Characterization and Preliminary *in vivo* Testing of Liposomated Antiidiotypic Antibodies Against Morphine Derivatives. *Journal Biomed.* 2021;17(4):8–17. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-4-8-17>

Submitted 11.06.2021

Revised 30.08.2021

Published 10.12.2021

Введение

Использование липосом в роли транспортной системы для доставки лекарственных препаратов (ЛП) является общепризнанным подходом к повышению показателей эффективности лечения. Включение ЛП в состав мембранных везикул способствует повышению терапевтического индекса лекарства и пролонгированию его действия. Препараты на основе липосом (ЛПС) нашли применение, в частности, в сфере лечения онкологических заболеваний [9]. Инкапсуляция ЛП в липидные носители

позволяет увеличить их биодоступность, снизить токсичность и риск развития побочных эффектов, а также более эффективно облегчить боль при сочетании онкопрепаратов с местными анестетиками.

При разработке новых ЛПС большое внимание уделяется физико-химическим характеристикам липосом [6, 10]. Липосомы, используемые для инкапсуляции ЛП, должны иметь одинаковый размер (порядка 100–150 нм в диаметре), обладать низким индексом полидисперсности, иметь значения дзета-потенциала <10–15 мВ. Эти параме-

тры обеспечивают наиболее эффективную экстравазацию липосом и удержание их в тканях.

Возможность использования липосом в качестве адъювантов в вакцинных препаратах для людей исследуется достаточно давно [8]. Введение водорастворимых антигенов, таких как белки, в липосомы защищает их от быстрого разрушающего воздействия протеаз. Благодаря этому увеличивается время полужизни антигенов в крови и обеспечивается более длительное взаимодействие антиген-представляющих клеток с иммуногеном после вакцинации. Липосомы используются также в новых РНК-вакцинах для защиты нуклеиновой кислоты от воздействия РНК-аз в организме с целью доставки РНК в клетки [3]. Адъюванты на основе липосом обычно содержат холестерин, лецитин, димиристоил фосфатидилхолин. Преимуществом таких адъювантов является биосовместимость и возможность биodeградации в организме. Кинетика распада микросфер зависит от их химического состава, она может меняться в зависимости от поставленных задач.

Механизм взаимодействия липосом с иммунной системой человека достаточно подробно изучен и описан [11]. После процессинга и презентации антигена происходит поляризация Т-лимфоцитов CD^{4+} , что в дальнейшем приводит к появлению В-клеток, активации CD^{8+} Т-лимфоцитов и гуморального иммунного ответа. Конструкция липосом, заряд и состав бислоя, размер частиц — важные параметры, влияющие на их адъювантные свойства. Адъювантные свойства липосом зависят от способа включения в них антигена, которое может быть достигнуто путем ковалентной липидной конъюгации, нековалентным поверхностным связыванием, а также при электростатическом взаимодействии с липидами противоположного заряда или поверхностной адсорбцией. Было установлено, что при малых разме-

рах антигена лучшие иммунные ответы можно получить методом поверхностной адсорбции антигена на липосомах. Кроме того, включение иммуностимулирующих веществ в липосомальные композиции вакцин также способствует усилению иммунного ответа [1].

Разработка экспериментальных подходов к иммунопрофилактике ряда заболеваний имеет важное практическое значение. Одним из актуальных направлений для исследователей является изучение возможности применения иммунотерапии в лечении наркомании. Действие предлагаемых вакцин основано на блокировании наркотика до того, как он попадет в центральную нервную систему.

При создании вакцины от опиоидной зависимости нами впервые было предложено использование антиидиотипических антител (Ат2) к двум производным морфина в качестве иммуногена [2]. Ранее в экспериментах на животных вакцинный препарат использовался в сочетании с адъювантом Фрейнда, значительно усиливающим иммунный ответ, но имеющим существенный недостаток — появление гранулем на месте инъекции. Исходя из литературных данных, использование липосом в вакцинных композициях не дает таких нежелательных побочных реакций [7, 11]. Это обстоятельство, а также необходимость поиска адъюванта, не влияющего на конформацию вариабельной части антиидиотипических антител (иммуногена), привело нас к изучению возможности использования липосом в качестве безопасного и эффективного средства для усиления иммунного ответа у экспериментальных животных.

