

УДК 615.37

## ПЕРВИЧНАЯ ОЦЕНКА МЕХАНИЗМОВ АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ТЕРАПЕВТИЧЕСКУЮ ВАКЦИНУ ПРОТИВ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup>Кухаренко А.Е., <sup>2</sup>Щелчкова Н.А., <sup>2</sup>Ловцова Л.В., <sup>3</sup>Гравель И.В., <sup>2</sup>Лапшин Р.Д.,  
<sup>2,4</sup>Бабаев А.А., <sup>1</sup>Гаврилова Н.А., <sup>2,4</sup>Мухина И.В.

<sup>1</sup>ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов», Москва, e-mail: andrey.kukharenko@gmail.com;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, Нижний Новгород;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва;

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

В ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» разработана терапевтическая вакцина на основе гибридных рекомбинантных белков (раннего онкобелка E7 вируса папилломы человека и белка теплового шока HSP70 *Mycobacterium tuberculosis*). В эксперименте *in vivo* исследовали влияние трех опытно-промышленных серий терапевтической вакцины против рецидивирующего респираторного папилломатоза и аногенитального кондиломатоза на количество лимфоцитов (CD4(+), CD8(+), Т-хелперов 1 типа) и NK-клеток в селезенке иммунизированных мышей линии C57BL/6 методом проточной цитометрии, а также уровень интерферона-гамма в периферической крови методом иммуоферментного анализа. Животным опытной группы вводили исследуемый препарат в дозе 0,084 мл/кг в 0,5 мл стерильного буферного раствора готовой лекарственной формы однократно внутримышечно. Показано, что терапевтическая вакцина статистически значимо увеличивает число CD4(+), CD8(+), Т-хелперов 1 типа, NK-клеток к 14 суткам и интерферона-гамма к 21 суткам после однократного введения препарата. Количество цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-хелперов 1 типа и содержание интерферона-гамма в сыворотке крови экспериментальных животных достигает максимума к 28 суткам во всех исследованных сериях терапевтической вакцины, что свидетельствует о способности препарата стимулировать клеточное звено иммунитета.

**Ключевые слова:** терапевтическая вакцина, вирус папилломы человека, иммуногенность, цитотоксические лимфоциты, Т-хелперы, NK-клетки

## PRIMARY ASSESSMENT OF MECHANISMS OF ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE TO THERAPEUTIC VACCINE AGAINST HUMAN PAPILLOMAVIRUS

<sup>1</sup>Kukharenko A.E., <sup>2</sup>Shhelchkova N.A., <sup>2</sup>Lovtsova L.V., <sup>3</sup>Gravel I.V., <sup>2</sup>Lapshin R.D.,  
<sup>2,4</sup>Babaev A.A., <sup>1</sup>Gavrilova N.A., <sup>2,4</sup>Mukhina I.V.

<sup>1</sup>State Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, Moscow, e-mail: andrey.kukharenko@gmail.com;

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod;

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow;

<sup>4</sup>Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhny Novgorod

At State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms the therapeutic vaccine based on hybrid recombinant proteins (early oncoprotein E7 of human papillomavirus and heat-shock protein HSP70 of *Mycobacterium tuberculosis*) has been developed. During *in vivo* experiment impact of three pilot batches of therapeutic vaccine against recurrent respiratory papillomatosis and anogenital condylomatosis on cell number of lymphocytes (CD4(+), CD8(+), T-helpers type I) and NK-cells in spleen of C57BL/6 line immunized mice by flow cytometry, as well as interferon-gamma level in peripheral blood by enzyme immunoassay has been determined. Animals from test group were injected intramuscularly with the investigational product in a single dose of 0,084 mL/kg in 0,5 mL of sterile final formulation buffer. It was shown that single injection of therapeutic vaccine resulted in statistically significant increase of CD4(+), CD8(+), T-helpers type I, NK-cells cell number by day 14 and interferon-gamma level by day 21. Cell number of cytotoxic T-lymphocytes, T-helpers type I and interferon-gamma level in blood serum of experimental animals reached maximum at day 28 for all investigated batches of therapeutic vaccine which testified to the ability of preparation to stimulate cell-mediated immunity.

**Keywords:** therapeutic vaccine, human papillomavirus, immunogenicity, cytotoxic T-lymphocytes, T-helpers, NK-cells

В последнее время активно проводятся исследования по разработке терапевтических вакцин на основе рекомбинантных белков для лечения заболеваний, вызванных вирусом папилломы человека (ВПЧ).

