

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-37-44

УДК 615.371:578.28Н1V

Л.Ф. Стовба, В.Т. Кротков, Д.И. Павельев, С.А. Мельников, В.Н. Лебедев, С.В. Борисевич

АНАЛИЗ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА ВАКЦИНЫ, ШТАММ MVA, В КАЧЕСТВЕ ВЕКТОРА ПРИ РАЗРАБОТКЕ ВАКЦИН ПРОТИВ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ВИРУСАМИ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА И ОБЕЗЬЯН*ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад, Российская Федерация*

В обзоре представлены результаты доклинического применения векторных вакцин против заболеваний, вызванных вирусами иммунодефицита человека и иммунодефицита обезьян. Использование только антиретровирусной терапии является недостаточным для элиминации ВИЧ из организма больного. Это обстоятельство диктует необходимость получения эффективной вакцины, которая позволит сократить количество новых случаев заболевания и уменьшит риск трансмиссии вируса. Существующая практика создания медицинских средств защиты показала эффективность режимов гетерологичного праймирования/бустирования для формирования выраженного иммунного ответа у лабораторных животных. В качестве праймирующих вакцин использовали различные векторные конструкции: ДНК-вакцины, вакцина Кальметта-Герена (BCG), аденовирус шимпанзе, вирус везикулярного стоматита, альфавирусный репликлон. Бустерная вакцина представлена рекомбинантным вирусом вакцины, штамм MVA. Во все векторные вакцины встраивались разнообразные гены иммунодоминантных антигенов возбудителей иммунодефицита человека и иммунодефицита обезьян. На макаках-резусах, кроликах и мышах показано, что применяемые схемы вакцинации были безопасны и формировали иммунный ответ. Поскольку оболочечный белок ВИЧ высоко вариабелен, сильно гликозилирован и подвергается структурным изменениям при рецепторном связывании, он не может служить мишенью для индукции вируснейтрализующих антител. Поэтому в проведенных исследованиях, в основном, изучали клеточный иммунный ответ, который представлен полифункциональными CD8⁺ Т-клетками. Однако ряд исследований последних лет направлен на такую модификацию оболочечного иммуногена ВИЧ, которая будет способствовать индукции вируснейтрализующих антител. Проведенное изучение защитной эффективности индуцированного иммунитета на макаках-резусах, иммунизированных рекомбинантными векторами, экспрессирующими иммунодоминантные антигены ВИО, при последующем заражении их вирулентным штаммом ВИО, выявило, что все обезьяны заболевали. С учетом того, что конструкции с иммунодоминантными антигенами ВИО, при проведении оценки их защитной эффективности на макаках-резусах имитируют СПИД у человека, то, вероятно, что разработанные к настоящему времени вакцины не будут эффективными при формировании коллективного иммунитета против СПИДа. Поэтому в настоящее время приоритетным направлением исследований продолжает оставаться поиск новых сочетаний экспрессируемых иммунодоминантных антигенов в праймирующие и бустерные вакцины.

Ключевые слова: СПИД, вирус иммунодефицита человека, вирус иммунодефицита обезьян, макака-резус, штамм MVA, иммунный ответ, праймирование, бустирование.

Корреспондирующий автор: Борисевич Сергей Владимирович, e-mail: 48cnii@mail.ru.

Для цитирования: Стовба Л.Ф., Кротков В.Т., Павельев Д.И., Мельников С.А., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Анализ и перспективы применения рекомбинантного вируса вакцины, штамм MVA, в качестве вектора при разработке вакцин против заболеваний, вызванных вирусами иммунодефицита человека и обезьян. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 2:37–44. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-37-44

L.F. Stovba, V.T. Krotkov, D.I. Paveli'ev, S.A. Mel'nikov, V.N. Lebedev, S.V. Borisevich

Analysis and Prospects of Using Recombinant Vaccinia Virus MVA Strain as a Vector in the Development of the Vaccines against Human and Simian Immunodeficiency Virus Diseases*«48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation*

Abstract. The review presents the results of preclinical use of vector vaccines against human immunodeficiency virus (HIV) disease and simian immunodeficiency virus (SIV) disease. Application of antiretroviral therapy exclusively is insufficient for elimination of HIV from patient's body. This dictates the need for an effective vaccine which will reduce the number of new cases of the disease and reduce the risk of virus transmission. Current practice of medicinal product development showed the effectiveness of heterologous prime-boost regimens for the induction of expressed immune response in laboratory animals. Various vector constructs were used as priming vaccines: DNA vaccines, Bacille Calmette-Guerin vaccine, chimpanzee adenovirus, vesicular stomatitis virus, alphavirus repli-clone. Booster vaccine was represented by recombinant MVA strain. In all vector vaccines, different genes of immunodominant antigens of HIV and SIV agents were inserted. On rhesus macaques, murine, rabbit models, it was demonstrated that deployed vaccination schemes were safe and induced immune response. Because membrane HIV protein is highly variable, strongly glycosylated and subjected to structural changes during receptor binding, it cannot be viewed as a target for induction of virus neutralized antibodies. Therefore, we mainly studied the cell immune response that was presented by poly-functional CD8⁺ T-cells. However, some recent researches are aimed at such modification of envelope HIV immunogene that would provide for virus neutralizing antibody induction. The study of protective efficiency of the induced immunity in rhesus

macaques, immunized with recombinant vectors expressing SIV's immunodominant antigens, in case of subsequent inoculation with virulent SIV strain has revealed that all monkeys developed illness. Assuming that the constructions with SIV's immunodominant antigens under protective efficiency testing on rhesus macaques imitate AIDS in humans, it seems that vaccines, developed up-to-date, will not be effective for collective immunity formation against AIDS. Therefore, the search for novel combinations of expressed immunodominant antigens for the inclusion into the composition of priming and booster vaccines remains a priority area at present time.

Key words: AIDS, human immunodeficiency virus, simian immunodeficiency virus, rhesus macaques, MVA strain, immune response, priming, boosting.

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

Corresponding author: Sergey V. Borisevich, e-mail: 48cnii@mil.ru.