Целью настоящей работы является оптимизация условий включения целевого антигена — антиидиотипических антител (Ат2) к морфину в искусственные мембранные везикулы — липосомы в качестве перспективной системы доставки, а также

изучение физико-химических характеристик, получаемых липосом (размер, дзета-потенциал, степень включения), и исследование оказываемого эффекта на усиление и специфичность иммунного ответа *in vivo* на модельном животном организме.

Материалы и методы

Материалы

В данной работе использовались следующие реактивы и материалы («Sigma-Aldrich», США): соевый лецитин, сфингомиелин из куриного яичного желтка, холестерол, хлорид натрия, хлорид калия, гидрофосфат натрия, дигидроортофосфат калия, соляная кислота, гидроксид натрия, а также диэтиловый эфир («Panreac Quimica S. L. U.», США), хлороформ («Panreac Quimica S. L. U.», США). Все растворители и реагенты были аналитической степени чистоты, растворы для подготовки проб готовили с использованием деионизованной воды, полученной на установке для получения глубокообессоленной воды (модель «АКВАЛАБ» УВОИ-МФ-1812, «Медиана-Фильтр», Россия). Для проведения и контроля всего эксперимента применяли оборудование, представленное в табл. 1.

Для включения в липосомы использовали антиген — Ат2 кролика, полученные

на основе первичных моноклональных антител мыши к двум производным морфина — карбоксиметильному (КММ) и гемисукцинильному (ГСМ) эфирам. Ат2 были представлены иммуноглобулинами класса G, полученными ранее из антиидиотипической сыворотки кролика с титром Ат2 1×10^{-5} , истощенной от антимышинных антител с помощью аффинной хроматографии [5].

Методы исследования

Для приготовления искусственных мембранных везикул за основу была взята методика приготовления липосом, содержащих антиген в виде белка, способом дегидратации/регидратации [4]. Данная методика была адаптирована в соответствии с имеющимся оборудованием. Условия формирования фосфолипидной мембраны, получения гомогенной водно-масляной эмульсии с включившейся целевой субстанцией и методом очистки от не включившегося белка описаны в табл. 2. Концентрацию белка определяли в соответствии с методикой, прилагаемой к флуориметру Qubit. Распределение размеров липосом контролировалось с помощью динамического рассеяния света, для чего пробу разбавляли в водной среде 1:15 по объему. Результаты были зафиксированы под углом 90° при $23\text{--}24^\circ\text{C}$ на лазере

Таблица 1. Оборудование, используемое в эксперименте

Table 1. Equipment used in the experiment

Название	Модель	Производитель
Лабораторные аналитические весы	PA-214C	ОHAUS (США)
Ультразвуковой стержневой гомогенизатор	LABSONIC M	Sartorius AG (Германия)
Ультразвуковая ванна Elmasonic S	40H	Elma Schmidbauer GmbH (Германия)
Холодильники с нижней морозильной камерой	XM-6025–031	Атлант (Белоруссия)
Портативный pH-метр	FG2	Mettler Toledo (США)
Анализатор размеров частиц и дзета-потенциала Photocor	Compact-Z	Фотокор (Россия)
Вортекс персональный	V-1 plus	BioSan (Латвия)
Микроцентрифуга	5430R	Eppendorf (Германия)
Ротационный вакуумный концентратор	RVC 2–25 CDplus	Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH (Германия)
Флуориметр	Qubit 3.0	Thermo Fisher Scientific (США)

с длиной волны 658 нм. Полученные данные были обработаны с применением программного обеспечения DynaLS. Измерение дзета-потенциала проводилось методом электрофоретического рассеяния света (анализ доплеровского сигнала) при электрическом поле 10 V/cm и с применением уравнения Смолуховского.

Сбор данных для оценки размеров и дзета-потенциала полученных липосом производили в течение 1-й мин и 30 с соответственно. Анализ полученных результатов с использованием ПО DynaLC проводили по следующим параметрам: диапазон каналов обработки: 40–160, число точек решения 200, многопроходной алгоритм обработки, автоматический поиск границ решения.

Иммуногенность полученных липосомальных препаратов At2 изучали на крысах-самках популяции линий Wistar в воз-

расте около 4-х мес. начальной средней массой 300 г. Схема эксперимента представлена в табл. 3. В каждой группе было по 8 животных. Условия работы с экспериментальными животными соответствовали Приказу Минздрава России № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и директиве ЕС от 22.09.2010 «По охране животных, используемых в научных целях».

