

УДК 615.371:57.083.2

Abstract**Davidova T.V.,*****Volianskiy A.Yu.***State Institution "Institute of
Microbiology and Immunology
named after II Mechnikov NAMS
Ukraine "**14-16 Pushkinskaya street,
Kharkov, 61052, Ukraine***NEW APPROACHES TO THE DEVELOPMENT OF
LIPOSOMAL VIRAL VACCINES**

Liposomal technology vaccine delivery is currently experiencing a new renaissance. Liposomes (phospholipid vesicles with bilayer) is a versatile and reliable systems of antigens delivery to induce antibodies and T lymphocytes. Over the past 15 years, improved technology liposomal vaccines and today several vaccines containing liposomes with adjuvants approved or have reached the last stage of clinical evaluation. With this in mind, we have provided a systematic review of physical and chemical factors that should be considered designing liposomal vaccines. The overall analysis of the literature clearly shows that these factors (size, charge, composition, method of attachment of the antigen) have significant implications for the potential immunogenicity of the drug and should be carefully chosen. Despite the tendencies of associative connection biophysical parameters vesicles of immunogenicity, the interconnectedness of various biophysical factors determines need to optimize some specific compositions for vaccination programs for each. Although a large number of literary references describes the importance of biophysical parameters of liposomal formulations for the exercise of their specific immunogenicity, many important questions remain unanswered. At the cellular level is not clear how lipid substances affect the processing of the antigen and its presentation? Little is known about the cellular distribution of lipid modified peptides.

Further research is needed to determine mechanistic basis adjuvant action of cationic lipids and liposomal formulations in general. Given the versatility of liposomal carriers and their ability to simultaneous operation of several molecules adjuvants, liposomes seemingly ideal system model to study the phenomenon of synergism in great detail in vitro and in vivo.

Keywords: vaccines, liposomes, immunogenicity.**Corresponding author:** * kanajadas@gmail.com

Резюме**Давидова Т.В.,
Волянський А.Ю.***ДУ "Інститут мікробіології та
імунології ім. І.І. Мечникова
НАМН України",
вул. Пушкінська, 14-16, Харків,
61052, Україна***НОВІ ПІДХОДИ ДО СТВОРЕННЯ ЛІПОСОМАЛЬНИХ
ВІРУСНИХ ВАКЦИН**

Ліпосомальні технології доставки вакцини в даний час переживають своє нове відродження. Ліпосоми (везикули з фосфоліпідного бішару) є універсальними і надійними системами доставки антигенів для індукції антитіл і Т-лімфоцитів. За останні 15 років удосконалено технології ліпосомальних вакцин і, на сьогоднішній день, декілька вакцин, що містять ліпосоми з ад'ювантами, були схвалені для використання або досягли останньої стадії клінічної оцінки. Враховуючи це, ми надали систематичний огляд фізико-хімічних факторів, які слід враховувати при проектуванні ліпосомальних вакцин. Загальний аналіз літератури переконливо доводить, що ці фактори (розмір, заряд, склад, спосіб прикріплення антигену) мають значущі наслідки для потенційної імуногенності препарату і повинні бути ретельно підібрані. Незважаючи на визначені тенденції асоціативного зв'язку біофізичних параметрів везикул з імуногенністю, взаємопов'язаність різних біофізичних чинників визначає необхідність оптимізувати окремі композиції для конкретних програм вакцинації окремо для кожної. Хоча велика кількість літературних посилань описує важливість біофізичних параметрів ліпосомальних композицій для прояву їх специфічної імуногенності, багато важливих питань залишаються без відповіді. На клітинному рівні не зрозумілим залишається питання про те, як ліпідні речовини впливають на обробку антигену та його презентації? Мало відомо про клітинний розподіл ліпідів модифікованих пептидів. Необхідні подальші дослідження, щоб з'ясувати механістичну основу ад'ювантної дії катіонних ліпідів і ліпосомальних композицій в цілому. Враховуючи універсальність ліпосомальних носіїв і їх здатність до одночасного включення декількох молекул ад'ювантів, ліпосоми, здавалося б, ідеальна система моделі для вивчення явища синергізму в найдрібніших подробицях в пробірці і в природних умовах.

Ключові слова: вакцини, ліпосоми, імуногенність**Резюме****Давыдова Т.В.,
Волянский А.Ю.***ГУ "Институт микробиологии и
иммунологии им. И.И. Мечникова
АМН Украины",
ул. Пушкинская, 14-16, Харьков,
61052, Украина***НОВЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ
ВИРУСНЫХ ВАКЦИН**

Липосомальные технологии доставки вакцины в настоящее время переживают свое новое возрождение. Липосомы (везикулы с фосфолипидного бислоя) являются универсальными и надежными системами доставки антигенов для индукции антител и Т лимфоцитов. За последние 15 лет усовершенствована технологии липосомальных вакцин и на сегодняшний день несколько вакцин, содержащих липосомы с адьювантами, были одобрены для использования или достигли последней стадии клинической оценки. Учитывая это, мы предоставили систематический обзор физико-химических факторов, которые следует учитывать при проектировании липосомальных вакцин. Общий анализ литературы убедительно доказывает, что эти факторы (размер,

заряд, состав, способ прикрепления антигена) имеют значимые последствия для потенциальной иммуногенности препарата и должны быть тщательно подобраны. Несмотря на определенные тенденции ассоциативной связи биофизических параметров везикул с иммуногенностью, взаимосвязанность различных биофизических факторов определяет необходимость оптимизировать отдельные композиции для конкретных программ вакцинации отдельно для каждой. Хотя большое количество литературных ссылок описывает важность биофизических параметров липосомальных композиций для проявления их специфической иммуногенности, многие важные вопросы остаются без ответа. На клеточном уровне непонятным остается вопрос о том, как липидные вещества влияют на обработку антигена и его презентацию? Мало известно о клеточном распределении липидов модифицированных пептидов. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы выяснить механистическую основу адьювантного действия катионных липидов и липосомальных композиций в целом. Учитывая универсальность липосомальных носителей и их способность к одновременному включению нескольких молекул адьювантов, липосомы, казалось бы, идеальная модельная система для изучения явления синергизма в мельчайших подробностях в пробирке и в естественных условиях.

Ключевые слова: вакцины, липосомы, иммуногенность

Автор, відповідальний за листування: * kanajadas@gmail.com

Вступ

Ліпосоми (везикули з фосфоліпідного бішару) є універсальними і надійними системами доставки антигенів для індукції антитіл і Т- лімфоцитів. За останні 15 років удосконалено технології ліпосомальних вакцин і на сьогоднішній день декілька вакцин, що містять ліпосоми з ад'ювантами, були схвалені для використання або досягли останньої стадії клінічної оцінки. Враховуючи посилення інтересу до ліпосомальних вакцин, важливо розуміти, як саме ліпосоми взаємодіють з імунною системою і стимулюють імунітет. Зрозуміло, що фізико-хімічні властивості ліпосомальних вакцин - метод введення антигену, ліпідного складу, двощарова мембрана, заряд частинки та інші властивості мають значний вплив на результат імунної відповіді.

Субодиничні вакцини є більш популярними, оскільки вони забезпечують безпечність і можуть бути виготовлені з мінімальним ризиком забруднення [1, 2]. У поєднанні з відповідними ад'ювантами їх також можна зфокусувати на специфічну імунну відповідь [3, 4].