Citation: Stovba L.F., Krotkov V.T., Pavel'ev D.I., Mel'nikov S.A., Lebedev V.N., Borisevich S.V. Analysis and Prospects of Using Recombinant Vaccinia Virus MVA Strain as a Vector in the Development of the Vaccines against Human and Simian Immunodeficiency Virus Diseases. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:37–44. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-37-44
Received 19.11.18. Revised 24.01.19. Accepted 08.02.19.

Несмотря на то, что вирус иммунодефицита человека (ВИЧ, human immunodeficiency virus – HIV) впервые идентифицирован еще в 1983 г., вызываемое им заболевание – синдром приобретенного иммунодефицита человека (СПИД) – продолжает оставаться проблемой для здравоохранения многих стран, особенно для стран Субсахарной Африки и Юго-Восточной Азии, где проживает большинство инфицированных [1]. Это обстоятельство диктует необходимость получения эффективной вакцины, которая, одновременно с высокоактивной антиретровирусной терапией, позволит уменьшить число новых случаев заболевания, снизит риск трансмиссии вируса и/или предотвратит заболевание. Однако при создании такой вакцины возникают проблемы, связанные с вирусной гетерогенностью и формированием механизмов ухода вируса от уже сформированных факторов иммунного ответа [1, 2].

В настоящее время одним из основных кандидатов в векторные вакцины против опасных и социально значимых инфекционных заболеваний рассматривается вирус вакцины, штамм MVA (modified vaccinia virus strain Ankara) [3]. Этот штамм, как вектор, обладает рядом преимуществ. Хотя он не реплицируется в клетках млекопитающих, его морфогенез блокируется на поздних стадиях развития вируса, когда экспрессированы все гены под ранними промоторами, в том числе и встроенные чужеродные. Штамм MVA вируса вакцины и его варианты безопасны даже для лиц с ослабленной иммунной системой [4, 5]. Для данного штамма отсутствует проблема влияния предсуществующего иммунитета после отмены обязательного оспопрививания. Поэтому чаще всего для бустирования применяется рекомбинантный вирус вакцины, штамм MVA, экспрессирующий иммунодоминантные антигены ВИЧ или вируса иммунодефицита обезьяны (ВИО). Для праймирования могут применяться различные конструкции или их сочетания [6].

Поскольку в развивающихся странах инфицирование ВИЧ зачастую происходит одновременно с инфицированием туберкулезом, а грудное вскармливание матерями, больными СПИДом, приводит к дополнительному инфицированию ВИЧ и увеличению скорости трансмиссии вируса, то возникает не-

обходимость создания комбинированной вакцины и против ВИЧ, и против возбудителя туберкулеза [7]. В качестве векторной для создания бивалентной вакцины против обоих возбудителей взята вакцина Кальметта-Гирена (BCG), так как она является одной из наиболее часто используемых против туберкулеза вакцин. BCG как вакцинный вектор против СПИДа начал применяться с начала 90-х годов XX в. [7, 8]. Этот вектор имеет ряд преимуществ: его безопасность показана при вакцинации около 2 млрд человек, однако у иммунокомпромированных лиц он может вызывать диссеминированное заболевание. Поэтому, согласно рекомендациям ВОЗ, для иммунизации ВИЧ-инфицированных младенцев предлагается использовать лизинный ауксотроф Пастеровского штамма – AERAS-401 [6, 9]. Он менее вирулентен и более иммуногенен, что показано в опытах на мышах и морских свинках. Штамм AERAS-401 индуцирует клеточный и гуморальный иммунный ответы. BCG обычно применяется для праймирования, а в качестве бустерной вакцины – рекомбинантный штамм MVA [8].

Возможности использования штамма AERAS-401 как вектора показаны при сравнительной оценке его с родительским Пастеровским штаммом. Применение для вакцинации двух рекомбинантов: BCG-Gag на основе Пастеровского штамма и BCGΔran-Gag на основе штамма AERAS-401, экспрессирующих ген Gag (Gag-группспецифический антиген), не индуцировало образования Gag-специфических Т-клеток. Gag-специфический иммунный ответ, в основном, представленный CD8⁺ Т-клетками, определялся только после бустирования MVA-Gag, причем с обоими праймирующими штаммами. Эти Gag-специфические Т-клетки продуцировали интерферон-γ (IFN-γ), фактор некроза опухоли-α (TNF-α) и интерлейкин (IL-6), т.е. цитокины, которые необходимы для контроля ВИЧ инфекции [8].

Ранее показано [10], что иммунизация макаку-резусов рекомбинантными штаммами BCG и MVA, экспрессирующими Gag антигены, индуцирует выработку эффективного защитного иммунитета против мукозального заражения гибридным вирусом SHIVKS661S.

Помимо гена Gag антигена для встраива-

ния в эти векторы использовался HIVA антиген-иммуноген, состоящий из Gag белка клэйда А и ряда частично перекрывающихся иммунодоминантных CD8⁺ Т-клеточных эпитопов [3, 9, 11]. Применение для иммунизации только BCG·HIVA, сконструированного на основе штамма AERAS-401, индуцировало неопределяемый и слабый Т-клеточный ответ у иммунизированных мышей BALB/c и макак-резусов соответственно. Если же использовать этот вектор в качестве праймирующего и проводить бустирование штаммом MVA·HIVA, то индуцируется сильный Т-клеточный ответ, специфичный для множественных ВИЧ-1 эпитопов [9] с формированием клеток иммунологической памяти. Установлено, что использование праймирующей BCG·HIVA и бустерной MVA·HIVA вакцин было безопасным и индуцировало ВИЧ-специфический и специфический микобактериальный Т-клеточный ответ у новорожденных [6] и взрослых [6, 7] мышей BALB/c. Полифункциональные ВИЧ-1 специфические Т-клетки продуцировали IFN- γ , TNF- α и дегрануляционный маркер CD107a [7].

В целом, для дальнейшего клинического применения зарубежными специалистами предложена праймирующая рекомбинантная вакцина BCG·HIVA на основе штамма AERAS-401 и бустерная – MVA·HIVA. Использование подобной схемы иммунизации для макак-резусов, новорожденных и взрослых мышей BALB/c выявило ее безопасность, за исключением легких эритем и воспалительных реакций вокруг участка инъекции при введении вакцины BCG·HIVA [7, 9]. При инъекции вакцины MVA·HIVA побочных реакций не отмечено. После праймирования вакциной BCG·HIVA определялся сильный специфический иммунный ответ на антиген BCG возбудителя туберкулеза. После бустирования штаммом MVA·HIVA наблюдалось образование ВИЧ-специфического Т-клеточного иммунного ответа [3, 5, 7, 9], однако, довольно слабого у новорожденных макак, что объясняется некомпетентностью их иммунной системы [11].

