

DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-105-111

УДК 341.735:578

Л.Ф. Стомба, Н.К. Черникова, А.Л. Хмелев, С.В. Борисевич

Антивекторный иммунный ответ, формируемый при применении рекомбинантных вакцин на основе вируса вакцины, штамм MVA*ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад, Российская Федерация*

Поиск безопасных путей первичной иммунизации взрослого населения в условиях отсутствия популяционного иммунитета к ортопоксвирусам в случае необходимости возобновления оспопрививания в настоящее время очень актуален. Вместе с тем клинические испытания рекомбинантных вакцин на основе вируса вакцины (штамм MVA) против различных заболеваний подтверждают их безопасность для людей и, помимо целевой эффективности (способности индуцировать иммунитет на белки, экспрессируемые встроенными чужеродными генами), иммуногенность в отношении вектора – вируса вакцины. **Цель** обзора – анализ уровня антивекторного иммунитета при иммунизации людей рекомбинантными вакцинами на основе вируса вакцины, штамм MVA. Представлены конкретные экспериментальные данные об уровне антивекторного иммунитета в ответ на иммунизацию рекомбинантными вакцинами в различных странах. В основном эти исследования выполнены при испытании рекомбинантов, содержащих встроенные иммунодоминантные гены вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), поскольку их количество значительно превышает количество остальных рекомбинантных препаратов на основе вируса вакцины, они успешно применяются в медицинской практике и безопасны даже для лиц с иммунодефицитными состояниями. Полученные результаты свидетельствуют о повышении уровня антивекторного иммунитета с увеличением дозы вакцины и о достижении максимальных значений его показателей после двукратного введения вакцин. Дальнейшее увеличение кратности иммунизации не приводило к повышению титров специфических антител, а затем их количество снижалось в течение года и более. Помимо гуморального иммунного ответа, выявлена стимуляция факторов клеточного антивекторного иммунитета, представленного в основном полифункциональными CD8⁺ Т-клетками. Встраивание чужеродных генов не влияло на формирование антивекторного иммунитета, так же как и его уровень не оказывал влияния на развитие гуморального и клеточного иммунного ответа к белкам, экспрессируемым встроенными генами. Сравнительная характеристика показателей антивекторного иммунитета после иммунизации рекомбинантными вакцинами и специфического иммунитета в ответ на вакцину IMVAMUNE® свидетельствовала, что их уровни либо соответствовали друг другу, либо в первом случае их значения даже были выше.

Ключевые слова: вирус вакцины, ортопоксвирусы, антивекторный иммунитет, клинические испытания, иммунодоминантные антигены, антитела, клеточный иммунитет.

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

Для цитирования: Стомба Л.Ф., Черникова Н.К., Хмелев А.Л., Борисевич С.В. Антивекторный иммунный ответ, формируемый при применении рекомбинантных вакцин на основе вируса вакцины, штамм MVA. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2025; 1:105–111. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-105-111
Поступила 19.03.2024. Отправлена на доработку 17.04.2024. Принята к публикации 29.01.2025.

L.F. Stovba, N.K. Chernikova, A.L. Khmelev, S.V. Borisevich

Anti-Vector Immune Response Formed after Immunization with Recombinant Vaccines Based on the Vaccinia Virus, MVA Strain*48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation*

Abstract. The search for safe approaches to primary immunization of the adult population under the absence of herd immunity to orthopoxviruses, when re-initiation of smallpox vaccination campaign is required, is currently very relevant. Thereat, the clinical trials of recombinant vaccines based on the vaccinia virus, MVA strain, against different illnesses confirm that they are safe for humans and in addition to target efficiency (capacity to induce immunity to proteins expressed by embedded foreign genes), show immunogenicity to vector – vaccinia virus. **The aim** of the review was to evaluate anti-vector immunity level in people immunized by recombinant viral vaccines, based on vaccinia virus, MVA strain. Explicit experimental data on the level of anti-vector immunity in response to immunization with recombinant vaccines in different countries of the world are presented. Those studies were mainly carried out with recombinants containing embedded immunodominant genes of human immunodeficiency virus (HIV), as the number of works on the creation of recombinant vaccines expressing the antigen determinants of HIV significantly exceeds the number of those on recombinant preparations based on vaccinia virus; the vaccines are successfully used in medical practice and are safe even for people with immunodeficiency conditions. The results obtained indicated an increase in anti-vector immunity with escalation of vaccine dose and peak indicators after two immunizations. Further injections of the vaccine did not lead to increase in the virus neutralizing antibodies, their production gradually decreased over a period of one year or more. In addition to the humoral immune response, cellular anti-vector immunity, represented mainly by CD8⁺ T-cells, was induced. The insertion of foreign genes did not affect the formation of anti-vector immunity, just as its level did not affect the development of humoral and cellular immune responses to proteins expressed by the embedded genes. Comparative characterization of the anti-vector immunity indices after immunization with recombinant vaccines

