

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИТЕЛ ИЗ ЖЕЛТКОВ ЯИЦ В КОНТЕКСТЕ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В.С. Каплин, кандидат биологических наук
Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины,
НИИ биохимии СО РАН
E-mail: vskaplin@frcftm.ru

Ключевые слова: антитела из желтков яиц, IgY, пассивная иммунизация, целиакия, язва желудка, рыбы, креветки.

Реферат. Уникальные свойства антител из желтков яиц кур (IgY) дают возможность использовать их в широком диапазоне лечебно-профилактических назначений. Применение IgY-технологии не вызывает привыкания, эти антитела нетоксичны, не взаимодействуют ни с ревматоидным фактором, ни с комплементом, ни с Fc-фрагментами иммунокомпетентных клеток и не вызывают антителозависимого усиления инфекции. Пероральный приём специфических IgY-антител существенно снижает проявления целиакии и патологических состояний, вызванных активацией возбудителей в желудочно-кишечном тракте. Пассивная иммунизация молодняка сельскохозяйственных животных IgY-антителами экономична и эффективна в отношении многих видов млекопитающих, птиц и водных животных. Большой потенциал этого нового направления может обеспечить быстрый и экономичный прорыв в повышении эффективной продовольственной безопасности РФ.

THE POTENTIAL USE OF ANTIBODIES FROM EGG YOLKS OF BIRD EGGS IN THE CONTEXT OF FOOD SECURITY OF THE RUSSIAN FEDERATION

V.S. Kaplin, PhD in Biological Sciences
Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Research Institute of
Biochemistry SB RAS

Key words: antibodies from egg yolks, IgY, passive immunization, celiac disease, peptic ulcer, fish, shrimp.

Abstract. Bering E. proposed the principle of passive immunization at the end of the 19th century. Today, it is still used to treat tetanus, diphtheria, botulism, rabies and poisonous animal bites (snakes, spiders and scorpions). As before, equine antibodies or their fragments are used as an antidote. But the unique properties of antibodies from the yolks of chicken eggs (IgY) make it possible to use them for a wide range of therapeutic and prophylactic purposes. IgY-antibodies are used in several countries (Canada, Germany, Japan, China) on an industrial scale to produce medical and veterinary drugs to protect humans and animals against pathogens, providing highly effective immunological protection. The Romanian Romvac Company SA is a separate company in the series of manufacturers of these drugs. This company produces IgY preparations in limited batches against many antigens and practices the production of personalized antibodies directed at pathogens of a particular patient. This approach is guaranteed to damage the pathogen, however unique it may be. The authors have analyzed many review articles on the use of IgY-technology. These antibodies are nonaddictive,

non-toxic, do not interact with rheumatoid factor, complement, or Fc-fragments of immunocompetent cells, and do not cause antibody-dependent reinforcement of infection. Oral administration of specific IgY-antibodies significantly reduces the manifestations of celiac disease and pathological conditions caused by activation of pathogens in the gastrointestinal tract. Passive immunization of young farm animals with IgY-antibodies is economical and practical against many mammals, birds and aquatic animals. The great potential of this new direction can provide a rapid and cost-effective breakthrough in improving the adequate food security of the Russian Federation.

В работе «Естественный иммунитет и его использование в иммунотерапии» в 1893 г. F. Klemperer [1] предвосхитил то направление, которое стало наиболее востребованным в начале XX в., пока не появились антибиотики. F. Klemperer показал, что после иммунизации кур столбнячным токсином в их крови, а самое главное, в желтках их яиц появляются специфические антитела. Пассивный иммунитет – это передача готовых активных антител (сывороток) от донора к реципиенту, причём передаваемые сыворотки могут быть как гомологичными, так и гетерологичными, полученными от разных видов животных. Долгое время кур не рассматривали в качестве потенциальных доноров из-за небольшого количества сыворотки, которое можно было получить от этих птиц. Но в 1959 г. W.M.S. Russell и R.L. Burch опубликовали свой труд «Принципы гуманной экспериментальной техники», в котором предлагали пересмотреть отношение к лабораторным животным. Интерес к открытию F. Klemperer стал очень медленно возрастать, так как антитела предлагалось получать из яиц, а не из сыворотки кур [2]. Название «IgY» было предложено в 1969 г. G.A. Leslie и L.W. Clem после того, как они смогли показать различия между иммуноглобулинами, обнаруженными в куриных яйцах и IgG млекопитающих [3]. Иммуноглобулин IgY является основным антителом, обнаруженным как в сыворотке крови, так и в яйцах кур (*Gallus domesticus*), рептилий и земноводных [4]. Яичный желток – обильный источник иммуноглобулинов, общее количество которых превышает 100 мг на одно яйцо курицы. Кроме того, выделение IgY из яичного желтка – процедура относительно простая и неинвазивная. В зарубежной литературе есть сведения о цене препаратов IgY. Стоимость 1 г куриных антител составляет примерно 10 долл., в то время как 1 г IgG млекопитающих стоит 20000 долл. [5], что связано с относительно сложной процедурой извлечения IgG из сыворотки крови. При этом птичьи антитела обладают ценными качествами: они не взаимодействуют с компонентами комплемента, с ревматоидным фактором, с Fc-рецепторами иммунных клеток млекопитающих. Это существенно снижает побочные негативные последствия пассивной иммунизации.

Пероральная передача антител является наиболее подходящим вариантом для лечения инфекций, поражающих желудочно-кишечный тракт человека и животных. Иммунитет, полученный при пассивной иммунизации, сохраняется в течение короткого периода времени, пока антитела остаются в организме, но он обеспечивает мгновенную защиту и ценен при острых заболеваниях [6, 7].