Одним из перспективных направлений в таких разработках считается использование в качестве иммунизирующего антигена раннего онкобелка E7 ВПЧ, конъюгированного с полноразмерным белком теплового

шока HSP 70 *Mycobacterium tuberculosis* [1]. Сочетание в одном комплексе E7-HSP70 вирусного белка и антигена микобактерий, по данным многих исследователей, может приводить к активации различных звеньев врожденного и приобретенного иммунитета [8, 9]. Несмотря на активные исследования в области создания эффективных препаратов против ВПЧ, данные о ключевых механизмах иммунной защиты от инфекции и элиминации вируса из организма крайне противоречивы, что во многом объясняется отсутствием адекватных биологических моделей для изучения отдельных звеньев иммунного ответа [5, 7].

Как известно, белки теплового шока микобактерий являются сильным иммуногеном и способны активировать обе ветви специфического иммунитета – и клеточного, и гуморального. В отношении вирусного антигена E7 в последнее время появляется все больше экспериментальных данных по активации иммунного ответа через цитоксические лимфоциты CD8(+). Однако многие исследователи приводят данные по стимуляции E7 также Т-лимфоцитов фенотипа CD4(+), Т-хелперов 1 типа, натуральных киллеров [5].

Таким образом, в отсутствие эффективной биологической модели оценка количества различных субпопуляций Т-лимфоцитов и содержания интерферона-гамма, как ключевого цитокина Т-хелперов 1 типа -зависимых иммунных реакций, позволит дать первичную оценку механизмов иммунного ответа на новую вакцину против ВПЧ-ассоциированных заболеваний и специфицировать его иммуногенность, что является обязательным этапом контроля качества иммунобиологического лекарственного средства [5, 6].

Цель исследования: изучить динамику показателей клеточного иммунитета у мыш-шей-самцов линии C57BL/6 при однократном внутримышечном введении терапевтической вакцины против рецидивирующего респираторного папилломатоза и аногенитального кондиломатоза.

#### Материалы и методы исследования

Изучено действие терапевтической вакцины, состоящей из двух гибридных рекомбинантных белков на основе антигена E7 вируса папилломы человека (ВПЧ) 6 или 11 типа, конъюгированных с полноразмерным белком теплового шока HSP 70 *Mycobacterium tuberculosis* [1]. Белки сорбированы на алюминия гидроксиде. Готовая форма не содержит консервантов и антибиотиков. Одна доза (0,5 мл) содержит по 100 мкг гибридных рекомбинантных белков. Исследованы 3 опытно-промышленные серии препарата, предварительно охарактеризованные по основным параметрам качества [2–4].

Исследования на животных проводили в полном соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.).

Эксперименты выполнены на клинически здоровых половозрелых мыш-ах-самцах линии C57BL/6 в возрасте от 2,5 до 3 месяцев, с массой тела  $20,0 \pm 2,0$  г на начало исследования, находившихся в одинаковых условиях содержания и кормления. Животные получены из филиала «Андреевка» НЦБМТ РАМН.

При выборе доз руководствовались средней терапевтической дозой, в которой изучаемый препарат планируется для клинического применения. Пересчет доз с человека на животных осуществляли методом эквивалентности доз с учетом коэффициента поверхности тела. Животным опытной группы вводили исследуемый препарат в дозе 0,084 мл/кг в 0,5 мл стерильного буферного раствора готовой лекарственной формы однократно внутримышечно (проведено три серии экспериментов в идентичных дозах). Животным контрольной группы вводили стерильный буферный раствор готовой лекарственной формы в объеме 0,5 мл.

Забор селезенки и периферической крови (0,3–0,5 мл) проводился на 7, 14, 21 и 28 сутки после однократного введения препарата. Животных выводили из эксперимента помещением в CO<sub>2</sub>-камеру и последующим обескровливанием методом декапитации. Количество выводимых на каждом из указанных этапов животных в опытной и контрольной группах равнялось 10.