and specific immunity in response to the IMVAMUNE® vaccine showed that their levels either corresponded to each other, or in the first case the values were even higher.

Key words: vaccinia virus, orthopoxviruses, anti-vector immunity, clinical trials, immunodominant antigens, antibodies, cellular immunity.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

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

Citation: Stovba L.F., Chernikova N.K., Khmelev A.L., Borisevich S.V. Anti-Vector Immune Response Formed after Immunization with Recombinant Vaccines Based on the Vaccinia Virus, MVA Strain. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2025; 1:105–111. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-105-111

Received 19.03.2024. **Revised** 17.04.2024. **Accepted** 29.01.2025.

Stovba L.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>
Chernikova N.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1491-6293>

Borisevich S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Использование рекомбинантных вакцин на основе аттенуированных штаммов вируса вакцины (ВВ) в качестве профилактических и терапевтических препаратов решает сразу две задачи. Помимо прямого назначения, они индуцируют популяционный иммунитет к патогенным для человека ортопоксвирусам.

Хотя в 1980 г. генеральная ассамблея ВОЗ декларировала полное искоренение натуральной оспы, что привело к прекращению обязательной противосспенной иммунизации во всем мире, заболевания, вызываемые другими ранее известными ортопоксвирусами, выявляются и в настоящее время. Вспышки инфекций, симптомы которых похожи на оспу коров, зафиксированы в Европе, заболевания оспой обезьян распространены в Центральной Африке, инфекции, вызванные вакциноподобными штаммами, зарегистрированы в Бразилии и Колумбии, вирусами оспы верблюдов и буйволов – в Средней Азии, Индии и Африке [1].

Помимо уже известных возбудителей ортопоксвирусных инфекций, выявлены новые ортопоксвирусы. Так, в 2013 г. новый ортопоксвирус выделен в Грузии в районе поселка Ахмета из кожных поражений двух пастухов и подтверждена его естественная циркуляция в этом регионе [2]. В Италии при вспышке оспоподобного заболевания среди содержащихся в неволе обезьян [3] и от павшей кошки выделен новый вирус Abatino [4]. В 2015 г. в Северной Америке на Аляске из кожных поражений у женщины выделен новый ортопоксвирус, названный вирус Аляска [5].

Кроме того, в результате активизации экстремистских организаций не исключено использование ортопоксвирусов в качестве агентов биотеррора.

В связи с этим может возникнуть потребность возобновления первичной противосспенной вакцинации взрослого населения на фоне отсутствия популяционного иммунитета, что чревато серьезными осложнениями. Этим обусловлена актуальность поиска безопасных оспенных вакцин и путей формирования противосспенного иммунитета. **Цель работы** – обобщить данные клинических испытаний рекомбинантных векторных вакцин на основе штамма MVA по оценке уровня антивекторного иммунитета не только и даже не столько в отношении обеспечения прямой противоэпидемической защиты населе-

ния, сколько в отношении возможности формирования популяционного иммунитета, на фоне которого иммунизация людей любыми другими вакцинами будет значительно безопаснее.

Основной целью проводимых испытаний рекомбинантных вакцин был выбор оптимальных условий для эффективной иммунизации против возбудителей, иммунодоминантные гены которых встроены в геном векторного вируса вакцины, чаще всего против вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Поэтому в схему вакцинации исследователи включали не только рекомбинантные MVA-вакцины (далее – MVA-вакцины), но и плазмидные ДНК-вакцины *Escherichia coli*, содержащие гены иммунодоминантных белков ВИЧ, которые к формированию иммунитета в отношении вируса вакцины отношения не имели.