Группа 1 была иммунизирована антигеном At2 без адъюванта; группа 5 — с адъювантом; группы 2, 3 и 4 — липосомальными препаратами At2 с размером частиц 110, 240 и 385 нм соответственно. Заборы крови у экспериментальных животных осуществляли прижизненно из бедренной вены. Общий гуморальный иммунный ответ у крыс (антитела к At2) определяли при анализе сывороток крови с помощью непрямого метода ИФА, исполь-

Таблица 2. Условия получения липосом
Table 2. Conditions for obtaining liposomes

Название стадии	Условия	Примечания
Формирование пленки	Пробы упаривались на скорости 1500 об./мин при 35°C в течение 1 ч	Использовали 15 мл пластиковые пробирки
↓		
Ультразвуковая обработка (УЗ стержень)	Диспергирование в течение 15 мин на льду	Рабочая частота — 30 кГц Амплитуда УЗ излучения 100 %
Ультразвуковая обработка (УЗ баня)	Диспергирование в течение 15 мин на льду	Рабочая частота — 37 кГц
↓		
Оценка степени включения	Центрифугирование при 15 000 об./мин в течение 10 мин при комнатной температуре	Измеряли не включившийся белок в очищенном супернатанте

Таблица 3. Схема эксперимента по изучению иммунного ответа у крыс к препаратам At2 с различными адъювантами
Table 3. Scheme of an experiment to study the immune response in rats to Ab2 preparations with various adjuvants

№ группы	Вводимый антиген, (доза, мкг/кг)	Адъюванты	Способ введения препаратов	Забор крови
1	At2, 300 мкг/кг	без адъюванта	I инъекция: п/к в 2 точки вдоль хребта через 14 дней II инъекция: п/к в 2 точки вдоль хребта через 14 дней III инъекция: п/к в 2 точки вдоль хребта	35-й день от начала иммунизации
2		липосомы, размер частиц 110 нм, сфингомиелин с холестерином		
3		липосомы, размер частиц 240 нм, сфингомиелин с холестерином		
4		липосомы, размер частиц 385 нм, сфингомиелин с холестерином		
5		с адъювантом Фрейнда		

зую для адсорбции на твердой фазе исходный антиген — Ат2 к двум производным морфина (КММ и ГСМ), представлявший собой IgG кролика в концентрации 5 мкг/мл. Иммунологическую специфичность образовавшихся третичных (Ат3) антител в сыворотках иммунизированных крыс определяли в ИФА с использованием в качестве антигена на твердой фазе фенилазопроизводного морфина по 2-му атому углерода, конъюгированного с лизоцимом (ФАМ-лиз.) [5].

Результаты и их обсуждение

В результате работы были получены следующие данные, представленные на рис. 1 и 2, в табл. 4.

Приведенные значения демонстрируют узкое распределение по размерам, что свидетельствует о незначительной вариабельности размеров полученных частиц. Сравнение характеристик демонстрирует, что после обработки УЗ стержнем образуются везикулы с наименьшим размером, большим отклонением и процентным выходом по сравнению с обработкой УЗ баней. Концентрация белка в пробах после финальной стадии показывает 50% включение целевого антитела в состав везикул в обоих образцах с отклонением 1%. Анализ двух возможных методов получения липосом свидетельствует о перспективах применения УЗ стержня для формирования везикул. Однако данный

Рис. 1. Графическое представление результата анализа липосом, содержащих антитело, приготовленных с использованием УЗ бани. По оси ординат — амплитуда распределения, по оси абсцисс — гидродинамический радиус частиц (нм).

Fig. 1. Graphical representation of the analysis of antibody-containing liposomes prepared using an ultrasound bath. The ordinate is the distribution amplitude, the abscissa is the hydrodynamic radius of the particles (nm).

Рис. 2. Графическое представление результата анализа липосом, содержащих антитело, приготовленных с использованием УЗ стержня. По оси ординат — амплитуда распределения, по оси абсцисс — гидродинамический радиус частиц (нм).

Fig. 2. A graphical representation of an analysis of liposomes containing an antibody prepared using an ultrasound rod. The ordinate is the distribution amplitude, the abscissa is the hydrodynamic radius of the particles (nm).