Поскольку в ряде клинических испытаний по оценке режимов иммунизации против туберкулеза применялось праймирование вакциной BCG и бустирование рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим один из иммунодоминантных антигенов возбудителя туберкулеза 85A – MVA85A, то эти векторы выбраны для одновременной иммунизации против туберкулеза и ВИЧ [3, 6]. При инъекции штаммов MVA·HIVA85A установлено, что у иммунизированных мышей BALB/c индуцировался Т-клеточный ответ и против HIVA, и против 85A антигена возбудителя туберкулеза [3]. При прайм/бустерном режиме, при котором праймирование проводилось рекомбинантным BCG, экспрессирующим HIVA (BCG·HIVA), а бустирование – рекомбинантным штаммом MVA85A, экспрессирующим так же HIVA – MVA·HIVA·85A, где BCG представлен AERAS-401 штаммом, у мышей BALB/c индуциро-

вались ВИЧ-1 специфические CD8⁺ Т-клетки, продуцирующие IFN- γ , TNF- α и CD107a [3, 6].

Для улучшения преодоления изменчивости антигенного состава ВИЧ, которая позволяет ему уходить от факторов индуцированного иммунитета, сконструирован новый иммуноген – HIVconsv, содержащий 14 наиболее функционально консервативных областей ВИЧ-1 протеомы, происходящих из четырех мажорных клэйдов А, В, С, D [1, 2]. Этот иммуноген может презентироваться в иммунной системе различными векторами: плазмидной ДНК, аденовирусом человека и обезьян, вирусом вакцины, штамм MVA, репликациями вируса Леса Семлики и длинными синтетическими пептидами [2, 12]. Исследование ряда вышеуказанных векторов на мышях BALB/c выявило их безопасность и отсутствие системной токсичности.

Показана возможность праймирования рекомбинантным аденовирусом шимпанзе ChAdV63·HIVconsv и бустирования рекомбинантным MVA·HIVconsv для индукции иммунного ответа у мышей BALB/c [2]. Применение аденовируса шимпанзе связано с тем, что к аденовирусу человека у населения с большей долей вероятности может быть выраженный иммунитет.

Специфичность вакцино-индуцированного ответа определяется ВИЧ-1 производными антигенами, а так же путем и способами доставки субъединиц к иммунной системе [12]. В большинстве исследований определяли Т-клеточный иммунный ответ к СПИДу, однако изучение HIVconsv иммуногена, доставляемого разными векторами: плазмидной ДНК, аденовирусом обезьян 63 серотипа, аденовирусом человека 5 серотипа, штаммом MVA, репликациями вируса Леса Семлики и длинными синтетическими перекрывающимися пептидами с адьювантом установило, что только комплекс с синтетическими пептидами вызывал образование и гуморального, и Т-клеточного ответа у макак-резусов [12].

Один из существующих подходов увеличения экспрессии встроенных иммуногенов в геном вируса вакцины, штамм MVA, применяемый для бустирования, базируется на внесении изменений в сам вектор. Вносимые изменения включают делетирование генов, существенных для репликации вектора (udg), и иммуномодуляторных генов. Таким образом получены два генетически модифицированных варианта: MVA Δ 4·HIV, у которого делетированы гены растворимого интерлейкина-1 β (IL-1 β) рецептора, IL-18-связывающего белок, СС-хемокин-связывающего белка, доминантного нативного Toll-IL-1 сигнального адаптера, и MVA Δ 5·HIV, у которого делетированы помимо этих четырех генов еще и ген udg [13]. Оба варианта и родительский штамм MVA содержали встроенные гены Gag и Env (Env – оболочечный белок) ВИЧ-1. При эксперименте на макаках-резусах выявлено, что оба модифицированных варианта индуцировали увеличенные (в 5–6 раз) уровни ВИЧ-1 специфических транзистентных Т-клеточных ответов, а титры Env (gp120) антител, которые не нейтрали-

зовали вирус, оказались в 25 раз больше, чем у родительского штамма [13].

Также предлагается делетировать два гена, кодирующих ингибиторы сигнальных путей интерферона. В полученный делеционный мутант встраивали ген Env антигена ВИЧ-1, как мономерный Gr120, и ген полипротеина, содержащий Gag, Pol и Nef (GPN) из клэйда В, и сравнивали с родительским штаммом MVA, экспрессирующим те же антигены. Праймирование осуществлялось ДНК плазмидой, содержащей те же гены. При иммунизации этими конструкциями мышей BALB/c показано, что этот мутант способен улучшать качество и количество ВИЧ-специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеточных ответов и иммунологическую память. Гуморальный иммунный ответ против gp120 был несколько выше у мутантного штамма. CD4⁺ Т-клетки индуцированы против Env, а CD8⁺ – против GPN полипротеина [14].

Среди различных кандидатов в вакцины наиболее многообещающими представляются те, которые содержат высокоиммуногенные формы оболочечного белка в его нативной природной форме, которые будут индуцировать формирование не только клеточного, но и гуморального иммунного ответа [15]. Предшественник Env ВИЧ-1 существует как полипротеин, который расщепляется на рецептор-связывающий домен (gp120) и мембран-связывающий домен (gp41) [15]. Роль gp120 белка показана в эксперименте, когда его добавление в бустерный компонент увеличивало клеточный и протективный ответ антител против gp120 ВИЧ [16]. Поскольку нативный белок gp120 существует в трехмерной форме, то для создания его природной конформационной формы он был сплавлен с 14К олигомерным белком вируса вакцины. Эта химерная трехмерная конструкция реагирует с широким спектром ВИЧ-1 нейтрализующих антител. Плазмидная ДНК, экспрессирующая трехмерную форму gp120 (gp120-14К) ВИЧ-1 клэйда В, служила в качестве праймирующего компонента для иммунизации мышей BALB/c. Бустерный компонент представлен рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим ВИЧ-1 gp120, Gag, Pol и Nef антигены клэйда В (MVA-B). Сравнение результатов иммунизации ДНК gp120-14К/MVA-B с иммунизацией ДНК gp120-/MVA-B установило, что праймирующая иммунизация плазмидной ДНК gp120-14К при тех же условиях бустерования индуцирует более выраженный CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеточный иммунный ответ, иммунную память и высокий титр антител против gp120 класса IgG2a и IgG3. Эта праймирующая конструкция предлагается как вакцина против СПИДа, индуцирующая широкий Т-клеточный и В-клеточный иммунный ответы [15].