Ліпосомальні вакцини, що використовуються для профілактики хвороб людей

Солі алюмінію найбільш широко використовуються як ад'юванти вакцин, про їх використання вперше повідомляється в 1926 році [5], і до 2009 року вони були єдиним ад'ювантом, схваленим для використання в США, пошук альтернативних ад'ювантів триває до сьогодні [6]. З численних видів систем доставки антигенів, які були розроблені, для заміни гідроокису алюмінію та його гелів серед емульсій було обрано фосфоліпідний бішар (ліпосоми) як один з найбільш перспективних. Грегоріадис та Елісон вперше повідомили про використання ліпосом в якості імунологічних ад'ювантів в 1974 р. [7, 8]. З того часу ліпосоми та пов'язані з ними везикулярні носії були обрані як надійні системи для індукції гуморального і клітинного імунітету до широкого спектру інфекційних захворювань і раку [9-11].

В даний час принаймні 8 ад'ювантів на основі ліпосом схвалені для використання у клініці або проходять клінічні випробування. Зокрема, віросоми, що складаються з

компонентів мембран вірусу грипу (ліпідів та глікопротеїнів) з додаванням фосфатидилхоліну, використовуються як компоненти ліцензованих грипозної та гепатитної вакцин з 1997 року [12-15]. Наприклад, Інфлексал, віросомальна вакцина проти грипу, продається у 43 країнах у кількості більше, ніж 60 мільйонів доз. Розроблені також ліпосомальні вакцини, що складаються з більш традиційних компонентів (1,2-діацил-гліцеро-3-фосфохолін (ФХ); фосфатидилгліцерин, 1,2-діацил-гліцеро-3-фосфогліцерол (ФГ); холестерин), і використовуються для терапії недрібноклітинного раку легень (Стимулвакс, Онкотеріон) і профілактики малярії (РТС, Глаксосмітклайн) [16-19]. Дослідження і розробка ліпосомальних вакцин значно активізувалися в останні 10 років.

Переваги системи ад'ювантів на основі ліпосом

Найголовнішою перевагою ліпосом є їх безпечність і добра переносність, як показало використання затверджених на основі ліпосом протиракових та антиінфекційних препаратів, таких як Доксіл (Джонсон і Джонсон) і Володі (Гілеад Сайнсес) [20-22]. Крім того, численні випробування на людині ліпосомальних вакцин-кандидатів продемонстрували прийнятно низьку реактогенність [12-19,23,24]. Оскільки ліпосоми часто складаються з ліпідів, які зустрічаються в природі в клітинних мембранах, таких як фосфотидилхолін та холестерин, вони легко розщеплюються в організмі. Іншою ключовою перевагою систем доставки вакцинних антигенів на основі ліпосом є їх універсальність. Ліпідні компоненти і методи отримання везикулярних препаратів можуть бути пристосовані для досягнення конкретних бажаних фізико-хімічних властивостей ліпосом [25]. Гідрофільні молекули можуть бути інкапсульовані у водному внутрішньому просторі або кон'юговані з поверхнею мембрани, тоді як гідрофобні сполуки можуть бути інтеркальовані в ліпідний бішар [26]. Ця пластичність дозволяє антигенам всіх типів, у тому числі пептидам, білкам, вуглеводам, нуклеїновим кислотам і невеликим молекулам гаптенів бути включеними в ліпосомні композиції з відповідними змінами властивостей молекули для пристосування розміру антигену та заряду. Сполучення імуномодуляторів, таких як агоніст Тол-

подібного рецептору (ТПР) та агоніст іншого рецептору розпізнавання (ПРР), можуть бути легко поєднані в ліпосомах.

Архетипи ліпосомальних вакцин

Ліпосоми і композиції наночасточок на ліпідній основі, що використовуються для вакцинації, в загальних рисах можна розділити на кілька архетипів. Звичайні та катіонні ліпосоми, що складаються з нейтральних або катіонних ліпідів, в тому числі холестерину, були найбільш широко вивчені і забезпечили максимальну універсальність - бажані параметри композиції можуть бути досягнуті шляхом модифікації ліпідного складу або препарату везикул вказаними методами [11,13,25,26]. Для доставки ДНК-плазмиди, яка може діяти і як антиген (через кодовані білки), та ад'юванта (шляхом стимуляції ТПР9 через ЦФГ нуклеотиди), нуклеїнову кислоту звичайно змішують з катіонними ліпідами, щоб сформувати електростатичний комплекс [27]. Великі ліпосоми можуть бути отримані шляхом конденсації ДНК з полікатіоном перед додаванням попередньо сформованих мілких ліпосом, що в деяких випадках призводить до утворення двошарової структури, яка оточує ДНК-полікатіонний комплекс [28]. Віросоми, як вже згадувалося в попередньому розділі, являють собою особливий клас ліпосом і отримують їх з відновлених мембран вірусів грипу [29,30]. Фізико-хімічні особливості віросом обмежуються їх складом та способом приготування, але ці ліпосоми вельми корисні як система доставки (ефективно зв'язуються з клітинами, інтерналізуються та вивільняються в цитозолі) та, враховуючи схожість на природний вірус грипу, викликають збільшення імунної відповіді на вакцинальний препарат. Серед інших спеціалізованих ліпосом можна назвати археосоми (отримані з полярних гліцероліпідів, екстрагованих з *Archaea*), які за своєю природою є імуностимуляторами, та ніосоми (неіонні поверхнево-активні речовини з холестерином), які були розроблені для місцевої доставки [31-33].

Методи включення антигенів

Одним з найбільш важливих параметрів, які впливають на імуногенність ліпосомальної вакцини, є метод, при якому антиген буде фізично або хімічно зв'язаний з лікарською формою. Найбільш поширені режими їх отримання включають поєднання ковалентної кон'югації ліпиду (або до, або після утворення

везикул), нековалентне зв'язування з поверхнею (через біотин, нітрilotриацетову кислоту-Ni(II)-Гіс6 (НТА-Ni(II)-Гіс6) або антитіло-епітоп взаємодію), інкапсуляцію та поверхневу адсорбцію (рис. 1). Багато хто з ранніх дослідників порівнював антигенність ліпосомальних пептидів і білків у мишей та інкапсульованих антигенів, кон'югованих з поверхнею попередньо сформованих ліпосом. У сукупності ці дослідження підтвердили, що і перші, і другі, як зазвичай, ефективні для індукції антитіл і Т-клітинної відповіді [34-36]. У деяких випадках ковалентні зв'язки між антигеном та мембраною призводять до підвищення рівня утворення антитіл [37-41], оскільки рецептори В-клітин можуть розпізнавати нативні антигени на поверхні

ліпосом [41]. Окрім того, розмір та просторова конфігурація антигену при кон'югації зменшується, поверхня сполучення для розпізнавання та індукції антитіл стає більш вираженою. Синтетичні пептиди, в яких поверхня сполуки забезпечує високу імунну відповідь при інкапсуляції, включають солі, отримані з вірусних (gp120 ВІІ-1, глікопротеїн D HSV) та пухлинних (MUC1) антигенів [37,41-44].

Допоміжні та цитотоксичні Т-клітини більш активно відповідають на ліпосомальні антигени також, коли антиген кон'юговано з поверхнею везикули у порівнянні з інкапсульованим у водному внутрішньому просторі, але перевага такого методу не настільки велика, як спостерігається для індукції антитіл. [39-45].