Таблица 4. Размерное распределение используемых липосом

Table 4. Size distribution of liposomes used

Показатель	Баня	Стержень
Среднее значение размера целевых липосом, нм	238,1	166,4
Размер, соответствующий максимальной амплитуде пика липосом, нм	250,5	159,1
Стандартное отклонение, нм	34,35	48,22
Нормированный вклад данного размера частиц, %	34,4	77,4

метод имеет следующие недостатки: возможность перехода частиц металла со стержня в целевой раствор, метод становится более затратным по времени и физически при переходе на большое количество проб, возможность контаминации при формировании (плохо очищенный стержень, открытый сосуд с раствором).

Исследование адъювантных свойств полученных липосом показало, что иммунизация крыс липосомальными препаратами антител Ат2 приводит к индукции Ат1-подобного Ат3 иммунного ответа. Полученные Ат3 положительно реагировали с производным морфина — ФАМ-лиз. В группе 3 титр Ат3 антител был 1×10^{-3} , в группах 2 и 5 титры Ат3 антител совпадали и были равны 2×10^{-3} , а в группах 1 и 4 Ат3 обнаруживались в низких титрах — 1×10^{-2} . У крыс, иммунизированных препаратом Ат2 без адъюванта, Ат3 антитела не обнаруживались.

Оценка общего гуморального иммунного ответа на вводимый антиген в группах крыс показала, что усиление иммунного ответа на 35-й день от начала иммунизации происходит у животных только благодаря применяемым адъювантам (табл. 5). Без адъюванта иммунный ответ был слабым, т.е. антитела к Fc-фрагменту IgG, формирующиеся при введении Ат2 кролика, обнаруживались в титре 1×10^{-2} . По-видимому, это

объясняется тем, что IgG кролика не является для крыс сильным иммуногеном ввиду серологического родства иммуноглобулинов этих двух видов животных. На усиление иммунного ответа существенным образом влиял размер липосом. Как было показано ранее [11], размер липосом важен с точки зрения их применения. В некоторых случаях нужны крупные липосомы, когда инкапсулируются частицы, включающие микроорганизмы, такие как бактерии. Однако во многих случаях предпочтительны мелкие липосомы. Это связано с тем, что мелкие липосомы не так быстро удаляются из ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС), как крупные липосомы (с размерами свыше 200 нм). Кроме того, крупные липосомы при их внутримышечной инъекции не способны достичь регионарных лимфатических узлов и доставить к ним вакцины. Так, в наших экспериментах крупные липосомы с размером 385 нм практически не влияли на усиление иммунного ответа. Наилучшие адъювантные свойства продемонстрировали липосомы с размером частиц 110 нм. Титры антител в сыворотках крови экспериментальных крыс были на уровне тех, что и в группе крыс, иммунизированных тем же антигеном, но с применением адъюванта Фрейнда — $3,2 \times 10^{-4}$. Надо также отметить, что использование всех липосом, независимо от их размера,

Таблица 5. Результаты тестирования сывороток крови экспериментальных крыс при проверке адъювантных свойств липосомальных препаратов Am2

Table 5. The results of testing blood sera of experimental rats when checking the adjuvant properties of liposomal preparations of Ab2

№ группы	OD ₄₉₂ (о. е.) *	Вводимый антиген	Титр антител к Ат2
1	0,25	Ат2 кролика без адъюванта	1×10^{-2}
2	1,68	Ат2 кролика в липосомах 110 нм	$3,2 \times 10^{-4}$
3	0,94	Ат2 кролика в липосомах 240 нм	8×10^{-3}
4	0,73	Ат2 кролика в липосомах 385 нм	4×10^{-3}
5	2,06	Ат2 кролика с адъювантом Фрейнда	$3,2 \times 10^{-4}$

Примечание: * — в таблице представлены средние значения OD₄₉₂ для каждой группы, соответствующие разведению сывороток крови крыс 1:1000. В качестве контроля использована сыворотка крыс до иммунизации. OD₄₉₂ в контроле была 0,07 о. е.

Note: * — the table shows the average OD₄₉₂ values for each group corresponding to a dilution of rat blood serum 1:1000. Serum of rats before immunization was used as a control. OD₄₉₂ in the control was 0.07 ou.

не давало побочных эффектов — гранулем на месте инъекции. В случае применения адьюванта Фрейнда в местах подкожных инъекций у крыс наблюдались гранулемы.