Трехмерная форма Env белка может быть также получена за счет встройки N-концевого тримеризационного домена в V-1 петлевую область белка gp120 с образованием так называемого сусР-gp120 белка. У кроликов при двукратной иммунизации

этим белком индуцируются титры высокоavidного gp120-специфического IgG в 100 раз выше, чем при двукратной иммунизации gp120 [17]. При праймировании кроликов рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим трехмерный мембрансвязывающий гликопротеин gp150 ВИЧ-1 клэйда В (MVA-HIV), и бустировании белком сусР-gp120 определены высокоavidные Env-специфические антитела в высоких титрах. При праймировании макак-резусов сначала ДНК-вакциной, экспрессирующей Gag/Pol/Env антигены, и бустировании MVA-HIV и белком сусР-gp120 результаты иммунизации не отличались от таковых для кроликов. Следовательно, белок сусР-gp120 является выраженным ВИЧ-1 иммуногеном, способным при иммунизации лабораторных животных индуцировать высокие титры высокоavidных Env-специфических антител с нейтрализующей активностью для ряда 1А и 1В ВИЧ-1 [17].

Помимо экспериментов по изменению конфигурации самого белка gp120, проводятся исследования с целью получения рекомбинантных вирусных векторов, секретирующих этот белок в трехмерной форме, имитирующей нативный оболочечный белок. Так были получены рекомбинантный аденовирус, у которого 2/3 экспрессируемого оболочечного белка представлены его трехмерной формой, и рекомбинантный штамм MVA, который экспрессирует 1/3 трехмерной формы белка gp120, что показано при оценке секретируемых этими векторами белков при инфицировании ими клеток НЕК293Т. При различных режимах иммунизации кроликов этими векторными конструкциями у кроликов индуцировались связывающиеся с трехмерной формой оболочечного белка вируснейтрализующие антитела против ряда 1 и 2 ВИЧ-1 [18].

Помимо достаточно распространенных, описанных ранее векторов, изучалось применение альфавирусного репликона (на основе вируса Леса Семлики). Для прайм/бустерного режима иммунизации исследовалось праймирование репликоном, который экспрессировал Env, Gag-Pol-Nef антигены ВИЧ-1 клэйда С, а бустирование – рекомбинантным штаммом MVA со встроенными теми же генами или рекомбинантной трехмерной формой gp140 оболочечного белка ВИЧ в виде водного гликопиранозил липида А или обоими вместе. Мыши BALB/c, иммунизированные этими конструкциями, индуцировали Т-клеточный и гуморальный иммунные ответы. В целом показано, что этот подход требует очень мало количества альфавирусного вектора (0,2 мкг), по сравнению с плазмидными векторами, для индукции приемлемых уровней иммунитета против ВИЧ [19].

Поскольку ВИЧ-1 обладает широким разнообразием последовательностей, то как одним из подходов иммунизации в разных ареалах предлагается создание вакцин, которые будут содержать Env и Gag-Pol последовательности из вирусных изолятов, выделенных в восточной Африке и Таиланде: из субтипа А (Кения), С (Танзания), D (Уганда) и CRF01-AE

(Таиланд), все под контролем только mH5 промотера [4]. Все эти вакцины у иммунизированных мышей BALB/c индуцировали выраженный Gag и Pol специфический CD8⁺ Т-клеточный и Env специфический CD4⁺ Т-клеточный и гуморальный к Env антигенам иммунные ответы. Также индуцировался клеточный ответ к самому вирусу вакцины, штамм MVA [4].

При праймировании рекомбинантным аденовирусом шимпанзе, экспрессирующим Gag антигена ВИЧ-1 из клэйда В, и бустировании плазмидной ДНК совместно со штаммом MVA, экспрессирующими тот же антиген, у мышей BALB/c индуцировался более сильный и более длительный полифункциональный CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеточный ответ, который был способен уменьшить репродукцию вируса при последующем заражении химерным вирусом иммунодефицита человека, экспрессирующим оболочку экотропного мышинового ретровируса [20].

Данные по результатам иммунизации рекомбинантными вакцинами, содержащими гены различных ВИЧ антигенов, в том числе и их сочетания, представлены в табл. 1. При всех схемах иммунизации наблюдалось индуцирование иммунного ответа, однако его защитную эффективность невозможно было определить, поскольку все примененные лабораторные модельные животные не болеют СПИДом. Поэтому проводились исследования с вирусом иммунодефицита обезьян.

Проведение исследований с вирусом иммунодефицита обезьян (simian immunodeficiency virus – SIV) и вызываемого им заболевания у обезьян обусловлено сходством этого вируса с ВИЧ и симптомами СПИДа у человека, а так же возможностью оценки индуцированного ВИО иммунитета при последующем заражении вирулентным штаммом этого возбудителя. Животные обычно индуцируют клеточный и гуморальный иммунные ответы, которые частично контролируют, но не элиминируют вирус. Гибель наступает через 1–2 года в результате снижения иммунного статуса макроорганизма [21].

Сначала был оценен иммунный ответ, индуцированный только на рекомбинантный штамм MVA, экспрессирующий либо Env, либо Gag-Pol антигены (вместе или каждый по отдельности). Выявлено, что иммунизация не предотвращала от последующего заражения вирулентным штаммом SIVsmE660, но значительно уменьшала виремию. В течение 9 лет наблюдения установлено, что иммунные обезьяны имеют преимущество в периоде выживания по сравнению с контрольными, что коррелировало с уменьшенной виремией, причем лучшие результаты наблюдались у обезьян, у которых иммунизирующий компонент содержал продукт экспрессии Env гена. Гуморальный иммунный ответ к ВИЧ появлялся только после инфицирования штаммом SIVsmE660 [21].