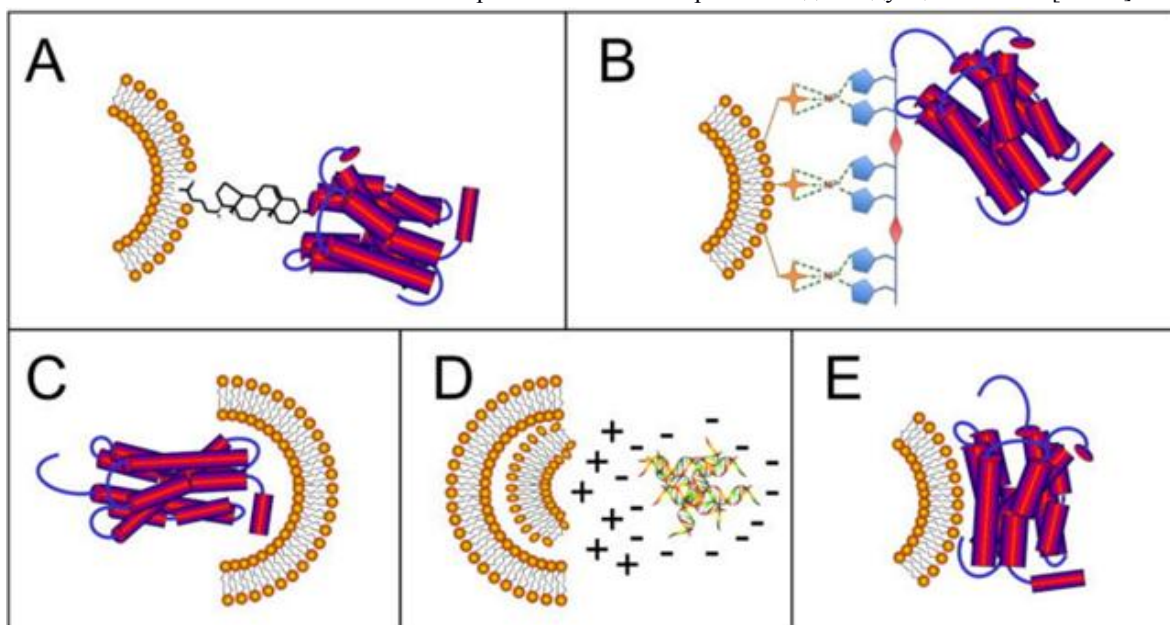


Рисунок 1.

Варіанти пристосування антигену до ліпідних наночастинок.

Антигени можуть бути (А) ковалентно кон'юговані з ліпосомальною поверхнею через ліпідний посередник (наприклад, як показано, холестерин), (В) нековалентно прикріплені до поверхні (як наприклад, НТА-Ni(II)-Гіс6 як показано на рисунку), (С) інкапсульовані у внутрішнє середовище ліпосом, (D) електростатично зв'язані ліпідами через протилежні заряди, чи (Е) адсорбовані на ліпосомальній поверхні або інтегровані в ліпосомальну мембрану (За Douglas S. Watson, Aaron N. Endsley, and Leaf Huang, *Vaccine*. 2012 March 16; 30(13): 2256–2272)

Пальмітоїляція збільшувала Е7-специфічну ЦТЛ-відповідь у 2 рази в порівнянні з некон'югованим пептидом [41,42,46].

Для ковалентно кон'югованих пептидних і білкових антигенів характер хімічного зв'язку і структура ліпідного носія може також впливати на величину імунної реакції. Було виявлено, що овальбумін (ОВА), кон'югований з ліпосомами за допомогою аміногрупи (через залишок

глутарового альдегіду або дисукцинимідилу суберату (ДСС)) викликали продукцію анти-ОВА IgG, але не IgE, в сироватці мишей [47]. На протипагу цьому, ОВА, кон'юговані за допомогою ліпосом з меркаптанами або похідними амінів, викликали індукцію сироваткових анти-ОВА IgE, які корелюють з рівнем ІЛ-4. Окрім того, різні види хімічного зв'язку з похідними пептидних або білкових

антигенів можуть бути використані в одному вакцинному препараті. Як показано дослідженнями, ліпосоми забезпечують достатньо імуногенність в тому сенсі, що хімічний зв'язок між гаптеновим антигеном та Т-хелперним епітопом не є обов'язковим для індукції Т-залежної імунної відповіді в тому разі, якщо обидва, гаптени і Т-хелперний епітоп, спільно введені до ліпосом [48,49]. В іншому випадку послідовно кон'югували два тіолвміщуючі пептиди до ліпосом – Т-хелперний епітоп, з'єднаний з малеїмід-функціоналізованими ліпідами при рН 6,5, та В-клітинний епітоп, прикріплений до бромацитильованих ліпідів 1,2-дипальмітолгліцеро-3-фосфоетаноламін (ДПФЕ) після доведення рН цієї композиції до 9,0 [50]. При цьому було досліджено, що зміна носія Т-хелперного епітопу з Pam3Cys-Ala-Gly на ДПФЕ-ПЕГ3 призвела до значного зниження піку титрів антитіл та до зниження більш швидкими темпами їх концентрації з плином часу, що підкреслює важливість TLR2-активації фрагментом Pam3Cys. Для самостійного ад'ювантного ліпопептидного носія, такого як Pam3Cys, необхідно подбати, щоб схема зв'язку не порушувала імуностимулюючих властивостей носія [51]. Слід зазначити, що потреба в ковалентному зв'язку зникає, якщо ліпопептидні кон'югати підготовлені до утворення ліпосом.

Структура ковалентних ліпідних носіїв є критичним параметром для індукції максимального титру антитіл до пептидних антигенів [52-53].

Електростатичні взаємодії на поверхні адсорбції - це ще один корисний метод для асоціації ліпосомальних антигенів, в першу чергу білків [54-57]. Проте, адсорбція не була всебічною у порівнянні з іншими видами везикулярних вакцин.

Існують ще дві не повністю досліджені стратегії кон'югації антигену - ліпосоми зі зв'язком авідин-біотин та посттрансляційна ліпідизація рекомбінантних білків (через глікофосфатидилінозитол, наприклад [58]).

Розмір везикул і двошарової структури є важливими факторами в ліпосомальній конструкції вакцини. Ламелярність везикул також може впливати на імунну відповідь на ліпосомальні антигени [59].

Кілька дослідників безпосередньо порівнювали антиген - специфічні імунні

відповіді, що викликаються позитивно зарядженими, негативно зарядженими і нейтральними ліпосомальними композиціями. Композиції, що містять заряджені везикули (позитивні чи негативні) викликали більшу нейтралізуючу здатність у антитіл (специфічність, авідність), а ніж нейтральні везикули, але різниця між позитивними і негативними композиціями була мінімальною. Позитивно заряджені везикули також індукували найбільший рівень сироваткових IgG1 проти OVA, тоді як негативно заряджені ліпосоми і нейтральні ліпосоми індукували слабкий як гуморальний, так і клітинний імунітет. Інші дослідники встановили, що тільки позитивно заряджені везикули викликали значну CTL відповідь на другу модель антигену β - галактозидази [60]. Автори пояснюють це спостереження великою кількістю цитоплазматичних білків інкапсульованих в катіонні суміші, що було підтверджено дослідженнями на культурах клітин.

Мембранна плинність

Вплив ліпідів як рідких кристалів, вплив температури переходу і мембранно- фазової поведінки ліпосомальних антигенів на імунну відповідь були широко досліджені в різних модельних системах [61]. Збільшення вмісту ліпідів з високою температурою переходу в композиції в процесі розробки збільшили імунну відповідь майже в 4 - рази починаючи з ~ 50 % DSPC [62-65].