Пассивная иммунизация становится всё более и более востребованной альтернативой антибиотикам, когда микроорганизмы становятся нечувствительными к ним [8]. Опасения, вызванные возможностью переваривания IgY в желудочно-кишечном тракте млекопитающих, были развеяны японскими учёными, показавшими, что 40% молекул IgY остаются нетронутыми и функционально активными [9].

Существует много публикаций об использовании птичьих антител для пассивной иммунизации в качестве лечебных и профилактических препаратов для людей и животных [8]. С точки зрения продовольственной безопасности экономически выгоднее выпускать унифицированные препараты на основе IgY-антител с различной специфичностью, чем множество разнообразных препаратов, выпускаемых по различным технологиям.

Целью этого обзора является показать перспективность и безопасность IgY-технологий применительно к лечению и профилактике заболеваний человека и сельскохозяйственных животных, обеспечивающих продовольственную безопасность РФ.

Приём в пищу глютенсодержащих злаков начался 10 тысяч лет тому назад, причём глиадины в этих злаках было в десятки раз меньше, чем в современных культурах. Глютен – основной структурный белковый комплекс злаковых культур с токсичными белками [10]. Фракции токсичного белка из глютена включают глиадины, содержащие мономерные белки, и глютеины, содержащие агрегированные белки. Влияние глютена на иммунную систему приводит к возникновению целиакии, при которой реакция на глютен активирует Т-клетки в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта.

Целиакия (глютенная энтеропатия) – хроническое заболевание, связанное с нарушением пищеварения. Это генетическое аутоиммунное нарушение функций кишечника у предрасположенных людей при употреблении в пищу таких белков, как глиадин из пшеничного зерна, гордеин из зерна ячменя, секалин из ржи, авенин из зерна овса, объединённых в общее название – глютен, проявляющееся энтеропатией и внекишечными признаками или протекающее бессимптомно. Заболевание характеризуется потерей рассасывающих ворсинок и гиперплазией крипт. Целиакия – одно из самых распространённых заболеваний в человеческой популяции с распространённостью более 1 %.

Классические симптомы целиакии включают диарею, стеаторею, потерю массы тела вследствие мальабсорбции. Около 50 % больных имеют внекишечные или атипичные проявления: анемию, остеопороз, герпетиформный дерматит, гипоплазию зубной эмали и неврологические нарушения. Разнообразие клинических типов обусловлено генетическими и иммунологическими причинами, временем манифестации, степенью повреждения слизистых оболочек, пищевыми привычками и полом [11].

В настоящее время единственным средством лечения лиц, страдающих целиакией, является строгая пожизненная безглютеновая диета. Однако строгое соблюдение диеты является сложной задачей, поэтому многие пациенты страдают от случайного приёма клейковины. Непреднамеренное поступление в организм клейковины колеблется от нескольких миллиграммов до 2 г в сутки, чего бывает достаточно, чтобы вызвать симптомы интерстициального морфологического изменения. Для обеспечения продовольственной безопасности 1 % населения страны, страдающего от целиакии, необходимо принимать меры, обеспечивающие невозможность употребления глютена больным: просветительская работа, разработка специальных продуктов питания и разработка препаратов-антидотов.

Пероральный приём желточных куриных антител против глютена является новым методом нейтрализации клейковины и может повысить эффективность безглютеновой диеты. Куриный желточный иммуноглобулин (IgY) является перспективным антителом для профилактики кишечной абсорбции глиадины злаков. Кур породы белый леггорн иммунизировали глиадином. В желтки иммунизированных кур добавляли маннит и сушили в распылительной сушилке. В полученном таким способом порошке активность антител сохранялась на уровне 99,9 %. В экспериментах *in vitro* было показано, что в искусственной желудочной жидкости активность IgY антител остаётся высокой (82,4 %) даже через 2 ч инкубации при 37 °C. В экспериментах *in vivo* мышей линии BALB/c кормили порошком антител и глиадином в соотношении 1:5 (по массе). При этом свободный, не связанный с антителами, глиадин в желудочно-кишечном тракте составлял менее 1 % [12]. Позже эти же авторы провели исследование на модели клеточной культуры кишечника Caco-2. Антиглиадиновые IgY-антитела значительно предотвращали глиадиновую токсичность на Caco-2, поддерживая целостность кишечника, ингибируя абсорбцию глиадины и продуцируя провоспалительные цитокины TNF- α (фактор некроза опухоли – α) и IL-1 β (интерлейкин-1 β) по сравнению со стимулированными глиадином культурами [13].

Эксперимент D.A. Sample с соавторами [14] проводился на 10 взрослых добровольцах. Для подтверждения целиакии у пациентов были взяты биопсийные пробы. Кроме того, ежедневно проверялся индекс симптомов целиакии, а также уровень антиглиадиновых антител классов IgA/IgG. Каждому испытуемому выдавалось по 2 капсулы, содержащие IgY антитела, на приём, но не более 10 капсул в сутки. Средний возраст пациентов составил 43,4 года. Все добровольцы следовали безглютеновой диете как минимум 6 месяцев. Вводимые перорально IgY-антитела не были токсичными и не вызывали аутоиммунных реакций. У большинства пациентов наблюдали меньше симптомов целиакии (особенно таких, как утомляемость, головная боль и вздутие живота), улучшение качества жизни, снижение антител IgA/IgG классов по сравнению с начальным периодом.

Таким образом, IgY-антитела могут быть использованы при лечении пациентов, страдающих целиакией, и в качестве профилактической меры защиты от непреднамеренного употребления глютена с пищей. Учитывая широкую распространённость целиакии в человеческой популяции, необходимо предпринимать меры защиты больных пациентов. Наряду с выпуском безглютеновых продуктов, необходимо разрабатывать препараты, снижающие активность глютена, случайно попавшего в организм больного.