Поскольку иммунный ответ, индуцированный только на рекомбинантный штамм MVA, оказался недостаточным для защиты обезьян от последующе-

го заражения вирулентным ВИО, то этот вектор применен в качестве бустерного компонента. Так, схема праймирования ДНК-вакциной, содержащей последовательности генов Gag, Pr (Pr – протеазный белок), Rt (Rt – обратнотранскриптазный белок) и Env, и бустирования рекомбинантным MVA, содержащим те же гены, сравнивался со схемой иммунизации только рекомбинантным MVA. Установлено, что при режиме праймирования/бустирования отмечалось образование большего количества CD4⁺ Т-клеток, а при иммунизации только рекомбинантным MVA вырабатывались более высокие титры с большей авидностью Env-специфических IgG и IgA антител в ректальных секретах. Количество CD8⁺ Т-клеток было одинаковым при обеих схемах. Несмотря на различное качество иммунных ответов при этих схемах, животные не были защищены от последующего заражения вирулентным SIVsmE660 [22].

Проведенные исследования на макаках-резусах в режиме праймирования ДНК-вакциной, экспрессирующей Gag, Pol, Env, Tat и Rev (Tat и Rev – регуляторные белки) антигены, и бустирования двумя рекомбинантными MVA штаммами, экспрессирующими один Gag, Pol, другой – Env антигены, выявили, что вырабатывались ВИО-специфические CD8⁺ и CD4⁺ клеточные иммунные ответы и антиSIV IgA антитела в ректальных секретах, а предшествующий иммунитет к вирусу вакцины снижал уровни образования ВИО-специфических CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток, но не влиял на гуморальный иммунный ответ. Подобная иммунизация не защищала от последующего заражения вирулентным ВИО [23].

Для усиления индукции иммунного ответа изучалось применение модифицированного штамма MVA. Так, делеционный по гену *udg* мутант и родительский штамм экспрессировали Gag и Tat антигены SIVmac239. У всех иммунизированных макак наблюдалось образование мультифункциональных Т-клеток, в основном CD8⁺, меньшие уровни вирусемии после заражения вирулентным гомологичным вирусом. Сроки выживания не отличались от неиммунных животных. Однако иммунизация этим модифицированным рекомбинантным вектором не защищала животных от последующего заражения [24].

С целью определения влияния экспрессии генов цитокинов в качестве молекулярных адъювантов оценен иммунный ответ при иммунизации макаков-резусов в двух экспериментах. В обоих случаях для праймирования использовалась ДНК-вакцина, содержащая полноразмерный ВИО-геном, а для бустирования – штамм MVA, экспрессирующий Gag, Pol и Env антигены. В первом эксперименте добавлялись плазмиды, экспрессирующие цитокины IL-2 и IL15, в другом – GM-CSF (гранулярномакрофагальный колониестимулирующий фактор) и TNF-α (фактор некроза опухоли). В обоих экспериментах отмечался значительный ВИО-специфический мукозальный и системный клеточный иммунитет, в то время как титры ВИО-специфических антител были споради-

Таблица 1/ Table 1

Результаты изучения иммунного ответа, индуцированного прайм/бустерной иммунизацией при применении рекомбинантного вируса вакцины, штамм MVA, экспрессирующего иммунодоминантные антигены ВИЧ
Results of study of the immune response, induced by prime-boost immunization using recombinant vaccinia virus MVA strain expressing immunodominant HIV antigens

Праймирование вектором... / Vector priming	Белки, экспрессируемые генами, встроенными в праймирующий вектор / Proteins, expressed by genes built-in the priming vector	Бустирование вектором... / Vector boosting	Белки, экспрессируемые генами, встроенными в бустированный вектор / Proteins, expressed by genes built-in the boosting vector	Лабораторная модель... / Laboratory model	Наличие индуцированного иммунного ответа / Presence of induced immune response		Источник литературы / Reference
					клеточный / cellular	гуморальный / humoral	
BCG	Gag	MVA	Gag	BALB/c мыши / BALB/c mice	+	Не исследовали / Not studied	8
BCGΔ-pan Gag				Макаки-резусы / Rhesus macaques			10
BCG				BALB/c мыши и макаки-резусы / BALB/c mice and rhesus macaques			9
BCG AE RAS-401	HIVA	MVA	HIVA	BALB/c мыши и новорожденные BALB/c мыши / Grown-up and new-born BALB/c mice	+	Не исследовали / Not studied	6
BCG				BALB/c мыши / BALB/c mice			7
BCG AERAS-401				Новорожденные макаки-резусы / New-born rhesus macaques			11
BCG				HIVA-85A			3, 6
ChAdV ₆₃				HIVconsv			HIVconsv
MVAΔ4	Gag, Env	Не использовали / Did not use	Не использовали / Did not use	Макаки-резусы / Rhesus macaques	+	Не исследовали / Not studied	13
MVAΔ5							14
ДНК-вакцина / DNA-vaccine	Env(gp120), Gag-Pol-Nef	MVA-B	Env, Gag-Pol-Nef	BALB/c мыши / BALB/c mice	+	Не исследовали / Not studied	15
	Gp120-14K	MVA	Gp120, Gag-Pol-Nef	17			
MVA	Трехмерный мембрансвязанный Gp150 / Three-dimension membrane-associated Gp150	Белок сусP- Gp120	Не использовали / Did not use	Кролики / Rabbits	Не исследовали / Not studied	+	17
ДНК-вакцина / DNA-vaccine	Gag-Pol-Env	MVA	Трехмерный мембрансвязанный Gp150 + белок сусP-Gp120 / Three-dimension membrane-associated Gp150 + protein сусP-Gp120	Макаки-резусы / Rhesus macaques			19
Альфовирусный репликон / Alphavirus replicon	Env, Gag-Pol-Nef	MVA + Gp140	Env, Gag-Pol-Nef	BALB/c мыши / BALB/c mice	+		19
MVA из разных ареалов / MVA from different areals	Env, Gag-Pol	Не использовали / Did not use	Не использовали / Did not use			+	4
Аденовирус шимпанзе / Chimpanzee adenovirus	Gag	MVA + плазмидная ДНК / MVA + plasmid DNA	Gag	BALB/c мыши / BALB/c mice	+	Не исследовали / Not studied	20

ческими, а титры IgG антител – негативными. После заражения вирулентным SIVmac 251 все животные оказались инфицированными [25].