Фузогенність (тропність)

Включення певних ліпідів надає ліпосомній композиції здатність зливатися з плазматичною мембраною або ендосомними мембранами клітини, вивільняючи пов'язаний вантаж в цитозоль. Ліпосоми як гібридні частинки вірусу можуть зливатися з плазматичною мембраною безпосередньо (віросоми добре охарактеризовані), тоді як рН - чутливі композиції здатні селективно руйнуватися в кислому середовищі та вивільняти свій вантаж в середовищі з чіткою рН [66-67]. Фузогенність чи тропність була широко використана для підвищення ефективності носіїв опосередкованої доставки генів [68-69]. Таким чином, окрім клітинного і тканинного зв'язування катіонні композиції значно підвищують імуногенність в порівнянні з аніонними або незарядженими композиціями [70]. Тим не менш, потужний потенціал імуностимулюючих ЛПС і інших компонентів

мембрани кишкової палички не були враховані. Інші дослідники показали імуностимулюючий потенціал ліпідних екстрактів, виділених від вірусів [71] або грибів [72], з акцентуванням уваги на збільшенні фузогенності ліпосом, але без достатнього розгляду інших факторів.

Нові імуностимулюючі ліпіди

Класичні агоністи TLR і NLR поряд з MPL, MDP, CpG та полі (I : C), використовувалися як компоненти ліпосомальних вакцин протягом десятиліть. Ми акцентуємо увагу на інших ліпофільних молекулах, які привернули до себе увагу останнім часом в якості кандидатів для включення в якості імуномодуляторів у ліпосомальній вакцині як окремо так і поряд з іншими імуномодулюючими препаратами.

Один із перспективних напрямків в останні роки розвитку ліпосомальних вакцин є виявлення конкретних ад'ювантів серед катіонних ліпідів, які були спочатку синтезовані як реагенти трансфекції [73-75]. Вітамін А та його метаболіти, в першу чергу транс-ретиноева кислота (ATRA), є унікальною молекулою, що надає ліпосомам плейотропного імуотропного ефекту. ATRA грає ключову роль в індукції імуносупресії через регуляторні T-клітини [76] з одного боку, та впливає на імунітет кишечника шляхом активації кишечних лімфоцитів та індукції секреції слизовими оболонками імуноглобулінів IgA з іншого боку [77].

Здатність ендогенних ліпідів до модуляції імунітету звертає до себе все більшу увагу дослідників. Насичені і поліненасичені жирні кислоти мають взаємний вплив на дендритні клітини *in vitro*, та сприяють прозапальним сигналам за допомогою декількох механізмів [78]. Серед інших ендогенних ліпідів з імуномодулюючою активністю слід виділити фосфатидилсерин і лізофосфоліпіди.

Механістична основа імуногенності ліпосом

Вплив параметрів композиції ліпосом на імуногенність можна розглядати в контексті кроків, необхідних для поглинання антигену, доставки, переробки та презентації.

Доставка ліпосомальних антигенів з місця ін'єкції

Параметри композиції грають важливу роль у збереженні антигенів ліпосом в місці ін'єкції і наступного обміну антигену в лімфатичних вузлах, що в свою чергу впливає на величину антиген - специфічної імунної відповіді. Цікаво, що розмір везикул практично ніяк не впливає на частку радіоактивної дози маркерних ліпідів, які накопичуються в регіонарних лімфатичних вузлах [79].

Поглинання та перетравлювання ліпосомальних антигенів

В багатьох дослідженнях було показано, що інкапсульовані і поверхнево-зв'язані ліпосомальні антигени викликали практично однакову T-клітинну відповідь, але незначно збільшувалася опосередкована індукція синтезу антитіл при використанні саме ліпосом з поверхневими антигенами [38-41]. Це може бути викликано кращою взаємодією кон'югованого антигену, що розташований на поверхні частки на антитіла або з B-клітинним рецептором (BCR) розпізнавання, тоді як інкапсульований антиген вимагає деякої ступені обробки або руйнування везикул, та доступним для розпізнавання становиться не одразу та не в первинному вигляді [41, 80]. Для асоційованих поверхневих антигенів, які B-клітини можуть розпізнавати недоторканими безпосередньо або через опсонізовані ліпосоми за допомогою Fc-рецепторів або рецепторів комплементу на антигенпрезентуючих клітинах [81]. Ліпосоми та адсорбовані на них поверхневі білки (імуноглобуліни) також впливають на внутрішньоклітинну обробку і представлення клітинних епітопів антигену всередині клітини (рис. 2). Катіонні ліпосоми захватувалися макрофагами і дендритними клітинами більш ефективно, ніж нейтральні або аніонні ліпосоми через електростатичну взаємодію з аніонною плазматичною мембраною [82, 83]. Цей ефект може пояснити посилення імуностимулюючих властивостей деяких катіонних ліпідів, які сприяють фагоцитозу. При високій щільності заряду, аніонні везикули також засвоюються більшою мірою, а ніж нейтральні за зарядом везикули, ефект іноді приписують рецепторам поглинання [84].

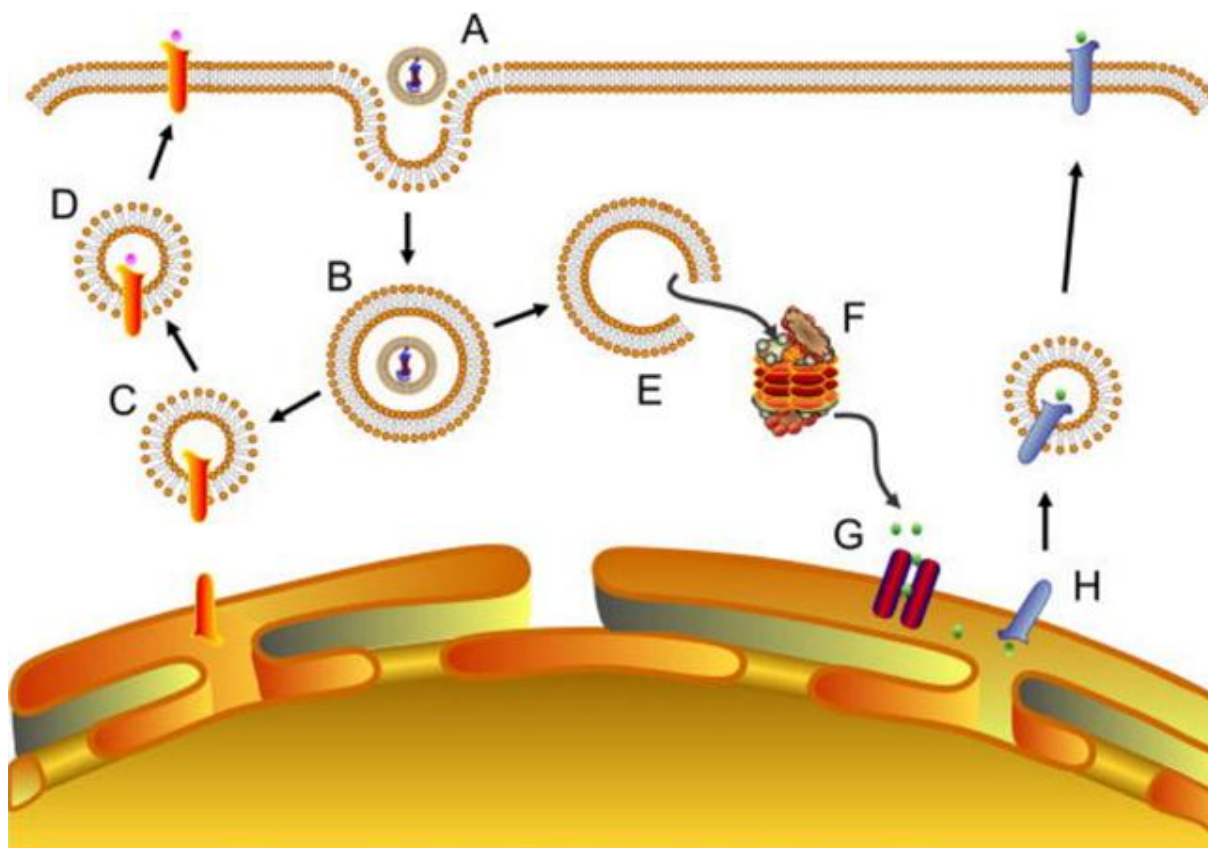


Рисунок 2.