Язва желудка также является одним из распространённых заболеваний человека. *Helicobacter pylori* – спиральный грамотрицательный микроаэрофильный патоген, обычный обитатель желудка и слизистой оболочки двенадцатипёрстной кишки. Микроорганизм считается одним из наиболее распространённых патогенов в человеческой популяции. По оценкам различных авторов, во всем мире инфицированность этим микроорганизмом достигает более 60 % (15–25 % в странах Европы и Северной Америки и более 90% в странах третьего мира). *H. pylori* признается этиологическим агентом гастрита, язвенной болезни, а также связан с развитием аденокарциномы желудка и лимфомы. Искоренение хеликобактерной инфекции неизменно терпит неудачу, когда пациентов пытаются излечить с помощью антибиотиков. Необходимы альтернативные методы лечения, основанные на контролируемом снижении активности *H. pylori*.

Использование пробиотиков для подавления *H. pylori* в организме человека изучалось несколькими исследователями. Отмечались лишь незначительные тенденции к подавлению *H. pylori* питьевым йогуртом, содержащим молочнокислые бактерии, в желудке человека [15, 16]. Только когда лечебные йогурты были обогащены добавками, представляющими собой специфические к *H. pylori* куриные желточные антитела, был продемонстрирован терапевтический эффект подавления инфекции.

В качестве доноров проверялись такие животные, как утки, куры и перепёлки [17–20]. Из яиц этих птиц были получены IgY-антитела против *H. pylori* с хорошими нейтрализующими титрами.

Важным моментом в получении птичьих антител является выбор антигена. Особенностью данного микроорганизма является возможность ускользания от воздействия кислотного содержимого желудка. Для колонизации слизистой оболочки *H. pylori* обильно производит уреазу – фермент, переводящий мочевины, которая находится в желудочном соке или диффузно попадает через эпителий, в аммиак, нейтрализующий среду в слизистой оболочке желудка. Именно использование IgY-антител против уреазы даёт значительно лучшие результаты при подавлении бактериальной инфекции [21]. Было показано, что IgY-антиуреазные антитела имели высокую специфичность и значительную эффективность против *H. pylori* из-за их способности ингибировать активность бактерии. Захват бактерий, ассоциированных с уреазой, в желудочном слое слизистой оболочки приводит к агрегации и агрегации бактерий, которые формируют иммунный осадок, покидающий желудок, а затем и кишечник [15, 21].

R. Solhi et al. оценили возникновение перекрестной реакции между штаммом – продуцентом IgY-антител и четырьмя другими штаммами *H. pylori*. Антитела подавляли рост клеток и фермент уреазу не только штамма, к которому он был специфичен, но и других штаммов [22].

Белок HP-NAP является одним из основных факторов вирулентности *H. pylori*, который может опосредовать связывание бактерий с эпителиальными углеводами клеток хозяина. Рекомбинантный белок HP-NAP использовали для иммунизации кур. В результате наблюдалось значительное ингибирование адгезии бактерий к культуральным клеткам AGS [23]. Куриные антитела к белку HP-NAP могут быть полезными при лечении инфекции, вызванной *H. pylori*.

Вакуолизирующий цитотоксин A (Vac A) относится к числу многофункциональных токсических белков, выделяемых *H. pylori*, который обеспечивает его постоянное активное состояние в желудке человека. Кур иммунизировали Vac A. Эксперименты проводили на мышах, которым перорально вводили анти-Vac A IgY в течение двух недель до заражения *H. pylori* и 4 недели после заражения. Пероральное введение анти-VacA IgY коррелирует с защитным эффектом против колонизации *H. pylori*. Этот препарат, как ожидается, будет новым лекарственным кандидатом для борьбы с данной инфекцией [24].

J.H. Shin с соавторами показали возможность использования синтетических пептидов для инициации образования антител у кур, иммунизированных эпитопами уреазы *H. pylori*, конъюгированными с бычьим сывороточным альбумином. Из пяти проанализированных синтетических пептидов только один, представляющий 15 аминокислотных остатков (UreB), специфически распознавался антителами. Следовательно, специфические IgY-антитела, продуцируемые после иммунизации кур синтетическим пептидом, могут быть эффективным средством против инфекции *H. pylori* [25].

Активность перорально вводимых IgY-антител может быстро снизиться под действием соляной кислоты желудочного сока, в котором содержатся пепсин, трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза и эластаза [26]. Однако исследования показали, что часть антител расщепляются пепсином и трипсином до Fab, Fab'2 и Fc-фрагментов. Известно, что Fab'2 и Fab-фрагменты несут антигенсвязывающие участки, которые нейтрализуют активность *H. pylori* in situ [27]. Для защиты IgY-антител от агрессивного воздействия желудочной среды разработаны различные композиции, в том числе желатин, хитозан, альгинат, маннит и др. IgY в суспензиях желтка и яиц показали более высокую активность антител, чем у очищенных растворов антител, при инкубации с пищеварительными ферментами из-за буферного эффекта других белков, присутствующих в яичном желтке и яичной суспензии [12–30].

В Японии был разработан функциональный продукт – питьевой йогурт с антителами против *H. pylori*. IgY-антитела после пастеризации были добавлены к охлажденному до 4°C йогурту и хранились до 3 недель без потери активности. Состав йогурта был рассчитан таким образом, чтобы на один прием приходилось 2 г желтков иммунизированных кур или 20 мг IgY. Для оценки наличия *H. pylori* в желудке использовали изотопный метод определения ¹³C в выдыхаемом воздухе. В эксперименте участвовали 174 добровольца. Каждый доброволец потреблял 1 чашку йогурта дважды в день в течение 12 недель. Дыхательные тесты проводились на 4-й, 8-й и 12-й неделях. Результаты тестов показали значительные изменения начиная с 8-й недели. Уровень CO₂ снизился на 55,1 % на 8-й неделе и на 57,2 % на 12-й неделе [31, 21]. Хотя полная ликвидация патогенного заселения в желудке, по-видимому, невозможна, снижение бактериальной нагрузки привело к улучшению качества жизни инфицированных пациентов. Эта терапия может служить в качестве дополнения к стандартному лечению.