В экспериментах по оценке схем вакцинации на макаках-резусах в праймирующую ДНК-вакцину, содержащую полноразмерный геном ВИО, дополнительно встроили гены цитокинов IL-2 и IL-15. Эта конструкция продуцировала неинфекционные ВИО-частицы. Бустирование проводили рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим Gag, Pol, Env антигены, вместе с инактивированными SIVmac259 частицами. Иммунизация этими компонентами приводила к выработке антиВИО IgA антител и CD8⁺

CD4⁺ Т-клеточных иммунных ответов, которых, однако, оказалось недостаточно, чтобы предохранить от последующего заражения вирулентным ВИО [26].

Следовательно, дополнительная экспрессия генов молекулярных адьювантов не способствовала индукции такого иммунного ответа, который бы защищал от последующего заражения вирулентным гомологичным вирусом.

Помимо перечисленных ДНК-вакцин в качестве вектора для праймирования может применяться вирус везикулярного стоматита [27]. Его защитную эффективность исследовали на новорожденных макаках-резусах для доказательства возможности

Таблица 2/Table 2

Результаты изучения свойств рекомбинантного вируса вакцины, штамм MVA, экспрессирующего иммунодоминантные антигены вируса иммунодефицита обезьян, при последующем заражении макак-резусов

Results of the study of recombinant MVA strain properties, expressing antigens of simian immunodeficiency virus, upon subsequent infection of macaques rhesus

Праймирование вектором / Vector priming	Белки, экспрессируемые генами, встроенными в праймирующий вектор / Proteins, expressed by genes built-in the priming vector	Бустирование вектором / Vector boosting	Белки, экспрессируемые генами, встроенными в бустирующий вектор / Proteins, expressed by genes built-in the boosting vector	Лабораторная модель / Laboratory model	Наличие индуцированного иммунного ответа / Presence of induced immune response		Результат последующего заражения вирулентным ВИО / Results of subsequent inoculation with virulent SIV	Источник литературы / Reference
					клеточный / cellular	гуморальный / humoral		
MVA	Env, Gag, Pol	Не использовали / Did not use	Не использовали / Did not use	Макаки-резусы / Rhesus macaques	+	+	Заболевание / Disease	21
ДНК-вакцина / DNA-vaccine	Gag, Pr, Rt, Env	MVA	Gag, Pr, Rt, Env					22
	Gag-Pol, Env, Tat, Rev		Gag-Pol, Env					23
MVAΔudg	Gag, Tat	Не использовали / Did not use	Не использовали / Did not use			Не исследовали / Not studied		25
ДНК-вакцина / DNA-vaccine	Полноразмерный геном ВИО + плазмиды с GM-CSF, IL-12, TNF-α / Full-length SIV genome + plasmids with GM-CSF, IL-12, TNF-α	MVA	Gag, Pol, Env	Макаки-резусы / Rhesus macaques	+	+	Заболевание / Disease	24
	Полноразмерный геном ВИО + плазмиды с IL-2, IL-15 / Full-length SIV genome + plasmids with IL-2, IL-15	MVA + инактивированные частицы ВИО / MVA + inactivated SIV particles						26
Вирус везикулярного стоматита / Vesicular stomatitis virus	Gag, Pol, Env	MVA		Новорожденные макаки-резусы / New-born rhesus macaques	+	+	Заболевание / Disease	27

предотвращения трансмиссии ВИЧ от больной СПИДом матери к новорожденному ребенку при грудном вскармливании. Животных праймировали рекомбинантным вирусом везикулярного стоматита, который экспрессировал Gag, Pol, EnvG-1(Env ген встроен в геном вируса везикулярного стоматита вместо G гена). Бустировали через две недели рекомбинантным штаммом MVA, который экспрессировал те же антигены. В результате иммунизации формировался иммунный ответ, представленный IgA антителами, и относительно низкий ВИО-специфический Т-клеточный ответ в лимфоидной и слизистой тканях [27]. Подобные результаты получены и в другом эксперименте при несколько иных режимах иммунизации и использовании праймирующей и бустерной вакцин с экспрессией тех же генов ВИО [27].

Данные по иммунизации макак-резусов различными векторными праймирующими вакцинами и бустировании рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим также антигены ВИО, представлены в табл. 2.

Таким образом, результаты экспериментов по применению рекомбинантного штамма MVA-вируса вакцины в качестве бустерной вакцины свидетельствуют, что экспрессия генов разнообразных антигенов ВИЧ и ВИО, встроенных в этот вектор, способствует индуцированию клеточного и гуморального ответов. При этом в качестве праймирующей вакцины могут применяться ДНК-вакцины, BCG, аденовирус шимпанзе, вирус везикулярного сто-

матита, вирус вакцины, альфавирусный репликон. Оценка защитной эффективности этого иммунного ответа, проведенная с рекомбинантными вакцинами, экспрессирующими иммунодоминантные антигены ВИО, при иммунизации макак-резусов и последующем их заражении вирулентным штаммом ВИО, выявила его недостаточность для предотвращения заболевания. В идеале вакцина против СПИДа должна индуцировать сбалансированный клеточный и гуморальный иммунный ответ, опосредованный эффективными Т-клетками и протективными антителами [29]. Вакцины против СПИДа должны обеспечивать более полноценный иммунный ответ, чем формируемый в процессе естественной инфекции.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

References / Список литературы

- Ondondo B., Brennan C., Nicocia A., Crome S.J., Hanke T. Absence of systemic toxicity changes following intramuscular administration of novel pSG2-HIVconsV DNA, ChAdV63-HIVconsV and MVA-HIVconsV vaccines to BALB/c mice. *Vaccine*. 2013; 31(47):5594–601. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.06.068.
- Ondondo B., Abdul-Jawad S., Bridgeman A., Hanke T. Characterization of T-cell responses to conserved regions of the HIV proteome in BALB/c mice. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(11):1565–72. DOI: 10.1128/CVI.00587-14.
- Hopkins R., Bridgeman A., Joseph J., Gilbrt S.C., McShane H., Hanke T. Dual neonate vaccine platform against HIV-1 and *M. tuberculosis*. *PLoS ONE*. 2011; 6(5):e20067. DOI: 10.1371/journal.pone.0020067.
- Earl P.L., Cotter C., Moss B., VanCott T., Currier J., Eller L.A., McCutchan F., Bix D.L., Michael N.L., Marovich M.A., Robb M., Cox J.H. Design and evaluation of multi-gene, multi-clade HIV-1