Выделенную селезенку гомогенизировали на приборе (гомогенизатор TYPE 32, Польша) с 5 мл среды RPMY 1640 (Sigma, R5886, США) при 4 °С. Полученную суспензию клеток пропускали через пористые фильтры с диаметром пор 100 микрон (Becton Dickinson, США) методом самотека. Пробо-подготовку клеточной суспензии для проточной цитофлуориметрии проводили по стандартной процедуре, включающей удаление эритроцитов и обработку буферным раствором с 0,1% сапонина с использованием коммерческих реагентов для FACS фирмы Becton Dickinson, США. Подсчет клеток в образцах проводили с помощью электронного счетчика клеток Scepter PNC0000 (Millipore, США) по стандартной процедуре. Подготовленную суспензию клеток с концентрацией  $2 \times 10^6$  кл в 100 мкл вносили в пробирки объемом 5 мл по 100 мкл и добавляли по 5 мкл антител к поверхностным маркерам дифференциации CD3e (FITC, BD 553062), CD4 (APC, BD 553051), CD8a (PerCP, BD 553036), NK<sub>1,1</sub> (CD 161b) (PE, BD 553165), CD195 (PE CCR5, BD 559923), CD45 (PerCP, BD 557235). Пробирки инкубировали 20 мин в темноте при 4 °С, после чего проводили двукратно отмывку буферным раствором CellWash (BD, 349524), центрифугировали при 220 g в течение 5 мин при температуре 4 °С. В отмывку клеточную суспензию добавляли 100 мкл буферного раствора CellWash (BD, 349524) и использовали для анализа.

Гейтирование популяции лимфоцитов осуществляли по маркеру CD45. Определение относительного количества NK-лимфоцитов выполняли по графику CD45 PerCP/SSC путем выделения лимфоцитарного гейта CD3e-NK<sub>1,1</sub><sup>+</sup>. Определение субпопуляции Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток – по

графику FSC/SSC путем выделения лимфоцитарного гейта CD3e+CD4+ и CD3e+CD8+ соответственно, субпопуляции Т-хелперов I типа – по графику FSC/SSC путем выделения лимфоцитарного гейта CD3e+CD4+CD195+.

Анализ проводили на цитофлюориметре FACS Canto II в полуавтоматическом режиме с ручной подачей пробирки (BD FACS Canto II Flow Cytometer, США). Предварительно выполняли настройку дискриминатора, параметров светорассеяния, чувствительности фотоэлектронных умножителей (ФЭУ) для флуоресценции, производили введение коэффициентов компенсации. Для оценки неспецифического связывания антител клетками и настройки параметров фотоэлектронных умножителей для флуоресценции использовали изотипический (негативный) контроль по Th<sup>+</sup> из набора (T Lymphocyte Activation Antibody Cocktail CD3e FITC/CD69PE/CD25 PE-Cy7, with Isotype Control 100 tests, 2 мл 557916), блок неспецифического связывания (BD Mouse Fc Block, 553141) и набор одноцветных контролей для настройки цветовой компенсации на основе частиц (BD CompBeads, 552844).

Калибровку прибора осуществляли по калибровочному набору Cytometry Setup & Tracking Beads

(BD, 641319). Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения FACS Diva 6.

Данные экспериментов по фенотипированию клеток иммунной системы выражали в виде процентного содержания клеток, экспрессирующих дифференцирующие маркеры цитоксических лимфоцитов, Т-хелперов и натуральных киллеров от общего количества спленоцитов мышей в пробе.

Оценку содержания интерферона-гамма в сыворотке крови экспериментальных животных после однократного введения препарата проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) (Cusabio CSB-E04578m, Китай).

Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием статистического пакета Statistica 5.5. Уровень статистической значимости различий между выборками, имеющими распределение, не отличающееся от нормального, определяли с помощью t-критерия Стьюдента; между выборками, имеющими распределение, отличное от нормального, – с помощью критериев Уилкоксона и Манна-Уитни. Полученные результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – стандартная ошибка среднего.

Таблица 1

Динамика некоторых показателей клеточного иммунитета (%;  $M \pm m$ )