Внутрішньоклітинний процесінг ліпосомальних антигенів.

Процес взаємодії антигенів, що були включені у ліпосоми, в клітині складається з: (А) зв'язування з клітиною, (В) інтерналізацію, (С) фузію з органелами, що містять МНС II-комплекс, (D) завантаження на МНС II молекули та транспортування до місця презентації антигену, (Е) вивільнення антигену з ендосом до цитозолю, (F) деградація протеасом, (G) транзит антигену до ендоплазматичного ретикулу та (H) перенесення антигену за допомогою МНС II на клітинну поверхню. (За Douglas S. Watson, Aaron N. Endsley, and Leaf Huang, *Vaccine*. 2012 March 16; 30(13): 2256–2272)

Додатковою перевагою катіонних ліпосом є збільшення цитозольної доставки через порушення ендосомальної та фагосомальної мембран [85].

Було показано, що доставка ліпосом у цитозоль збільшує презентацію антигенів МНС II *in vitro* [86, 87], а також збільшує антиген - специфічну Т- клітинну відповідь в природних умовах [67], в порівнянні з нефузогенним складом ліпосомальних мембран.

Ковалентна кон'югація ліпідів з епітопами Т-клітин також сприяє направленню антигену по внутрішньоклітинним шляхам таким чином, що збільшує його презентацію на МНС II комплексі. Пальмітоїльовані N- кінцем МНС II епітопи сприяли ефективному ендоцитозу ліпосом, потім гарно були оброблені і представлені на CD8 Т- клітинах [88-90].

Ліпідизація також збільшувала акумуляцію пептидів в апараті Гольджі [90].

Принципи дизайну ліпосомальних вакцин

Дизайн ліпосомальних вакцин, згідно сучасним літературним даним, складається з кількох основних керівних принципів. По-перше, біофізичні параметри ліпосомальної композиції є важливими детермінантами антиген - специфічних імунних відповідей, які викликаються вакциною цього типу, навіть у присутності потужних імуностимуляторів, таких як MPL. Крім того, антигени повинні бути фізично пов'язані якоюсь мірою з ліпосомальною матрицею зазвичай за допомогою ковалентної кон'югації, інкапсуляції або адсорбції, для досягнення оптимальної імунної відповіді. Різні методи включення антигену до ліпосоми впливають на розміри

імунної відповіді, але зазвичай не впливають на якість відповіді (наприклад ТН1 проти ТН2).

Що стосується інших параметрів при проектуванні ліпосомальних вакцин, то якщо везикули складаються із ліпідів з більш високою температурою переходу гель - рідкий кристал - виникає більш сильна специфічна імунна відповідь ніж у разі, коли ліпосоми склалися з ліпідів із більш низькими температурами переходу. Заряджені везикули (позитивно чи негативно) викликають більш потужні відповіді, ніж незаряджені, а ліпосоми з катіонним складом мембрани зазвичай є найбільш ефективними. Крім того, тривале збереження ліпосом у місці ін'єкції, опосередковане або катіонним зарядом везикул, або більшим їх розміром, також збільшує імунну відповідь та активує ЦТЛ. Нарешті, серйозна увага має бути приділена вибору ліпідів у композиції; велика кількість ендogenous ліпідів, імуномодулюючі властивості котрих нещодавно були описані, також дозволяє припустити, що інші схожі ліпіди із ще більшими імуномодулюючими властивостями ще не були виявлені. Включення фузогенних ліпідів, таких як DOPE, може сприяти розширенню та посиленню антиген - специфічних ЦТЛ - реакцій, але цей ефект може бути занижений для композицій, які включають великі, імуногенні антигени чи сильнодіючі імуномодулятори. ПРР агоністи, такі як MPL, МДП та інші молекулярні ад'юванти можуть бути легко включені в ліпосомні композиції для модуляції як величин, так і стабільності у часі імунної відповіді.

Змішані фактори

Хоча спостерігаються чіткі тенденції у дослідженнях, які тут обговорювалися, вони повинні бути ретельно інтерпретовані, щоб уникнути об'єднання кількох взаємопов'язаних перемінних параметрів. Обмеження вибору антигену також повинні бути прийняті до уваги, так як завжди знайдуться винятки із загальних принципів, ми рекомендуємо враховувати також внутрішні фізико - хімічні та імунологічні властивості самого антигену.

Імунологічна мінливість штамів мікроорганізму та самого організму також повинні бути розглянуті та враховані. Майже всі дослідження, наведені тут були проведені на щурах і мишах, та більшість досліджень проводилися на двох інбредних лініях мишей - BALB/C і C57BL/6. Крім того, дані цих досліджень повинні бути оцінені з точки зору їх

потенційного використання у вакцинах для людей. Хоча миші є гарною моделлю фізіології людини, відмінності між цими двома видами слід визнати.

Розглядаючи ці та інші потенційно залежні фактори, ми сподіваємося сприяти розумінню структури та властивостей ліпосомальних вакцин в повному контексті, тим самим розширюючи обсяги та напрямки майбутніх досліджень і просування раціонального дизайну вакцин для людини.

Перспективи майбутніх досліджень

Хоча велика кількість літературних посилань описує важливість біофізичних параметрів ліпосомальних композицій для прояву їх специфічної імуногенності, багато важливих питань залишаються без відповіді. На клітинному рівні не зрозумілим залишається питання про те, як ліпідні речовини впливають на обробку антигену та його презентацію? Мало відомо про клітинний розподіл ліпідів модифікованих пептидів.

Необхідні подальші дослідження, щоб з'ясувати механістичну основу ад'ювантної дії катіонних ліпідів і ліпосомальних композицій в цілому. Враховуючи універсальність ліпосомальних носіїв і їх здатність до одночасного включення декількох молекул ад'ювантів, ліпосоми дуже гарна система моделі для вивчення явища синергізму в найдрібніших подробицях в пробірці і в природних умовах.

Таким чином, можна стверджувати, що ліпосомальні технології доставки вакцини в даний час переживають своє нове відродження. Враховуючи це, ми надали систематичний огляд фізико-хімічних факторів, які слід враховувати при проектуванні ліпосомальних вакцин. Незважаючи на визначені тенденції асоціативного зв'язку біофізичних параметрів везикул із імуногенністю, взаємопов'язаність різних біофізичних чинників визначає необхідність оптимізувати окремі композиції для конкретних програм вакцинації окремо для кожної.