Другие клинические исследования с использованием куриных антител против уреазы *H. pylori*, проведенные на Тайване и в Корее, показали аналогичные результаты [32, 33]. Эти три независимые работы являются доказательством эффективности йогуртов со специфическими

куриными антителами, снижающими количество *H. pylori* в организме человека. Прием внутрь этих продуктов хорошо переносился и не вызывал побочных эффектов или осложнений.

Как отмечалось выше, не только IgY-антитела к *H. pylori*, но и антитела к уреазе инактивируют бактерию. Таким же свойством обладает белок HP-NAP и вакуолизирующий цитотоксин A (Vac A). К сожалению, не описаны варианты совместного использования уреазы, белка HP-NAP и Vac A, что могло бы усилить защитный эффект IgY-антител. Пассивная иммунизация с использованием желточных антител против *H. pylori* в составе йогурта – удачная попытка в создании функционального продукта питания. К сожалению, в РФ подобных попыток нет.

В 2014 г. мировое население впервые употребило в пищу больше искусственно выращенной рыбы, а не добытой традиционным рыболовством [34]. Большое количество рыбы и морепродуктов получают искусственным путём, выращивая их в ограниченных ёмкостях. В этой ситуации возникает опасность передачи инфекционных заболеваний всему стаду животных. Опыт показывает, что добавление к воде раствора специфических IgY-антител существенно снижает инфекционное заражение животных.

Эритродерматит карпа – контагиозное заболевание кожи, протекающее в подострой или хронической форме, возбудитель – *Aeromonas salmonicida*. Эта болезнь вызывает серьёзную озабоченность у заводчиков декоративных кои-капов, поскольку возбудитель вызывает изъязвление кожи, обезображивание декоративных рыб и ведет к экономическим потерям. В экспериментах Н. Gan с соавторами [35] было показано, что IgY-антитела, полученные от кур, иммунизированных *A. salmonicida*, обладают протективной активностью в отношении возбудителя. Погружение рыб в воду, содержащую специфические IgY-антитела, полностью предотвращало язвенную болезнь, вызванную возбудителем, что указывает на профилактический эффект данной процедуры. Таким образом, пассивная иммунизация, проведённая путём погружения рыб в аквариумную воду, содержащую специфические IgY-антитела, является перспективной профилактикой заболеваний, вызываемых патогенами, которые вторгаются в кожу и жабры рыб.

Эдвардсиеллез – инфекционное заболевание, вызванное *Edwardsiella tarda* и поражающее угрей и сомов. М.А. Gutierrez с соавторами [36] получили от кур желточные IgY-антитела против *E. tarda*, содержащие 20 % специфических антител с агглютинационным титром 1:128. Куры были вакцинированы убитыми формалином бактериями. Предварительные эксперименты показали, что IgY устойчив к пищеварительным факторам угря и может вводиться перорально. IgY вводили в дозе 200–400 мкг на рыбу и одновременно инокулировали 10^{5-6} КОЕ возбудителя. У рыб, которым перорально вводили IgY-антитела, отмечалось снижение смертности. Эти результаты показывают, что яичный желток, содержащий IgY-антитела против *E. tarda*, эффективен в предотвращении эдвардсиеллеза.

Вирус синдрома белого пятна (WSSV) вызывает высокую смертность у культивируемых креветок и большие экономические потери. В исследовании Y. Lu с соавторами [37] кур иммунизировали рекомбинантной плазмидой или инактивированным вирусом. В результате были получены две партии иммуноглобулинов: IgY-антитела от инактивированной вакцины и IgY-антитела от ДНК-вакцины, которые были использованы для защиты креветок *Metapenaeus ensis* от вируса. Используя специфические куриные IgY-антитела для пассивной иммунизации креветок, удалось получить 73,3 % защиты от инактивированной вакцины и 33,3 % защиты от ДНК-вакцины. Таким образом, результаты показывают, что стратегия пассивной иммунизации с использованием IgY-антител является ценным методом защиты креветок от вируса.

Vibrio harveyi и *Vibrio parahaemolyticus* – бактерии, являющиеся основной причиной смертности белых креветок (*Litopenaeus vannamei*), у которых отсутствует адаптивный иммунитет. Пассивная иммунизация специфическими IgY-антителами является потенциальным методом защиты креветок от вибриоза. Были приготовлены порошки яичного желтка против

V. harveyi и *V. parahaemolyticus* для пассивной иммунизации белых креветок. Титры антител определяли с помощью реакции агглютинации и непрямой иммуноферментным анализом. Желточные антитела инкапсулировали β -циклодекстрином, который поддерживает активность антител в желудочно-кишечном тракте креветок. Результаты показали, что яичный порошок, приготовленный против *V. harveyi*, снижает смертность креветок в среднем на 38,2 % за 48 ч, против контрольной группы, смертность в которой составила в среднем 85,5 %. Применение яичного порошка против *V. parahaemolyticus* снизило смертность креветок на 41,5 % против контрольной группы, смертность в которой составила в среднем 86,0 %. Эти результаты показывают, что пассивная иммунизация креветок путем перорального введения специфических IgY-антител может обеспечить серьезную защиту белых креветок от вибриоза [38].