Показатель	Сутки	Контроль	Терапевтическая вакцина, серия		
			1	2	3
1	2	3	4	5	6
NK-клетки	7	3,72 ± 0,36	4,24 ± 0,29	4,17 ± 0,21	4,3 ± 0,3
	14	3,67 ± 0,51	5,68 ± 0,7 p1 = 0,04; p2 = 0,05	5,6 ± 0,8 p1 = 0,05; p2 = 0,05	5,62 ± 1,1 p1 = 0,04; p2 = 0,05
	21	3,74 ± 1,13	5,5 ± 0,48	5,53 ± 0,78	5,47 ± 0,83
	28	3,76 ± 1,12	5,42 ± 0,4	5,39 ± 0,62	5,48 ± 0,54
Цитотоксические Т-лимфоциты	7	24,8 ± 2,2	29,92 ± 1,72 p1 = 0,05	28,2 ± 1,27 p1 = 0,04	29,16 ± 1,64 p1 = 0,05
	14	26,00 ± 1,61	34,22 ± 0,38 p1 = 0,02; p2 = 0,05	34,37 ± 0,52 p1 = 0,02; p2 = 0,05	33,9 ± 0,49 p1 = 0,02; p2 = 0,05
	21	25,14 ± 1,76	35,4 ± 3,3 p1 = 0,02; p3 = 0,05	37,3 ± 2,84 p1 = 0,02; p3 = 0,05	34,95 ± 3,01 p1 = 0,03; p3 = 0,07
	28	27,14 ± 1,83	41,5 ± 1,56 p1 = 0,04; p4 = 0,04	40,86 ± 1,32 p1 = 0,04; p4 = 0,03	43,04 ± 1,51 p1 = 0,03; p4 = 0,04
Т-хелперы	7	60,3 ± 2,82	59,3 ± 1,59	60,07 ± 1,6	59,18 ± 1,69
	14	62,88 ± 1,73	68,9 ± 1,42 p1 = 0,04; p2 = 0,04	70,23 ± 1,37 p1 = 0,04; p2 = 0,03	69,1 ± 1,54 p1 = 0,04; p2 = 0,04
	21	62,22 ± 1,8	72,68 ± 3,41 p1 = 0,05; p3 = 0,05	72,97 ± 3,6 p1 = 0,05; p3 = 0,03	74,43 ± 2,83 p1 = 0,04; p3 = 0,03
	28	61,32 ± 1,95	66,2 ± 1,84 p1 = 0,05; p4 = 0,05	67,03 ± 1,41 p1 = 0,05; p4 = 0,04	68,85 ± 1,55 p1 = 0,04; p4 = 0,04

1	2	3	4	5	6
Т-хелперы 1 типа	7	1,14 ± 0,32	1,64 ± 0,67 p1 = 0,05	2,12 ± 0,79 p1 = 0,03	1,87 ± 0,51 p1 = 0,05
	14	1,25 ± 0,24	4,92 ± 0,6 p1 = 0,001; p2 = 0,03	5,21 ± 0,43 p1 = 0,001; p2 = 0,03	5,06 ± 0,52 p1 = 0,001; p2 = 0,03
	21	1,1 ± 0,13	4,8 ± 0,2 p1 = 0,001; p3 = 0,03	4,74 ± 0,30 p1 = 0,001; p3 = 0,03	4,87 ± 0,19 p1 = 0,001; p3 = 0,03
	28	1,3 ± 0,1	9,36 ± 2,05 p1 = 0,001; p4 = 0,01	10,64 ± 1,94 p1 = 0,001; p4 = 0,01	10,08 ± 2,00 p1 = 0,001; p4 = 0,01

Примечание. P1 – уровень значимости различий с группой контроля, P2 – уровень значимости различий между показателями на 7 и 14 сутки, P3 – на 14 и 21 сутки, P4 – на 21 и 28 сутки.

Таблица 2

Динамика содержания интерферона-гамма (пг/мл; M ± m)

Показатель	Сутки	Контроль	Терапевтическая вакцина, серия		
			1	2	3
Интерферон-гамма	7	479,3 ± 33,3	1209,7 ± 214,2 p1 = 0,001	1345,3 ± 198,7 p1 = 0,001	1283,6 ± 201,3 p1 = 0,001
	14	481,1 ± 34,2	1325,2 ± 126,1 p1 = 0,001	1381,0 ± 173,5 p1 = 0,001	1412,4 ± 154,7 p1 = 0,001
	21	477,8 ± 29,9	3052,5 ± 438,6 p1 = 0,001; p2 = 0,04	3271,2 ± 397,5 p1 = 0,001; p2 = 0,03	2827,6 ± 417,2 p1 = 0,001; p2 = 0,04
	28	473,9 ± 30,8	3493,7 ± 526,2 p1 = 0,001	3324,8 ± 493,1 p1 = 0,001	3625,5 ± 523,9 p1 = 0,001

Примечание. P1 – уровень значимости различий с группой контроля, P2 – уровень значимости различий между показателями на 14 и 21 сутки.