В испытании, проведенном в США на 36 здоровых волонтерах, по их словам, не вакцинированных ранее оспенной вакциной и без следов скарификации, 30 человек иммунизировали по следующей схеме. Первичную иммунизацию (праймирование) проводили ДНК-плазмидной векторной вакциной EP-1233, которая была получена из штамма DH5a *E. coli* и кодировала антигенные детерминанты ВИЧ, двукратно с интервалом 28 суток [6]. Для ревакцинации (бустирования) рекомбинантную MVA-вакцину вводили двукратно на 94-е и 168-е сутки от начала исследования в дозе $1 \cdot 10^8$ ЦПД₅₀. Шести волонтерам (контрольная группа) в том же объеме и столько же раз, как и вакцины в опытной группе, вводили плацебо (солевой раствор Трис-буфера). При обследовании фоновых сывороток крови методом ИФА выявили антитела к вирусу вакцины, штамм MVA, у двух из шести субъектов (33 %) в группе плацебо и у двух из 29 (6,9 %) волонтеров в опытной группе. Значения среднегеометрических титров антител (GMT-geometric mean titer) у этих двух волонтеров из опытной группы перед началом иммунизации – 50 (здесь и далее приводятся обратные величины титров антител).

Прежде всего, исследования показали, что вакцинация была безопасной и не приводила к развитию побочных эффектов. Титры антител через 2 недели и после первого, и после второго бустирования определялись у 93 % волонтеров опытной группы. Значение

GMT после первого бустирования составляло 115,5, после второго – 694 (таблица). Через 3 месяца после второго бустирования значения GMT понижались до 167,1 [6]. Достоверно о защитной эффективности определенного уровня гуморального иммунитета к вирусу вакцины судить трудно, поскольку она характеризуется титром вируснейтрализующих антител (защитный уровень $\geq 1:25$), однако представленные данные свидетельствуют о наличии выраженного гуморального иммунитета у 93 % добровольцев уже после первого введения MVA-вакцины и о его сохранении в течение минимум 3 месяцев. Этого фонового иммунитета вполне достаточно, по крайней мере для того, чтобы в будущем, в случае чрезвычайных обстоятельств, последующее введение других оспенных вакцин было безопасно.

В другом испытании, проведенном также в США, принимали участие 50 здоровых, ВИЧ-неинфицированных волонтеров [7], которых разделили на три группы, в каждой из которых иммунизацию проводили трехкратно с интервалами 1 и 6 месяцев дозами $1 \cdot 10^7$, $5 \cdot 10^7$ или $2,5 \cdot 10^8$ ЦПД₅₀ соответственно. Ранее иммунизированные вирусом вакцины добровольцы составляли в исследовании не больше 10 % от общего количества: 3 – в первой группе и 2 – во второй; в третью группу таких волонтеров не включали.

Уровни сероконверсий к вирусу вакцины повышались с каждым последующим введением препарата в каждой группе. В группе волонтеров, вакцинированных дозой $1 \cdot 10^7$ ЦПД₅₀, до иммунизации определялся иммунный ответ к вирусу вакцины у 25 % волонтеров, после всего цикла иммунизации – у 100 %; у вакцинированных дозой $5 \cdot 10^7$ ЦПД₅₀ эти величины составляли 8,3 и 91,6 %; у вакцинированных дозой $2,5 \cdot 10^8$ ЦПД₅₀ – 0 и 100 % соответственно. Данные вновь подтверждают факт успешной ортопоксвирусной иммунизации практически у всех добровольцев, но уже при трехкратном введении препарата.

Клиническое испытание, в котором участвовали 150 ВИЧ-неинфицированных, ранее не вакцинированных оспенной вакциной волонтеров, было проведено в США [8]. В отличие от других испытаний, в нем в контрольной группе использовали не плацебо, а «пустой» вектор, то есть вирус вакцины, штамм MVA, не содержащий встроенного гена ВИЧ-1. Оценивали одинаковые дозы $1 \cdot 10^7$, $1 \cdot 10^8$, $1 \cdot 10^9$ БОЕ и для рекомбинантного, и для векторного вируса. Определяли количество волонтеров, у которых выявлялись иммуноферментные антитела к вирусу вакцины, штамм MVA. Иммунизацию проводили 5 раз через 1, 3, 5 и 7 месяцев.