- MVA vaccines. *Vaccine*. 2009; 27(42):5885–95. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.07.039.
5. Guerra S., González J.M., Climent N., Reuburn H., López-Fernández L.A., Nájera J.L., Gómez C.E., García F., Gatell J.M., Gallart T., Esteban M. Selective induction of host genes by MVA-B, a candidate vaccine against HIV/AIDS. *J. Virol.* 2010; 84(16):8141–52. DOI: 10.1128/jvi.00749-10.
6. Saubi N., Mbewe-Mvula A., Gea-Mallorqui E., Rosario M., Gatell J.M., Hanke T., Joseph J. Pre-clinical development of BCG-HIVA^{CAT}, an antibiotic-free selection strain, for HIV-TB pediatric vaccine vectored by lysine auxotroph of BCG. *PLoS ONE*. 2012; 7(8):e42559. DOI: 10.1371/journal.pone.0042559.
7. Saubi N., Gea-Mallorqui E., Ferrer P., Hurtado C., Sanchez-Ubeda S., Eto Y., Gatell J.M., Hanke T., Joseph J. Engineering new mycobacterial vaccine design for HIV-TB pediatric vaccine vectored by lysine auxotroph of BCG. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 2014; 1:14017. DOI: 10.1038/mtm.2014.17.
8. Chapman R., Shephard E., Stutz H., Douglass N., Sambandamurthy V., Gfrcia I., Ryffel B., Jacobs W., Williamson A.-L. Priming with a recombinant pantothenate auxotroph of *Mycobacterium bovis* BCG and boosting with MVA elicits HIV-1 Gag specific CD8⁺ T-cells. *PLoS ONE*. 2012; 7(3):e32769. DOI: 10.1371/journal.pone.0032769.
9. Rosario M., Hopkins R., Fulkerson J., Borthwick N., Quigley M.F., Joseph J., Douekh D.C., Greenaway H.Y., Venturi V., Gostick E., Price D.A., Both G.W., Sadoff J.C., Hanke T. Novel recombinant *Mycobacterium bovis* BCG, ovine atadenovirus, and modified vaccinia virus Ankara vaccines combine to induce robust human immunodeficiency virus-specific CD4 and CD8 T-cell responses in rhesus macaques. *J. Virol.* 2010; 84(12):5898–908. DOI: 10.1128/JVI.02607-09.
10. Ami Y., Izumi Y., Matsuo K., Someya K., Kanekiyo., Horibata S., Yoshino N., Sakai K., Shinohara K., Matsumoto S., Yamada T., Yamazaki S., Yamamoto N., Honda M. Priming-boosting vaccination with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérinand a nonreplicationvaccinia virus recombinant leads to long-lasting and effective immunity. *J. Virol.* 2005; 79(20):12871–9. DOI: 10.1128/JVI.79.20.12871-12879.2005.
11. Rosario M., Fulkerson J., Soneji S., Parker J., Im E.-J., Borthwick N., Bridgeman A., Bourne C., Joseph J., Sadoff C.S., Hanke T. Safety and immunogenicity of novel recombinant BCG and modified vaccinia virus Ankara vaccines in neonate rhesus macaques. *J. Virol.* 2010; 84(15):7815–21. DOI: 10.1128/JVI.00726-10.
12. Borthwick N.J., Rosario M., Schiffner T.E., Ahmed T., Liljestrom P., Stewart-Jones G.T., Drijhout J.W., Melief C.J.M., Hanke T. Humoral responses to HIVconsV induced by heterologous vaccine modalities in rhesus macaques. *Immun. Inflame. Dis.* 2015; 3(2):82–93. DOI: 10.1002/idd.32.
13. Garber D.A., O'Mara L.A., Gangadhara S., McQuoid M., Zhang X., Zheng R., Gill K., Verma M., Yu T., Johnson B., Derdeyn C.A., Ibegbu C., Altman J.D., Hunter E., Feinberg M.B. Deletion of specific immune-modulatory genes from modified vaccinia virus Ankara-based HIV vaccines engenders improved immunogenicity in rhesus macaques. *J. Virol.* 2012; 86(23):12605–15. DOI: 10.1128/jvi.00246-12.
14. García-Arriaza J., Arnáez P., Gómez C., Sorzano C.O.S., Esteban M. Improving adaptive and memory immune responses of an HIV/AIDS vaccine candidate MVA-B by deletion of vaccinia virus genes (C6L and K7R) blocking interferon signaling pathways. *PLoS ONE*. 2013; 8(6):e66894. DOI: 10.1371/journal.pone.0066894.
15. Vijayan A., García-Arriaza J., Raman S.C., Conesa J.J., Chichón F.G., Santiago C., Sorzano C.O.S., Carrascosa J.L., Esteban M. A chimeric HIV-1 gp120 fused with vaccinia virus 14K (A27) protein as an HIV immunogen. *PLoS ONE*. 2015; 10(7):e0133595. DOI: 10.1371/journal.pone.0133595.
16. Shen X., Basu R., Sawant S., Beaumont D., Kwa S-F., LaBranche C., Seaton K.E., Yates N.L., Montefiori D. Ferrari, Wyatt L.S., Moss B., Alam S.M., Haynes B.F., Tomaras G.D., Robinson H.L. HIV-1 gp120 and modified vaccinia virus Ankara MVA gp140 boost immunogens increase immunogenicity of a DNA/MVA HIV vaccine. *J. Virol.* 2017; 91(24):e01077-17. DOI: 10.1128/jvi.01077-17.
17. Jones A.T., Chamcha V., Kesavardhana S., Shen X., Beaumont D., Das R., Wyatt L.S., LaBranche C.C., Stanfield-Oakley S., Ferrary G., Montefiori D.C., Moss B., Tomaras G.D., Varadarajan R., Amara R.R. A trimeric HIV-1 Envelope gp120 immunogen induces potent and broad anti-v1v2 loop antibodies against HIV-1 in rabbits and rhesus macaques. *J. Virol.* 2018; 92(5):e91796-17. DOI: 10.1128/JVI.01796-17.