### Результаты исследования и их обсуждение

Жизнеспособность спленоцитов в рамках лимфоцитарного гейта CD 45+ в ходе всего эксперимента колебалась от 90 до 95%.

В ходе исследования показано, что однократное введение вакцины экспериментальным животным индуцировало статистически значимое нарастание пула НК-клеток в селезенке к 14 суткам наблюдения относительно группы контроля во всех трех сериях эксперимента (табл. 1). Затем в течение периода наблюдения (28 суток) отмечались колебания данного показателя, которые не являлись статистически значимыми.

Увеличение относительного содержания цитотоксических Т-клеток наблюдалось с 14 суток до конечной фазы исследования, достигая максимума на 28 сутки во всех сериях терапевтической вакцины, по сравнению с контрольными значениями (табл. 1).

Относительное содержание Т-хелперов в опытной группе превышало аналогичный показатель в группе контроля начиная с 14 суток, достигая максимума к 21 суткам эксперимента. На 28 сутки было отмечено

незначительное снижение их процентной доли.

Субпопуляция Т-хелперов 1 типа также показала устойчивую статистически значимую динамику нарастания к 28 суткам исследований (табл. 1).

Статистически значимое увеличение уровня интерферона-гамма наблюдалось на 21 сутки, достигая максимума к 28 суткам. Таким образом, динамика содержания интерферона-гамма в сыворотке крови является однонаправленной с динамикой числа дифференцированных иммунокомпетентных цитотоксических лимфоцитов и Т-хелперов I типа, что свидетельствует о выраженности ответа клеточного звена иммунитета (табл. 2).

### Выводы

Исследуемый препарат – терапевтическая вакцина против рецидивирующего респираторного папилломатоза и аногенитального кондиломатоза – после однократного внутримышечного введения мышам-самцам линии C57BL/6 в дозе 0,084 мл/кг обуславливает увеличение числа им-

мунокомпетентных клеток у экспериментальных животных, в том числе НК-клеток (максимально к 14 суткам наблюдения), цитотоксических Т-лимфоцитов (максимально к 28 суткам), Т-хелперов (максимально к 21 суткам), Т-хелперов I типа (максимально к 28 суткам), а также уровня интерферона-гамма (максимально к 28 суткам), что свидетельствует о способности препарата стимулировать клеточное звено иммунитета.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках Государственного контракта № 16.N08.12.1024 от 14 июня 2012 г. по теме «Доклинические исследования отечественной терапевтической вакцины против рецидивирующего респираторного папилломатоза и аногенитального кондиломатоза, произведенной на основе клеток эукариот».

### Список литературы

1. Козлов Д.Г., Чеперегин С.Э., Губайдуллин И.И., Ефремов Б.Д., Тюрин О.В., Залуниин И.А. Способ получения белка E7-HSP70 и штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для его осуществления. Патент РФ № 2489481, 2013.
2. Кухаренко А.Е., Гаврилова Н.А., Гравель И.В., Черепушкин С.А. и др. Стандартизация готовой лекарственной формы терапевтической вакцины против ВПЧ-ассоциированных заболеваний // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 12. – С. 1477–1481.
3. Кухаренко А.Е., Гаврилова Н.А., Сауткина Е.Н., Гравель И.В. и др. Методические подходы к контролю качества терапевтических вакцин против ВПЧ-ассоциированных заболеваний // *Биопрепараты*. – 2014. – № 4. – С. 14–23.
4. Кухаренко А.Е., Гаврилова Н.А., Черепушкин С.А., Орлова Н.В. и др. Оценка качества гибридных рекомбинантных белков на основе белка E7 вируса папилломы человека 6 или 11 типа, конъюгированный с полноразмерным белком теплового шока HSP 70 *Mycobacterium tuberculosis* // *Биофармацевтический журнал*. – 2015. – № 1. – С. 40–46.
5. Кухаренко А.Е., Гравель И.В., Хамитов Р.А. Использование моделей *in vivo* для оценки иммуногенности терапевтических вакцин против впч на основе онкобелка E7 // *Иммунология*. – 2015. – № 1. – С. 52–57.
6. Benchetrit F., Gazagne A., Adotevi O., Haicheur N., Godard B., Badoual C., Fridman W.H., Tartour E. Cytotoxic T lymphocytes: role in immunosurveillance and in immunotherapy // *Bull Cancer*. – 2003. – № 8–9. – P. 677–685.
7. Hung C.F. Wu T.C., Monie A., Roden R. Antigen-specific immunotherapy of cervical and ovarian cancer. *Immunol Rev*. – 2008. – № 222. – P. 43–69.
8. Joly A.L. Wettstein G., Mignot G., Ghiringhelli F., Garrido C. Dual role of heat shock proteins as regulators of apoptosis and innate immunity // *J Innate Immun*. – 2010. – Vol. 2, № 3. – P. 238–47.
9. Sharma R.K. Srivastava A.K., Yolcu E.S., MacLeod K.J., Schabowsky R.-H., Madireddi S., Shirwan H. SA-4-1BBL as the immunomodulatory component of a HPV-16 E7 protein based