References (список літератури)

1. Zanetti A.R. The global impact of vaccination against hepatitis B: a historical overview / Zanetti A.R., Van Damme P., Shouval D. // Vaccine. - 2008.- Nov 18.- 26(49)- 6266-73.
2. Safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11,

- 16, 18) recombinant vaccine in women aged 24–45 years: a randomised, double-blind trial / Munoz N., Manalastas R. Jr., Pitisuttithum P., Tresukosol D., Monsonogo J., Ault K., et al. // *Lancet*. - 2009 - Jun 6; - 373(9679), - 1949–57.
3. O'Hagan D. Recent advances in the discovery and delivery of vaccine adjuvants / O'Hagan D., Valiante N. // *Nature Reviews Drug Discovery*. - 2003; - 2, - 727–35.
 4. Vaccine adjuvant systems: Enhancing the efficacy of sub-unit protein antigens / Perrie Y., Mohammed A., Kirby D., McNeil S., Bramwell V. // *Int J Pharm.* - 2008. - 364.- 272.–80.
 5. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium-alum / Glenny A., Pope C., Waddington H., Wallace V.J. // *Pathol Bacteriol.* - 1926; - 29 - 38–45.
 6. Harper D.M. Currently approved prophylactic HPV vaccines. / Harper D.M.: *Expert Rev Vaccines*. - 2009 - Dec; - 8(12), - 1663–79.
 7. Allison A.G. Liposomes as immunological adjuvants / Allison A.G., Gregoriadis G. // *Nature*. - 1974. - Nov 15. - 252(5480) - 252.
 8. Gregoriadis G. Entrapment of proteins in liposomes prevents allergic reactions in pre-immunised mice / Gregoriadis G., Allison A.C.// *FEBS Lett.* - 1974. - Sep 1. - 45(1) - 71–4.
 9. Liposomal vaccine delivery systems. *Expert Opin Drug Deliv* / Henriksen-Lacey M., Korsholm K.S., Andersen P., Perrie Y., Christensen D. // 2011. - Apr 8(4). - 505–10.
 10. Liposomes as immunological adjuvants and vaccine carriers / Gregoriadis G., Gursel I., Gursel M., McCormack B. // *J Control Release*. - 1996. - 41(1–2). - 49–56.
 11. Alving C. Lipid A and liposomes containing lipid A as antigens and adjuvants / Alving C., Rao M. // *Vaccine*. - 2008. - 26(24) - 3036–45.
 12. Eleven years of Inflexal V-a virosomal adjuvanted influenza vaccine / Herzog C., Hartmann K., Kunzi V., Kursteiner O., Mischler R., Lazar H., [et al.] // *Vaccine*. - 2009. - Jul 16;27(33) - 4381–7.
 13. Mischler R. Inflexal V a trivalent virosome subunit influenza vaccine: production / Mischler R., Metcalfe I.C. // *Vaccine*. - 2002. - Dec 20. - 20(Suppl 5) - B17–23.
 14. Bovier P.A. Epaxal: a virosomal vaccine to prevent hepatitis A infection / Bovier P.A. // *Expert Rev Vaccines*. - 2008. - Oct.7(8) - 1141–50.
 15. Antibody titres after primary and booster vaccination of infants and young children with a virosomal hepatitis A vaccine (Epaxal) / Usonis V., Bakasenas V., Valentelis R., Katiliene G., Vidzeniene D., Herzog C. // *Vaccine*. - 2003 - Nov 7 - 21(31) - 4588–92
 16. Randomized phase IIB trial of BLP25 liposome vaccine in stage IIIB and IV non-small-cell lung cancer / Butts C., Murray N., Maksymiuk A., Goss G., Marshall E., Soulieres D.[et al.] // *J Clin Oncol.* - 2005. - Sep 20. - 23(27) - 6674–81.
 17. North S. Vaccination with BLP25 liposome vaccine to treat non-small cell lung and prostate cancers / North S., Butts C. // *Expert Rev Vaccines*. - 2005. - Jun;4(3) - 249–57.
 18. Regules J.A. The RTS,S vaccine candidate for malaria / Regules J.A., Cummings J.F., Ockenhouse C.F.// *Expert Rev Vaccines*. - 2011. - May;10(5) - 589–99.
 19. Evaluation of the safety and immunogenicity of the RTS,S/AS01E malaria candidate vaccine when integrated in the expanded program of immunization / Agnandji S.T., Asante K.P., Lyimo J., Vekemans J., Soulanoudjingar S.S., Owusu R.[et al.]// *J Infect Dis.* - 2010.- Oct 1 — 202(7) - 1076–87.
 20. Torchilin V.P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers / Torchilin V.P.: *Nat Rev Drug Discov.* - 2005. - Feb;4(2) - 145–60.
 21. Tollemar J. Liposomal amphotericin B (AmBisome) for fungal infections in immunocompromised adults and children / Tollemar J., Klingspor L., Ringden O.// *Clin Microbiol Infect.* - 2001. - 7(Suppl 2) - 68–79.
 22. Randomized comparative trial of pegylated liposomal doxorubicin versus bleomycin and vincristine in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma / Stewart S., Jablonowski H., Goebel F.D., Arasteh K., Spittle M., Rios A.[et al.]// *International Pegylated Liposomal Doxorubicin Study Group.* : *J of Clinical Oncology*. - 1998. - 16(2). - 683–91.
 23. Liposomal malaria vaccine in humans: a safe and potent adjuvant strategy / Fries L.F., Gordon D.M., Richards R.L., Egan J.E., Hollingdale M.R., Gross M.[et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 1992. - Jan 1. - 89(1) - 358–62.
 24. First results of phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African children / Agnandji S.T., Lell B., Soulanoudjingar S.S., Fernandes J.F., Abossolo B.P., Conzelmann C.[et al.]// *N*

- Engl J Med. - 2011. - Nov 17. - 365(20). - 1863-75.
25. Liposome-based cationic adjuvant formulations (CAF): past, present, and future / Christensen D., Agger E.M., Andreasen L.V., Kirby D., Andersen P., Perrie Y. // *J Liposome Res.* - 2009. - 19(1). - 2-11.
 26. Cationic liposomes as vaccine adjuvants / Christensen D., Korsholm K.S., Rosenkrands I., Lindenstrom T., Andersen P., Agger E.M. // *Expert Rev Vaccines.* - 2007. - Oct 6(5). - 785-96.
 27. Chen W.C. Non-viral vector as vaccine carrier / Chen W.C., Huang L. // *Adv Genet.* - 2005. - 54. - 315-37.
 28. Vangasseri D.P. Lipid-protamine-DNA-mediated antigen delivery / Vangasseri D.P., Han S.J., Huang L. // *Curr Drug Deliv.* - 2005. - Oct.2(4). - 401-6.
 29. Virosomes for antigen and DNA delivery / Daemen T., de Mare A., Bungener L., de Jonge J., Huckriede A., Wilschut J. // *Adv Drug Deliv Rev.* - 2005. - Jan 10. - 57(3). - 451-63.
 30. The virosome concept for influenza vaccines / Huckriede A., Bungener L., Stegmann T., Daemen T., Medema J., Palache A.M.[et al.] // *Vaccine.* - 2005. - Jul. 8. - 23(Suppl 1). — 26-38.
 31. Krishnan L. Archaeosome adjuvants: immunological capabilities and mechanism(s) of action / Krishnan L., Sprott G. D. // *Vaccine.* - 2008. - Apr. 16. - 26(17). - 2043-55.
 32. Azeem A. Niosomes in sustained and targeted drug delivery: some recent advances / Azeem A., Anwer M.K., Talegaonkar S. // *J Drug Target.* - 2009. -Nov.17(9). - 671-89.
 33. Vyas S.P. Vesicular carrier constructs for topical immunisation / Vyas S.P., Khatri K., Mishra V. // *Expert Opin Drug Deliv.* - 2007.- Jul.4(4). - 341-8.
 34. Davis D. Liposomes as adjuvants with immunopurified tetanus toxoid: influence of liposomal characteristics / Davis D., Gregoriadis G. // *Immunology.* - 1987. — Jun.61(2). - 229-34.
 35. Shahum E. Immunopotential of the humoral response by liposomes: encapsulation versus covalent linkage / Shahum E., Therien H.M. // *Immunology.* - 1988. - Oct.65(2). - 315-7.
 36. Shahum E. Liposomal adjuvant activity: effect of encapsulation and surface-linkage on antibody production and proliferative response / Shahum E., Therien H.M. // *Int J Immunopharmacol.* - 1995 - Jan.17(1). - 9-20.
 37. Tan L. Comparison of the immune response against polio peptides covalently-surface-linked to and internally-entrapped in liposomes / Tan L., Weissig V., Gregoriadis G. // *Asian Pac J Allergy Immunol.* - 1991.- Jun.9(1). - 25-30.
 38. Therien H.M. Liposomal vaccine: influence of antigen association on the kinetics of the humoral response / Therien H.M., Lair D., Shahum E. // *Vaccine.* - 1990. - Dec.8(6). - 558-62.
 39. Shahum E. Correlation between in vitro and in vivo behaviour of liposomal antigens/ Shahum E., Therien H.M. // *Vaccine.* -1994. - Sep.12(12). - 1125-31.
 40. Vannier W.E. Antibody responses to liposome-associated antigen / Vannier W.E., Snyder S.L. // *Immunol Lett.* - 1988. - Sep.19(1). - 59-64
 41. Antibody and cytotoxic T-lymphocyte responses to a single liposome-associated peptide antigen / White W.I., Cassatt D.R., Madsen J., Burke S.J., Woods R.M., Wassef N.M.[et al.] // *Vaccine.* - 1995. - 13(12). - 1111-22.
 42. Liposomal formulations of synthetic MUC1 peptides: effects of encapsulation versus surface display of peptides on immune responses/ Guan H.H., Budzynski W., Koganty R.R., Krantz M.J., Reddish M.A., Rogers J.A.[et al.] // *Bioconjug Chem.* - 1998. — Jul-Aug.9(4). - 451-8.
 43. Influence of peptide acylation, liposome incorporation, and synthetic immunomodulators on the immunogenicity of a 1-23 peptide of glycoprotein D of herpes simplex virus: implications for subunit vaccines/ Brynestad K., Babbit B., Huang L., Rouse B.T. // *J Virol.* - 1990. - Feb.64(2). - 680-5.
 44. Parameters affecting the immunogenicity of a liposome-associated synthetic hexapeptide antigen / Frisch B., Muller S., Briand J., Van Regenmortel M., Schuber F. Eur J. // *Immunol.* - 1991. - 21(1). - 185-93.
 45. Chen W. Induction of cytotoxic T-lymphocytes and antitumor activity by a liposomal lipopeptide vaccine / Chen W., Huang L. // *Mol Pharm.* - 2008. — May-Jun. 5(3) - 464-71.
 46. Liposomal peptide vaccine inducing CD8+ T cells in HLA-A2.1 transgenic mice, which recognise human cells encoding hepatitis C virus (HCV) proteins/ Engler O., Schwendener