18. Capucci S., Wee E.G., Schiffner T., LaBranche C.C., Borthwick N., Cupo A., Dodd J., Dean H., Sattentau Q., Montefiori D., Klasse P.J., Sanders R.W., Moore J.P., Hanke T. HIV-1 neutralizing antibody induced by simian adenovirus- and poxvirus MCA-vectored BG505 native-like envelope trimers. *PLoS ONE*. 2017; 12(8):e0181886. DOI: 10.1371/journal.pone.0181886.
19. Knudsen M.L., Ljungberg K., Tatoud R., Weber J., Esteban M., Liljestrom P. Alphavirus replicon DNA expressing HIV antigens is an excellent prime for boosting with recombinant modified vaccinia Ankara (MVA) or with HIV gp140 protein antigen. *PLoS ONE*. 2015; 10(2):e0117042. DOI: 10.1371/journal.pone.0117042.
20. Roshorm Y., Cottingham M.G., Potash M.-J., Volsky D.J., Hanke T. T cell induced by recombinant chimpanzee adenovirus alone and in prime-boost regimens decrease chimeric EcoHIV/NDK challenge virus load. *Eur. J. Immunol.* 2012; 42(12):3243–55. DOI: 10.1002/eji.201242624.
21. Ourmanov I., Kuwata T., Goeken R., Goldstein S., Iyengar R., Buckler-White A., Lafont B., Hirsch V.M. Improved survival in rhesus macaques immunized with modified vaccinia virus Ankara recombinants expressing simian immunodeficiency virus envelope correlates with reduction in memory CD4⁺ T-cell loss and higher titers of neutralizing antibody. *J. Virol.* 2009; 83(11):5388–400. DOI: 10.1128/JVI.02598-08.
22. Lai L.L., Kwa S-F., Kozlowski P.A., Montefiori D.C., Nolen T., Hudgens M.G., Johnson W.E., Ferrari G., Hirsch V.M., Felber B.K., Pavlakis G.N., Earl P., Moss B., Amara R.A., Robinson H.L. SIVmac239 MVA vaccine with and without a DNA prime, similar prevention of infection by a repeated dose SIVsmE660 challenge despite different immune responses. *Vaccine*. 2012; 30(9):1737–45. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.026.
23. Kannanganat S., Nigam P., Velu V., Earl P.L., Lai L., Chennareddi L., Lawson B., Wilson R.L., Montefiori D.C., Kozlowski P.A., Moss B., Robinson H.L., Amara R.R. Preexisting vaccinia virus immunity decrease SIV-specific cellular immunity but does not diminish humoral immunity and efficacy of a DNA/MVA vaccine. *J. Immunol.* 2010; 185(12):7262–73. DOI: 10.4049/jimmunol.1000751.
24. Engram J.C., Dunham R., Makedonas G., Vanderfor T.H., Sumpter B., Klatt N.R., Ratcliffe S.J., Garg S., Piardini M., McQuoid M., Altman J.D., Staprans S.I., Bets M.R., Garber D.A., Feinberg M.V., Silvestre G. Vaccine-induced, simian immunodeficiency virus-specific CD8⁺ T-cells reduce virus replication but do not protect from simian immunodeficiency virus disease progression. *J. Immunol.* 2009; 183:706–17. DOI: 10.4049/jimmunol.0803746.
25. Manrique M., Kozlowski P.A., Cobo-Molinós A., Wang S-W., Wilson R.L., Montefiori C., Mansfield K.G., Carville A., Aldovini A. Long-term control simian immunodeficiency virus mac251 viremia to undetectable levels in half of infected female rhesus macaques nasally vaccinated with simian immunodeficiency virus DNA/recombinant modified vaccinia virus Ankara. *J. Immunol.* 2011; 186:3581–93. DOI: 10.4049/jimmunol.1002594.
26. Manrique M., Kozlowski P.A., Cobo-Molinós A., Wang S-W., Wilson R.L., Martinec-Viedma M.P., Montefiori D.C., Carville A., Aldovini A. Resistance to infection, early and persistent suppression of Simian Immunodeficiency Virus SIV_{mac251} viremia and significant reduction of tissue viral burden after mucosal vaccination in female rhesus macaques. *J. Virol.* 2014; 88(1):212–24. DOI: 10.1128/jvi.02523-13.
27. Marthas M.L., Van Rompay K.K., Abbott Z., Earl P., Buonocore-Buzzelli L., Moss B., Rose N., Rose J., Kozlowski P.A., Abel K. Partial efficacy of a VSV-SIV/MVA-SIV vaccine regimen against oral SIV challenge in infant macaques. *Vaccine*. 2011; 29(17):3124–37. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.02.051.
28. Van Rompay K.K.A., Abel K., Earl P., Kozlowski P.A., Easlik J., Moore J., Buonocore-Buzzelli L., Schmidt K.A., Wilson R.L., Sison I., Moss B., Rose N., Rose J., Marthas M.L. Immunogenicity of viral vector prime-boost SIV vaccine regimens in infant rhesus macaques: attenuated vesicular stomatitis virus (VSV) and modified vaccinia Ankara (MVA) recombinant SIV vaccines compared to live-attenuated SIV. *Vaccine*. 2010; 28(6):1481–92. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.11.061.
29. Berkley S.F., Koff W.C. Scientific and policy challenges to development of an AIDS vaccine. *Lancet*. 2007; 370:94–101. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61054-X.

Authors:

Stovba L.F., Krotkov V.T., Paveli'ev D.I., Mel'nikov S.A., Lebedev V.N., Borisevich S.V. 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Sergiev Possad, Russian Federation.

Об авторах:

Стובה Л.Ф., Кротков В.Т., Павельев Д.И., Мельников С.А., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, Сергиев Посад. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Поступила 19.11.18.

Отправлена на доработку 24.01.19.

Принята к публ. 08.02.19.