Выводы

1. Сравнение двух методов формирования липосом с помощью УЗ стержня и УЗ бани показало, что каждый метод имеет свои достоинства и недостатки. УЗ баня демонстрирует стабильность по показателям размерности и заряда, при этом процентное содержание сформированных липосом относительно низкое, а среднее значение величины липосом находится на верхней границе допустимого для нашего эксперимента. УЗ стержень характеризуется хорошими показателями размерности и процентного содержания везикул, но отличается низким показателем стабильности и нейтральным зарядом.

2. Показано, что формирование липосом методом дегидратации/регидратации с использованием ультразвуковой (УЗ) обра-

ботки позволяет создать липосомы малого размера (до 385 нм) с отрицательным значением дзета-потенциала.

3. Впервые показано, что введение антиидиотипических (At2) антител к производным морфина в липосомы малого размера (110 нм) способствует усилению иммунного ответа у грызунов.

4. Установлено, что с увеличением диаметра липосом от 110 до 240 нм титр специфических третичных (At3) антител в результате иммунизации уменьшается в два раза. Более крупные липосомы диаметром 385 нм не обладают адьювантным действием. Мелкие липосомы размером 110 нм проявляют адьювантные свойства, аналогичные действию адьюванта Фрейнда.

5. Использование липосомированных антиидиотипических антител к двум производным морфина при вакцинации крыс не дает побочных эффектов в виде гранулем на месте введения, что является выгодным отличием от вакцин с применением адьюванта Фрейнда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Аверина Е.С., Бодоев Н.В., Жамсаранова С.Д., Ламажанова Г.П., Раданаева Л.Д. Иммуномоделирующая активность липосомальных средств, полученных из концентратов жира байкальской нерпы. *Вестник новых медицинских технологий*. 2003;X(3):84–86. [Averina E.S., Bodoev N.V., Zhamsaranova S.D., Lamadzhanova G.P., Radanayeva L.D. Immunomodulatory activity of liposomal funds derived from fat concentrates of the Baikal Nerze]. *Vestnik novykh medicinskih tekhnologij* [Bulletin of new medical technology]. 2003;X(3):84–86. (In Russian)].
2. Гамалея Н.Б., Берзина А.Г., Шестаков К.А., Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О., Фокин Ю.В. Иммуноген для лечения и профилактики зависимости от опиатов. Патент РФ № 2548802, 2015. [Gamaley N.B., Berzina A.G., Shestakov K.A., Kapanadze G.D., Revyakin A.O., Fokin Yu.V. Immunogen dlya lecheniya i profilaktiki zavisimosti ot opiatov [Immunogen for the treatment and prevention of opiate dependence]. Patent RF No. 2548802, 2015. (In Russian)].
3. Горяев А.А., Савкина М.В., Обухов Ю.И., Меркулов В.А., Олефир Ю.В. ДНК- и РНК- вакцины: современное состояние, требования к качеству и особенности проведения доклинических исследований. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(2):72–80. [Goryaev A.A., Savkina M.V., Obukhov Yu.I., Merkulov V.A., Olefir Yu.V. DNK- i RНК- vakciny: sovremennoe sostoyaniye, trebovaniya k kachestvu i osobennosti provedeniya doklinicheskikh issledovaniy [DNA and RNA Vaccines: Current Status, Quality Requirements and Specific Aspects of Preclinical Studies]. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [BIO-preparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]. 2019;19(2):72–80. (In Russian)].
4. Кэтти Д., Райкундалия Ч., Браун Дж., Линг Н.Р. *Антитела. Методы*. Кн. 1: Пер. с англ. М.: Мир, 1991:287. [Kathy D., Raikundalia Ch., Brown J., Ling N.R. *Antitela, metody* [Antibodies. A practical approach]. Vol. 1. Transl. from English. Moscow: Mir Publ., 1991:287]. (In Russian)].
5. Трофимов А.В., Атанесян В.А., Ищенко А.М., Карабанова Е.А., Рак А.Я. Симбирцев А.С., Гамалея Н.Б., Берзина А.Г., Станкова Н.В., Капанадзе Г.Д., Ульянова Л.И., Климова Т.А. Получение поликлональных и моноклональных антиидиотипических антител к морфин-специфическим иммуноглобулинам. *Медицинская им-*