Vibrio splendidus является одним из самых опасных патогенов, вызывающим язвы кожи у морского огурца (*Apostichopus japonicus*) из-за его высокой вирулентности и частоты появления. Целые клетки *V. splendidus* были использованы в качестве иммуногена для иммунизации кур породы леггорн. IgY получали из яичных желтков иммунизированных кур. Титр антител составил 320000 в непрямом ИФА. Защитные эффекты в морском огурце оценивали путем внутрибрюшинного введения IgY-антител (10 мг/мл) или погружением морского огурца в аквариум с IgY-антителами (1 г / л) после внутрибрюшинной инъекции возбудителя. Внутрибрюшинные инъекции антител повышали выживаемость на 80 %, в то время как погружение огурца в аквариум приводило к 75 %-му выживанию в течение 11-дневного периода. Вызванный целомоцитами фагоцитоз бактерий *V. splendidus* в присутствии специфических IgY-антител был значительно выше, чем у неспецифических IgY или без IgY. Эта работа показывает, что специфические IgY-антитела имеют потенциал для защиты морского огурца от инфекции *V. splendidus* [39].

Свежая рыба. Рыбная промышленность сталкивается с проблемами безопасности и качества морепродуктов из-за различий в пищевых стандартах внутри стран и между странами. При хранении рыбной продукции в условиях низких положительных температур возникают угрозы заражения продукта различными микроорганизмами родов *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Putrefaciens*, *Listeria*, *Paralichthys*, *Flavobacterium*, что может привести к быстрой порче всего улова. Для сокращения потерь применяют антибиотики или бактериофаги, но дешевле, эффективнее и безопаснее использование специфических IgY-антител против гнилостных бактерий.

Микробиологическая порча пищевых продуктов рыболовства происходит из-за определенных гнилостных микроорганизмов. А. Ehsani с соавторами [40, 41] изучали влияние специфических желточных антител к бактериям, вызывающим порчу морепродуктов, вместе с ликопином и хитозаном на химическое качество филе радужной форели в течение 16 дней хранения в холодильнике. Кур иммунизировали против *Pseudomonas fluorescens* и *Shewanella putrefaciens*, собирали иммунные яйца и выделяли IgY обычным способом. Затем рыбное филе погружали в растворы на основе хитозана, содержащие ликопин и IgY-антитела. Анализировали на изменения окисления липидов, свободных жирных кислот в течение 16 дней хранения в холодильнике. Результаты показали, что растворы хитозана с ликопином и IgY значительно повышают окислительную стабильность липидов в рыбном филе, но комбинированное использование ликопина и IgY показало более высокий эффект в отношении замедления скорости окисления липидов. Содержание насыщенных жирных кислот увеличивалось при всех видах обработки, хотя растворы, содержащие ликопин и антитела, значительно замедляли этот процесс по сравнению с контрольной группой. Следовательно, IgY-антитела и ликопин являются хорошими биоконсервантами, и добавление их в раствор для покрытия морепродуктов улучшает свойства продукта и предотвращает окисление липидов.

В заключение следует сказать, что хитозановое покрытие, содержащее антитела из яичного желтка (антитела против *Pseudomonas fluorescens* и против *Shewanella putrefaciens*) в соче-

тании с ликопином, особенно в более высоких концентрациях, оказало наибольшее влияние на филе радужной форели. Это покрытие может использоваться для биоконсервирования морепродуктов, улучшая их химические свойства и продлевая срок хранения на 16 дней.

Таким образом, из приведённых научных источников видно, что IgY-технологии, которые являются логическим продолжением заложенной в конце XIX в. сывороточной терапии, начинают развиваться и пополняться новыми возможностями благодаря уникальным свойствам антител, выделенных из желтка яиц птиц, иммунизированных целевыми антигенами. За рубежом выпускается большое количество медицинских и ветеринарных препаратов на основе IgY в промышленных масштабах. Продолжаются исследования в области создания новых направлений в IgY-технологиях. В РФ только сейчас стали появляться статьи об изучении свойств птичьих желточных антител. Нет ни одной фирмы, занимающейся промышленным производством продуктов на основе IgY-технологий, что является серьёзным отставанием в российской фармакологии. Необходимо создать это новое направление, и серьёзное внимание уделить разработке и применению персонализированных IgY-антител, что даст возможность выйти на передовые позиции в науке.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Klemperer F.* Ueber naturliche Immunitat und ihre Verwertung fur die Immunisirungstherapie // Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol. – 1893. – Vol. 31. – P. 356–382.
2. *Russell W.M.S., Burch R.L.* The principles of human experimental technique. – London: UK: Methuen, 1959. – P. 51.
3. *Leslie G.A., Clem L.W.* Phylogen of immunoglobulin structure and function. Immunoglobulins of the chicken // J Exp Med. – 1969. – Vol. 130 (6). – P. 1337–1352.
4. *Marchalonis J.J.* Immunity in Evolution. – Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1977. – P. 1–336.
5. Стратегия иммунотерапии и перспективы использования поликлональных антител в клинической практике (обзор) / О.А. Верховский, Т.И. Алипер, О.Ю. Черных, Е.А. Непоклонов // Ветеринария Кубани. – 2016. – № 6. – С. 3–7.
6. *Mine Y., Kovacs-Nolan J.J.* Chicken egg yolk antibodies as therapeutics in enteric infectious disease: a review // Med. Food. – 2002. – Vol. 5 (3). – P. 159–169.
7. *Каплин В.С., Каплина О.Н.* IgY-технологии. Желточные антитела птиц // Биотехнология. – 2017. – № 2. – С. 29–40.
8. Oral passive immunization effect of anti-human rotavirus IgY and its behavior against proteolytic enzymes / H. Hatta, K. Tsuda, S. Akachi [et al.] // Biosci Biotechnol Biochem. – 1993. – Vol. 57 (7). – P. 1077–1081.
9. *Li X.* Production, application, and stability of chicken egg yolk antibody (IgY). – University of Alberta. Spring, 2000.
10. *Ghosh S.* Advances in our understanding of the pathogenesis of celiac disease // Can. J. Gastroenterol. – 2011. – Vol. 25 (4). – P. 186–192.
11. *Копишинская С.В.* Современные представления о целиакии // Казанский медицинский журнал. – 2016. – Т. 97, №1. – С. 101–107.
12. *In vitro* and *in vivo* binding activity of chicken egg yolk immunoglobulin Y (IgY) against gliadin in food matrix / N. Gujral, R. Lobenberg, M. Suresh [et al.] // J Agric Food Chem. – 2012. – Vol. 60 (12). – P. 3166–3172.