- R., Dai W., Wolk B., Pichler W., Moradpour D.[et al.]// Vaccine. - 2004. - 23(1). - 58–68.
47. Antigen-specific, IgE-selective unresponsiveness induced by antigen-liposome conjugates Comparison of four different conjugation methods for the coupling of antigen to liposome / Nakano Y., Mori M., Nishinohara S., Takita Y., Naito S., Horino A.[et al.]// Int Arch Allergy Immunol. - 1999. - Nov.120(3). - 199–208
48. Garcon N.M. Universal vaccine carrier. Liposomes that provide T-dependent help to weak antigens / Garcon N.M., Six H.R. // J Immunol.- 1991.- Jun.1.- 146(11) - 3697–702.
49. Liposomes that provide T-dependent help to weak antigens (T-independent antigens)/ Pietrobon P.J., Garcon N., Lee C.H., Six H.R.// Immunomethods. - 1994.- Jun . 4(3). - 236–43.
50. Design of highly immunogenic liposomal constructs combining structurally independent B cell and T helper cell peptide epitopes/ Boeckler C., Dautel D., Schelte P., Frisch B., Wachsmann D., Klein J.P.[et al.]// Eur J Immunol. - 1999. - Jul. 29(7). - 2297–308.
51. Synthesis of thiol-reactive lipopeptide adjuvants. Incorporation into liposomes and study of their mitogenic effect on mouse splenocytes/ Roth A., Espuelas S., Thumann C., Frisch B., Schuber F. // Bioconjug Chem. - 2004. - May-Jun. — 15(3). - 541–53.
52. Metallochelating liposomes with associated lipophilised norAbuMDP as biocompatible platform for construction of vaccines with recombinant His-tagged antigens: preparation, structural study and immune response towards rHsp90/ Masek J., Bartheldyova E., Turanek-Knotigova P., Skrabalova M., Korvasova Z., Plockova J.[et al.]// J Control Release. - 2011. - Apr. 30. — 151(2). - 193–201.
53. Antibody response in mice to polyhistidine-tagged peptide and protein antigens attached to liposomes via lipid-linked nitrilotriacetic acid / Watson D.S., Platt V.M., Cao L., Venditto V.J., Francis C., Szoka J// Clin Vaccine Immunol. — 2011. — 18(2). - 289–97.
53. Liposomes based on dimethyldioctadecylammonium promote a depot effect and enhance immunogenicity of soluble antigen/ Henriksen-Lacey M., Bramwell V.W., Christensen D., Agger E.M., Andersen P., Perrie Y.// J Control Release.-2010. - Mar. 3.- 142(2). - 180–6.
54. Comparison of the depot effect and immunogenicity of liposomes based on dimethyldioctadecylammonium (DDA), 3beta-[N-(N',N'-Dimethylaminoethane)carbonyl] cholesterol (DC-Chol), and 1,2-Dioleoyl-3-trimethylammonium propane (DOTAP): prolonged liposome retention mediates stronger Th1 responses/ Henriksen-Lacey M., Christensen D., Bramwell V.W., Lindenstrom T., Agger E.M., Andersen P.[et al.]// Mol Pharm. - 2011. - Feb. 7.-8(1). - 153–61.
55. Liposomal cationic charge and antigen adsorption are important properties for the efficient deposition of antigen at the injection site and ability of the vaccine to induce a CMI response/ Henriksen-Lacey M., Christensen D., Bramwell V.W., Lindenstrom T., Agger E.M., Andersen P.[et al.]// J Control Release. - 2010. - Jul. 14. — 145(2). - 102–8.
56. CAF01 potentiates immune responses and efficacy of an inactivated influenza vaccine in ferrets / Martel C.J., Agger E.M., Poulsen J.J., Hammer Jensen T., Andresen L., Christensen D. [et al.]// PLoS ONE — 2011. — 6(8). - 22891.
57. Phillips W.T. Novel method of greatly enhanced delivery of liposomes to lymph nodes/ Phillips W.T., Klipper R., Goins B.// J Pharmacol Exp Ther.- 2000. — Oct. — 295(1). - 309–13
58. Lipophosphoglycan of Leishmania major that vaccinates against cutaneous leishmaniasis contains an alkylglycerophosphoinositol lipid anchor/ McConville M.J., Bacic A., Mitchell G.F., Handman E.// Proc Natl Acad Sci U S A. - 1987. - Dec. — 84(24). - 8941–5.
59. Shek P. Immune response mediated by liposome-associated protein antigens. III. Immunogenicity of bovine serum albumin covalently coupled to vesicle surface /Shek P., Heath T. // Immunology. — 1983. — 50(1). - 101–6.
60. Positively charged liposome functions as an efficient immunoadjuvant in inducing cell-mediated immune response to soluble proteins/ Nakanishi T., Kunisawa J., Hayashi A., Tsutsumi Y., Kubo K., Nakagawa S.[et al.]// J Control Release. - 1999. - Aug. 27. — 61(1–2). - 233–40.
61. Yasuda T. Immunogenicity of liposomal model membranes in mice: dependence on phospholipid composition/ Yasuda T., Dancey G.F., Kinsky S.C. // Proc Natl Acad Sci U S A - 1977. - Mar.74(3). - 1234–6.