vaccine shows robust therapeutic efficacy in a mouse cervical cancer model. *Vaccine*. – 2010. – № 36. – P. 5794–5802.

### References

1. Kozlov D.G., Cheperegin S.Je., Gubajdullin I.I., Efremov B.D., Tjurin O.V., Zalunin I.A. Sposob polucheniya belka E7-HSP70 i shtamma drozhzhey *Saccharomyces cerevisiae* dlya ego osushhestvleniya. Patent RF no. 2489481, 2013.
2. Kuharenko A.E., Gavrilova N.A., Gravel' I.V., Cherepushkin S.A. i dr. Standartizatsiya gotovoy lekarstvennoy formy terapevticheskoy vaktsiny protiv VPCh-assotsirovannykh zaboolevaniy // *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014. no. 12. pp. 1477–1481.
3. Kuharenko A.E., Gavrilova N.A., Sautkina E.N., Gravel I.V. i dr. Metodicheskie podhody k kontrolju kachestva terapevticheskikh vaktsin protiv VPCh-assotsirovannykh zaboolevaniy // *Biopreparaty*. 2014. no. 4. pp. 14–23.
4. Kuharenko A.E., Gavrilova N.A., Cherepushkin S.A., Orlova N.V. i dr. Ocenka kachestva gibridnykh rekombinantnykh belkov na osnove belka E7 virusa papillomy cheloveka 6 ili 11 tipa, konjugirovannyj s polnorazmernym belkom teplovogo shoka HSP 70 *Mycobacterium tuberculosis* // *Biofarmaceuticheskij zhurnal*. 2015. no. 1. pp. 40–46.
5. Kuharenko A.E., Gravel I.V., Hamitov R.A. Ispolzovanie modelej in vivo dlya ocenki immunogennosti terapevticheskikh vaktsin protiv vpch na osnove onkobelka E7 // *Immunologiya*. 2015. no. 1. pp. 52–57.
6. Benchetrit F., Gazagne A., Adotevi O., Haicheur N., Godard B., Badoual C., Fridman W.H., Tartour E. Cytotoxic T lymphocytes: role in immunosurveillance and in immunotherapy // *Bull Cancer*. 2003. no. 8–9. pp. 677–685.
7. Hung C.F. Wu T.C., Monie A., Roden R. Antigen-specific immunotherapy of cervical and ovarian cancer. *Immunol Rev*. 2008. no. 222. pp. 43–69.
8. Joly A.L. Wettstein G., Mignot G., Ghiringhelli F., Garrido C. Dual role of heat shock proteins as regulators of apoptosis and innate immunity // *J Innate Immun*. 2010. Vol. 2, no. 3. pp. 238–47.
9. Sharma R.K. Srivastava A.K., Yolcu E.S., MacLeod K.J., Schabowsky R.-H., Madireddi S., Shirwan H. SA-4-1BBL as the immunomodulatory component of a HPV-16 E7 protein based vaccine shows robust therapeutic efficacy in a mouse cervical cancer model. *Vaccine*. 2010. no. 36. pp. 5794–5802.

### Рецензенты:

Ураков А.Л., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, научный сотрудник отдела термомодеформационных процессов Института механики Уральского отделения РАН, главный внештатный специалист по фармакоэкономике Минздрава РФ, эксперт секции медико-биологических и фармацевтических наук ВАК Минобрнауки РФ, заслуженный изобретатель РФ, г. Ижевск;

Сипров А.В., д.м.н., профессор кафедр фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», г. Саранск.