13. *Gujral N., Suh J.W., Sunwoo H.H.* Effect of anti-gliadin IgY antibody on epithelial intestinal integrity and inflammatory response induced by gliadin // *BMC Immunol.* – 2015. – Vol. 16 (1). – P. 1–11.
14. *AGY*, a novel egg yolk-derived anti-gliadin antibody, is safe for patients with Celiac disease / D.A. Sample, H.H. Sunwoo, H.Q. Huynh [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2017. – Vol. 62 (5). – P. 1277–1285.
15. *Effect* of frequent consumption of a *Lactobacillus casei*-containing milk drink in *Helicobacter pylori*-colonized subjects / A. Cats, E.J. Kuipers, M.A.R. Bosschaert [et al.] // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* – 2003. – Vol. 17 (3). – P. 429–35.
16. *Suppressive* effect of *Lactobacillus gasseri* OLL 2716 (LG21) on *Helicobacter pylori* infection in humans / I. Sakamoto, M. Igarashi, K. Kimura [et al.] // *Antimicrobial Chemotherapy.* – 2001. – Vol. 47. – P. 709–710.
17. *Kalaigandhi V., Poovendran P., Poongunran E.* In vitro study on comparative for chicken egg antibody and ducks egg antibody production against *Helicobacter pylori* // *J. Microbiol. Biotech. Res.* – 2011. – Vol. 1. – P. 127–134.
18. *Treatment* of *Helicobacter pylori* infection in mice with oral administration of egg yolk-driven anti-UreC immunoglobulin / Z. Malekshahi, S.L. Gargani, I. Rasooli, W. Ebrahimizadeh // *Micro. Patho.* – 2011. – Vol. 51. – P. 366–372.
19. *Immuno-detection* of *Helicobacter pylori*-specific proteins in oral and gastric *Candida* yeasts / P. Saniee, F. Siavoshi, G. Nikbakht Brujeni [et al.] // *Arch. Iran Med.* – 2013. – Vol. 16. – P. 624–630.
20. *Development* of anti-*Helicobacter pylori* immunoglobulins Y (IgYs) in quail / S. Najdi, G. Nikbakht Brujeni, N. Sheikhi, S. Chakhkar // *Iran J Vet Res. Spring.* – 2016. – Vol. 17 (2). – P. 106–110.
21. *Effect* of Functional Drinking Yogurt Containing Specific Egg Yolk Immunoglobulin on *Helicobacter pylori* in Humans / K. Horie, N. Horie, A.M. Abdou [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2004. – Vol. 87. – P. 4073–4079.
22. *In vitro* evaluation of cross-strain inhibitory effects of IgY polyclonal antibody against *H. pylori* / R. Solhi, M. Alebouyeh, A. Khafri [et al.] // *Microbial pathogenesis.* – 2017. – Vol. 110. – P. 682–687.
23. *Inhibitory* effects of rHP-NAP IgY against *Helicobacter pylori* attachment to AGS cell line / K. Borhani, A.M. Mobarez, A.R. Khabiri, [et al.] // *Microbial pathogenesis.* – 2016. – Vol. 97. – P. 231–235.
24. *Preventive* effect of anti-VacA egg yolk immunoglobulin (IgY) on *Helicobacter pylori*-infected mice / K.S. Hong, M.R. Ki, H.A. Ullah [et al.] // *Vaccine.* – 2018. – Vol. 36(3). – P. 371–380.
25. *Shin J.H., Roe I.H., Kim H.G.* Production of anti-*Helicobacter pylori* urease-specific immunoglobulin in egg yolk using an antigenic epitope of *H. pylori* urease // *J Med Microbiol.* – 2004. – Vol. 53 (1). – P. 31–34.
26. *Reilly R.M., Domingo R., Sandhu J.* Oral delivery of antibodies. Future pharmacokinetic trends // *Clin Pharmacokinet.* – 1997. – Vol. 32(4). – P. 313–323.
27. *Akita E.M., Li-Chan E.C., Nakai S.* Neutralization of enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile toxin by chicken egg yolk immunoglobulin Y and its antigen-binding fragments // *Food and agricultural immunology.* – 1998. – Vol. 10 (2). – P. 161–172.
28. *Characteristics* of polyion complexes of chitosan with sodium alginate and sodium polyacrylate / T. Takahashi, K. Takayama, Y. Machida, T. Nagai // *Int. J. Pharm.* – 1990. – Vol. 61. – P. 35–41.
29. *Akita E.M., Nakai S.* Preparation of enteric-coated gelatin capsules of IgY with cellulose acetate phthalate // *Egg Nutrition and Biotechnology* / J.S. Sim, S. Nakai, W. Guenter, Eds. – CABI Publishing Press: Wallingford, U.K., 2000. – P. 301–310.