- мунология. 2020;22(1):187–196. [Trofimov A.V., Atanesyan V.A., Ischenko A.M., Karabanova E.A., Rak A.Ya., Simbirtsev A.S., Gamaleya N.B., Berzina A.G., Stankova N.V., Kapanadze G.D., Ulyanova L.I., Klimova T.A. Poluchenie poliklonal'nykh i monoklonal'nykh antiidiotipicheskikh antitel k morfin-spetsificheskim immunoglobulinam [Preparation of polyclonal and monoclonal anti-idiotypic antibodies against morphine-specific immunoglobulins]. *Meditsinskaya immunologiya [Medical Immunology]*. 2020;22(1):187–196. (In Russian)].
6. Briuglia M.-L., Rotella C., McFarlane A., Lamprou D.A. Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release. *Drug Delivery and Translational Research*. 2015;5(3):231–242.
 7. Janine K.T., Tyler J.A., Saikat M., Brittany A.M., Rachel C.S., Esser-Kahn A.P. Applications of immunomodulatory immune synergies to adjuvant discovery and vaccine development. *Trends in Biotechnology*. 2018;10(004):1–16.
 8. Laouini A., Jaafar-Maalej C., Limayem-Blouza I., Sfar S., Charcosset C., Fessi H. Preparation, characterization and applications of liposomes: State of the art. *J. of Colloid Science and Biotechnology*. 2012;1(2):147–168.
 9. Olusanya T.O.B., Haj A.R.R., Ibegbu D.M., Smith J.R., Elkordy A.A. liposomal drug delivery systems and anticancer drugs. *Molecules*. 2018;23(4):907. DOI: 10.3390/molecules23040907.
 10. Pathak S.K., Mishra R., Kumar S., Prakash G., Parthasarthy R. Effect of cholesterol concentration on size of liposome. *J. of Pharmacy and Biological Sciences*. 2012;1(1):50–53.
 11. Zahednezhad F., Saadat M., Valizadeh H., Zakeri-Milani P., Baradaran B. Liposome and immune system interplay: Challenges and potentials. *J. of Controlled Release*. 2019;305:194–209.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Берзина Ася Григорьевна*, к.б.н., ФГБУ «Национальный медицинский научно-исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: berzina07@mail.ru

Климова Татьяна Андреевна, к.б.н., ФГБУ «Национальный медицинский научно-исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России

Гамалея Наталия Борисовна, д.м.н., проф. ФГБУ «Национальный медицинский научно-исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: natgam@mail.ru

Агельдинов Руслан Андреевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»; ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»;
e-mail: ageldinov@gmail.com

Кузнецов Александр Евгеньевич, к.т.н., ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»;
e-mail: akuz@muctr.ru

Vladislav N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Asya G. Berzina*, Cand. Sci. (Biol.), V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: berzina07@mail.ru

Tatiana A. Klimova, Cand. Sci. (Biol.), V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia

Natalia B. Gamaleya, Dr. Sci. (Med.), Prof., V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: natgam@mail.ru

Ruslan A. Ageldinov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia; Mendelev University of Chemical Technology of Russia;
e-mail: ageldinov@gmail.com

Alexander E. Kuznetsov, Cand. Sci. (Tech.), Mendelev University of Chemical Technology of Russia;
e-mail: akuz@muctr.ru

Корсун Ирина Сергеевна, ФГБОУ ВО
«Российский химико-технологический универ-
ситет имени Д.И. Менделеева»;
e-mail: irinakorsyn@list.ru

Нестеров Максим Сергеевич, ФГБУН
«Научный центр биомедицинских технологий
ФМБА России»
e-mail: mdulya@gmail.com

Ульянова Людмила Ивановна, д.б.н., ФГБУ
«Национальный медицинский научно-исследо-
вательский центр психиатрии и наркологии име-
ни В.П. Сербского» Минздрава России;
e-mail: oulyanova.46@mail.ru

Irina S. Korsun, Mendeleev University
of Chemical Technology of Russia;
e-mail: irinakorsyn@list.ru

Maksim S. Nesterov, Scientific Center
of Biomedical Technologies of the Federal Medical
and Biological Agency of Russia;
e-mail: mdulya@gmail.com

Lyudmila I. Ulyanova, Dr. Sci. (Biol.), V. Serbsky
National Medical Research Centre for Psychiatry
and Narcology of the Ministry of Health Care of
Russia;
e-mail: oulyanova.46@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author