62. Vaccination against murine cutaneous leishmaniasis by using Leishmania major antigen/liposomes. Optimization and assessment of the requirement for intravenous immunization/ Kahl L.P., Scott C.A., Lelchuk R., Gregoriadis G., Liew F.Y. // *J Immunol.* - 1989. - Jun. 15. — 142(12) - 4441–9.
63. Enhancement of in vivo and in vitro T cell response against measles virus haemagglutinin after its incorporation into liposomes: effect of the phospholipid composition/ Garnier F., Forquet F., Bertolino P., Gerlier D.// *Vaccine.* - 1991. — 9. - 340–5.
64. Mazumdar T. Influence of phospholipid composition on the adjuvanticity and protective efficacy of liposome-encapsulated Leishmania donovani antigens/ Mazumdar T., Anam K., Ali N. // *J Parasitol.* - 2005. - Apr. 91(2) - 269–74.
65. Enhancement of immune response and protection in BALB/c mice immunized with liposomal recombinant major surface glycoprotein of Leishmania (rgp63): the role of bilayer composition/ Badiie A., Jaafari M.R., Khamesipour A., Samiei A., Soroush D., Kheiri M.T.[et al.]// *Colloids Surf B Biointerfaces.* - 2009. - Nov. 1. — 74(1) - 37–44.
66. Ellens H. Fusion of phosphatidylethanolamine-containing liposomes and mechanism of the L α -HII phase transition / Ellens H., Bentz J., Szoka F.C. // *Biochemistry (Mosc).*-1986. - Jul. 15. — 25(14). - 4141–7.
67. Legendre J.Y. Jr Delivery of plasmid DNA into mammalian cell lines using pH-sensitive liposomes: comparison with cationic liposomes. *Pharm Res*/ Legendre J.Y. , Szoka F.C. // 1992. - Oct.9(10). - 1235–42.
68. Li W. Jr Lipid-based nanoparticles for nucleic acid delivery/ Li W., Szoka F.C. // *Pharm Res.* - 2007. - Mar.24(3). - 438–49
70. Role of fusogenic non-PC liposomes in elicitation of protective immune response against experimental murine salmonellosis/ Ahmad N., Deeba F., Faisal S.M., Khan A., Agrewala J.N., Dwivedi V.[et al.]// *Biochimie.* — 2006. - Oct.88(10). - 1391–400.
71. A novel vaccine delivery system using immunopotentiating fusogenic liposomes / Hayashi A., Nakanishi T., Kunisawa J., Kondoh M., Imazu S., Tsutsumi Y.[et al.]// *Biochem Biophys Res Commun.* - 1999. - Aug. 11. — 261(3). - 824–8.
72. Owais M. Liposome-mediated cytosolic delivery of macromolecules and its possible use in vaccine development/ Owais M., Gupta C.M. // *Eur J Biochem.* - 2000. — 267(13). - 3946–56
73. Interactions of cationic lipid vesicles with negatively charged phospholipid vesicles and biological membranes/ Stamatatos L., Leventis R., Zuckermann M.J., Silvius J.R.// *Biochemistry (Mosc).* - 1988. - May. 31. — 27(11). - 3917–25.
74. Yan W. Reactive oxygen species play a central role in the activity of cationic liposome based cancer vaccine/ Yan W., Chen W., Huang L. // *J Control Release.* - 2008. — 130(1). - 22–8.
75. Vasievich E.A. Enantiospecific adjuvant activity of cationic lipid DOTAP in cancer vaccine/ Vasievich E.A., Chen W., Huang L. // *Cancer Immunol Immunother* — 2011.- 60(5). - 629–38.
76. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid / Mucida D., Park Y., Kim G., Turovskaya O., Scott I., Kronenberg M.[et al.]// *Science.* - 2007. - 317(5835)/ - 256–60.
77. Retinoic acid imprints gut-homing specificity on T cells/ Iwata M., Hirakiyama A., Eshima Y., Kagechika H., Kato C., Song S.Y.// *Immunity.* - 2004. — 21. - 527–38
78. Erridge C. Saturated fatty acids do not directly stimulate Toll-like receptor signaling/ Erridge C., Samani N.J. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2009. — 29(11). - 1944–9.
79. Pegylated liposomes have potential as vehicles for intratumoral and subcutaneous drug delivery/ Harrington K.J., Rowlinson-Busza G., Syrigos K.N., Uster P.S., Vile R.G., Stewart J.S.// *Clin Cancer Res.* - 2000. — 6(6). - 2528–37.
80. Efficient presentation of multivalent antigens targeted to various cell surface molecules of dendritic cells and surface Ig of antigen-specific B cells/ Serre K., Machy P., Grivel J.C., Jolly G., Brun N., Barbet J.[et al.]// *J Immunol.* - 1998. — 161(11). - 6059–67.
81. Batista F.D. The who, how and where of antigen presentation to B cells/ Batista F.D., Harwood N.E. // *Nat Rev Immunol.* - 2009. — 9(1). - 15–27.
82. Schwendener R.A. The effects of charge and size on the interaction of unilamellar liposomes with macrophages/ Schwendener R.A., Lagocki P.A., Rahman Y.E.// *Biochim Biophys Acta.* - 1984. — 772(1). - 93–101.

83. Liposome-cell interactions in vitro: effect of liposome surface charge on the binding and endocytosis of conventional and sterically stabilized liposomes/ Miller C.R., Bondurant B., McLean S.D., McGovern K.A., O'Brien D.F. // *Biochemistry (Mosc)*. - 1998.— 37(37). - 12875–83.
84. Lee K.D. Recognition of liposomes by cells: in vitro binding and endocytosis mediated by specific lipid headgroups and surface charge density/ Lee K.D., Hong K., Papahadjopoulos D.// *Biochim Biophys Acta*. — 1992. - 1103(2). - 185–97.
85. Siegel D.P. The mechanism of lamellar-to-inverted hexagonal phase transitions in phosphatidylethanolamine: implications for membrane fusion mechanisms/ Siegel D.P., Epand R.M. // *Biophys J*. - 1997. — 73(6). - 3089–111.
86. Zhou F. Liposome-mediated cytoplasmic delivery of proteins: an effective means of accessing the MHC class I-restricted antigen presentation pathway/ Zhou F., Huang L. // *Immunomethods*. - 1994.— 4(3). - 229–35
87. Zhou F. Characterization and kinetics of MHC class I-restricted presentation of a soluble antigen delivered by liposomes/ Zhou F., Watkins S.C., Huang L. // *Immunobiology*. - 1994. — 190(1–2). - 35–52.
88. Endocytosis of an HIV-derived lipopeptide into human dendritic cells followed by class I-restricted CD8(+) T lymphocyte activation./ Andrieu M., Loing E., Desoutter J.F., Connan F., Choppin J., Gras-Masse H.[et al.]// *Eur J Immunol*. - 2000. — 30(11). - 3256–65.
89. Two human immunodeficiency virus vaccinal lipopeptides follow different cross-presentation pathways in human dendritic cells/ Andrieu M., Desoutter J.F., Loing E., Gaston J., Hanau D., Guillet J.G.[et al.]// *J Virol* — 2003. — 77(2). - 1564–70.
90. In vitro processing and presentation of a lipidated cytotoxic T-cell epitope derived from measles virus fusion protein/ Stittelaar K.J., Hoogerhout P., Ovaas W., van Binnendijk R.R., Poelen M.C., Roholl P.[et al.]// *Vaccine*. - 2002. — 20(1–2). - 249–61.

(received 12.08.2014, published online 23.12.2014)

(отримано 12.08.2014, опубліковано 23.12.2014)