30. *Influence* of chitosan-alginate microcapsules containing anti-*Vibrio harveyi* IgY in the Gastrointestinal Tract Simulation / K. Punyokun, R. Hongprayoon, P. Srisapoome, T. Sirinarumitre // *Modern Applied Science*. – 2015. – Vol. 9 (12). – P. 110–117.
31. *Development* of Anti-*Helicobacter pylori* Urease IgY and Its Application for Food Product / T. Yamane, Y. Saito, S. Takizawa [et al.] // *Food Processing and Ingredients*. – 2003. – Vol. 38. – P. 70.
32. *Chen J.P., Chang M.C.* Effect of Anti-*Helicobacter pylori* Urease Antibody (IgY) as a Food Ingredient on the Decrease of *H. pylori* in the Stomach of Humans Infected with *H. pylori* // *Taiwanese Journal of Agricultural Chemistry and Food Science*. – 2003. – Vol. 41. – P. 408–414.
33. *Immunoglobulin: A Natural Way to Suppress Helicobacter pylori in Humans* / A.M. Abdou, M.E. Manal, Y. Yamashita, M. Kim // *Health*. – 2014. – Vol. 6 (8). – P. 781–791.
34. *Состояние мирового рыболовства и аквакультуры: информ. листок* / Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций (FAO). – 2016.
35. *Ulcer* disease prophylaxis in koi carp by bath immersion with chicken egg yolk containing anti-*Aeromonas salmonicida* IgY / H. Gan, H. He, A. Sato [et al.] // *Res Vet Sci*. – 2015. – Vol. 99. – P. 82–86.
36. *Protective* properties of egg yolk IgY containing anti *Edwardsiella tarda* antibody against paracolo disease in the Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel / M.A. Gutierrez, T. Miyazaki, H. Hatta, M. Kim // *Journal of Fish Diseases*. – 1993. – Vol. 16 (2). – P. 113–122.
37. *Passive* protection of shrimp against white spot syndrome virus (WSSV) using specific antibody from egg yolk of chickens immunized with inactivated virus or a WSSV-DNA vaccine / Y. Lu, J.J. Liu, L.J. Jin [et al.] // *Fish & Shellfish Immunology*. – 2008. – Vol. 25. – P. 604–610.
38. *Passive Immune-Protection* of *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio harveyi* and *Vibrio parahaemolyticus* Infections with Anti-*Vibrio* Egg Yolk (IgY)-Encapsulated Feed / X. Gao, X. Zhang, L. Lin [et al.] // *Int. J. Mol. Sci*. – 2016. – Vol. 17 (5). – P. 723.
39. *Protective* effects of chicken egg yolk antibody (IgY) against experimental *Vibrio splendidus* infection in the sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) / X. Li, K. Jing, X. Wang [et al.] // *Fish Shellfish Immunol*. – 2016. – Vol. 48. – P. 105–111.
40. *Rainbow* trout fillet biopreservation by edible chitosan-based coating containing egg yolk antibody (IgY) and lycopene / A. Ehsani, M. Hashemi, M. Raeisi [et al.] // *Journal of food science and technology*. – 2020. – Vol. 57 (1). – P. 282–292.
41. *Extraction* of specific egg yolk antibodies and application in chitosan coating: effect on microbial and sensory properties of rainbow trout fillet during chilled storage / A. Ehsani, S.S. Naghibi, M. Aminzare [et al.] // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2019. – Vol. 99 (5). – P. 2356–2364.

REFERENCES

1. Klemperer F. *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol*, 1893, Vol. 31, pp. 356–382.
2. Russell W.M.S., Burch R.L. *The principles of human experimental technique*, London, Methuen, 1959, P. 51.
3. Leslie G.A., Clem L.W., *J Exp Med*, 1969, Vol. 130 (6), pp. 1337–1352.
4. Marchalonis J.J. *Immunity in Evolution*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1977, pp. 1–336.
5. Verhovskij O.A., Aliper T.I., Chernyh O.Yu., Nepoklonov E.A., *Veterinariya Kubani*, 2016, No. 6, pp. 3–7. (In Russ.)
6. Mine Y., Kovacs-Nolan J.J., *Med. Food*, 2002, Vol. 5 (3), pp. 159–169.

7. Kaplin V.S., Kaplina O.N., 2017, No. 2, pp. 29-40. (In Russ.)
8. Hatta H., Tsuda K., Akachi S., Kim M., Yamamoto T., Ebina T., Biosci Biotechnol Biochem, 1993, Vol. 57 (7), P. 1077-1081.
9. Li X. Production, application, and stability of chicken egg yolk antibody (IgY), University of Alberta. Spring, 2000.
10. Ghosh S. Can. J. Gastroenterol, 2011, Vol. 25 (4), pp. 186-192.
11. Kopishinskaya C.V. Kazanskij medicinskij zhurnal, 2016, Vol. 97, No. 1, pp. 101-107. (In Russ.)
12. Gujral N., Löbenberg R., Suresh M., Sanu H., J Agric Food Chem, 2012, Vol. 60 (12), pp. 3166-3172.
13. Gujral N., Suh J.W., Sunwoo H.H., BMC Immunol, 2015, Vol.16 (1), pp. 1-11.
14. Sample D., Sunwoo H., Huynh H., Rylance H., Robert C., Xu B., Kang S., Gujral N., Dieleman L., Dig Dis Sci, 2017, Vol. 62 (5), pp. 1277-1285.
15. Cats A., Kuipers E.J., Bosschaert M.A.R., et al., Alimentary Pharmacology and Therapeutics, 2003, Vol.17 (3), pp. 429-435.
16. Sakamoto I., Igarashi M., Kimura K., Takagi A., Miwa T., Koga Y., Antimicrobial Chemotherapy, 2001, Vol. 47, pp.709-710.
17. Kalaigandhi V, Poovendran P, Poongunran E., J. Microbiol. Biotech. Res, 2011, Vol. 1, pp. 127-134.
18. Malekshahi Z, Gargani SL, Rasooli I, Ebrahimizadeh W., Micro. Patho, 2011, Vol. 51, pp. 366-372.
19. Saniee P., Siavoshi F., Nikbakht Brujeni G., Khormali M., Arch. Iran Med, 2013, Vol. 16, pp. 624-630.
20. Najdi S., Nikbakht Brujeni G., Sheikhi N., Chakhkar S., Iran J Vet Res. Spring, 2016, Vol 17 (2), pp. 106-110.
21. Horie K., Horie N., Abdou A.M., Yang J.-O., Yun S.-S., Chun H.-N., Park C.-K., Kim M., Hatta H., J. Dairy Sci, 2004, Vol. 87, pp. 4073-4079.
22. Solhi R., Alebouyeh M., Khafri A., Rezaeifard M., Aminian M., Microbial pathogenesis, 2017, Vol. 110, pp. 682-687.
23. Borhani K., Mobarez A.M., Khabiri A.R., Behmanesh M., Khoramabadi N., Inhibitory effects of rHP-NAP IgY against Helicobacter pylori attachment to AGS cell line, Microbial pathogenesis, 2016, vol. 97, pp. 231-235.
24. E.-J. Lee, Y.D. Kim, M.-J. Chung, A.K. Elfadl, J.-K. Park, K.-S. Jeong, Preventive effect of anti-VacA egg yolk immunoglobulin (IgY) on Helicobacter pylori-infected mice, Vaccine, 2018, vol. 36 (3), pp. 371-380.
25. Shin J.H., Roe I.H., Kim H.G., Production of anti-Helicobacter pylori urease-specific immunoglobulin in egg yolk using an antigenic epitope of H. pylori urease, J Med Microbiol, 2004, vol. 53 (1), pp. 31-34.
26. Reilly R.M., Domingo R., Sandhu J., Oral delivery of antibodies. Future pharmacokinetic trends, Clin Pharmacokinet, 1997, vol. 32 (4), pp. 313-323.
27. Akita E.M., Li-Chan E.C., Nakai S., Neutralization of enterotoxogenic Eschericia coli heat-labile toxin by chicken egg yolk immunoglobulin Y and its antigen-binding fragments, Food and agricultural immunology, 1998, vol. 10 (2), pp. 161-172.
28. Takahashi T., Takayama K., Machida Y., Nagai T., Characteristics of polyion complexes of chitosan with sodium alginate and sodium polyacrylate, Int. J. Pharm, 1990, vol. 61, pp. 35-41.
29. Akita E.M., Nakai S., Preparation of enteric-coated gelatin capsules of IgY with cellulose acetate phthalate, Egg Nutrition and Biotechnology, CABI Publishing Press: Wallingford, U.K., 2000, P. 301-310.

30. Punyokun K., Hongprayoon R., Srisapoom P., Sirinarumit T., Influence of chitosan-alginate microcapsules containing anti-Vibrio harveyi IgY in the Gastrointestinal Tract Simulation, *Modern Applied Science*, 2015, vol. 9 (12), pp. 110-117.
31. Yamane T., Saito Y., Takizawa S., Goshima H., Kodama Y., Horie N., Kim M., Development of Anti-Helicobacter pylori Urease IgY and Its Application for Food Product, *Food Processing and Ingredients*, 2003, vol. 38, P. 70.
32. Chen J.P., Chang M.C., Effect of Anti-Helicobacter pylori Urease Antibody (IgY) as a Food Ingredient on the Decrease of H. pylori in the Stomach of Humans Infected with H. pylori, *Taiwanese Journal of Agricultural Chemistry and Food Science*, 2003, vol. 41. – P. 408-414.
33. Abdou A.M., Manal M.E., Yamashita Y., Kim M., Immunoglobulin: A Natural Way to Suppress Helicobacter pylori in Humans, *Health*, 2014, vol. 6 (8). – P. 781-791.
34. Prodovol'stvennaya i sel'skohozyajstvennaya organizaciya Ob'edinennyh Nacij (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2016.
35. Gan H., He H., Sato A., Hatta H., Nakao M., Somamoto T., Ulcer disease prophylaxis in koi carp by bath immersion with chicken egg yolk containing anti-Aeromonas salmonicida IgY, *Res Vet Sci*, 2015, vol. 99, P. 82-86.
36. Gutierrez M.A., Miyazaki T., Hatta H., Kim M., Protective properties of egg yolk IgY containing anti Edwardsiella tarda antibody against paracolo disease in the Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel, *Journal of Fish Diseases*. – 1993, vol. 16 (2), P. 113-122.
37. Lu Y., Liu J.J., Jin L.J., Li X., Zhen Y., Xue H., You J., Xu Y., Passive protection of shrimp against white spot syndrome virus (WSSV) using specific antibody from egg yolk of chickens immunized with inactivated virus or a WSSV-DNA vaccine, *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, vol. 25, P. 604-610.
38. Gao X., Zhang X., Lin L., Yao D., Sun J., Du X., Li X., Zhang Y., Passive Immune-Protection of Litopenaeus vannamei against Vibrio harveyi and Vibrio parahaemolyticus Infections with Anti-Vibrio Egg Yolk (IgY)-Encapsulated Feed, *Int. J. Mol. Sci*, 2016, vol. 17 (5), P. 723.
39. Li X., Jing K., Wang X., Li Y., Zhang M., Li Z., Xu L., Wang L., Xu Y., Protective effects of chicken egg yolk antibody (IgY) against experimental Vibrio splendidus infection in the sea cucumber (*Apostichopus japonicus*), *Fish Shellfish Immunol*, 2016, vol. 48, P. 105-111.
40. Ehsani A., Hashemi M., Raesi M., Samane S., Afshari A., Rainbow trout fillet biopreservation by edible chitosan-based coating containing egg yolk antibody (IgY) and lycopene, *Journal of food science and technology*, 2020, vol. 57 (1), P. 282-292.
41. Ehsani A., Naghibi S.S., Aminzare M., Keykhosravi K., Hashemi M., Extraction of specific egg yolk antibodies and application in chitosan coating: effect on microbial and sensory properties of rainbow trout fillet during chilled storage, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, vol. 99 (5), P. 2356-2364.