Полученные результаты показали, что напряженность антивекторного ответа повышалась с увеличением дозы вводимого рекомбинантного вируса. Его уровень достигал максимума после двух вакцинаций дозой $1 \cdot 10^9$ БОЕ, после чего дальнейшие введения вакцины не приводили к повышению ти-

тров вируснейтрализующих антител, однако они поддерживали снижение титров антител в дальнейшем, в течение года и более.

Уровни сероконверсии, определенные по наличию анти-MVA иммуноферментных антител на 14-е сутки после введения первой дозы вакцины, составляли 8,3; 50,0; 97,6 % для доз $1 \cdot 10^7$, $1 \cdot 10^8$, $1 \cdot 10^9$ БОЕ соответственно. Определенные на 42-е сутки, то есть через 12 суток после введения второй дозы вакцины, они были равны 81,8; 91,7; 100 % для доз $1 \cdot 10^7$, $1 \cdot 10^8$, $1 \cdot 10^9$ БОЕ соответственно. При последующих введениях процент сероконверсии уменьшался для доз $1 \cdot 10^7$ и $1 \cdot 10^8$, за исключением дозы $1 \cdot 10^9$ БОЕ, который оставался на уровне 100 % после четырех введений.

Значения сероконверсии, определенные по количеству антител к «пустому» вирусу вакцины на 14-е сутки после введения первой дозы вакцины, составляли 0; 25; 56,1 % для доз $1 \cdot 10^7$, $1 \cdot 10^8$, $1 \cdot 10^9$ БОЕ соответственно. Определенные на 42-е сутки, то есть через 12 суток после введения второй дозы вакцины, были равны 18,2; 66,7; 100 % для доз $1 \cdot 10^7$, $1 \cdot 10^8$, $1 \cdot 10^9$ БОЕ соответственно. При последующих введениях вакцины в дозах $1 \cdot 10^8$, $1 \cdot 10^9$ БОЕ они постепенно уменьшались, а в дозе $1 \cdot 10^7$ БОЕ падали до 0 % уже при третьем введении препарата.

Уровень антивекторного иммунного ответа при введении рекомбинантного вируса не уступал таковому, формируемому «пустым» контрольным вирусом при дозе $1 \cdot 10^9$ БОЕ, то есть встраивание чужеродного гена не влияло на формирование антивекторного иммунитета. Скорости формирования иммунных ответов для рекомбинантного и векторного вируса были одинаковы. Уровень антивекторного иммунного ответа не оказывал влияния на развитие гуморального и клеточного иммунного ответа к белкам, экспрессируемым встроенными в геном вируса-вектора генами [8].

В испытании, проведенном в Швеции на 40 ВИЧ-неинфицированных волонтерах, первичную иммунизацию проводили трехкратным введением ДНК-вакцины, а ревакцинацию – однократным введением MVA-вакцины [9]. Данная схема иммунизации практически не индуцировала нейтрализующих антител против вируса вакцины, величина которых не отличалась от фоновых значений. Однако проведенное через 38 месяцев второе бустирование 24 волонтеров, выбранных из этих сорока, MVA-вакциной в дозе $1 \cdot 10^8$ БОЕ способствовало выработке нейтрализующих антител против вируса вакцины, штамм Листер, средний титр которых через 2 недели достигал пика со значением 167. Через 6 месяцев после второй иммунизации титр антивирусных антител понижался до значения 39 [10]. Оба значения свидетельствуют о формировании полноценного гуморального иммунного ответа.

В испытании, проведенном в Испании, 30 ВИЧ-неинфицированных, не вакцинированных оспенной вакциной здоровых волонтеров иммунизировали

Результаты определения максимального антивекторного иммунитета, полученные в клинических испытаниях рекомбинантных вакцин на основе вируса вакцины, штамм MVA, IMVAMUNE®
Results of determining the maximum anti-vector immunity obtained in the course of clinical trials of recombinant vaccines based on the vaccinia virus, MVA strain, IMVAMUNE®

Место проведения испытания Trial settings	Количество волонтеров Number of volunteers	Медицинский статус волонтеров Medical status of volunteers	Условия применения вакцины, кратность введения Conditions of vaccine use, frequency of administration	Доза вакцины The dose of the vaccine	Уровень индуцированного антивекторного иммунитета у волонтеров The level of induced anti-vector immunity in volunteers	
					Гуморальный (в обратных величинах титров антител) Humoral (in inverse values of antibody titers)	Клеточный Cellular
США [6]* USA [6]*	36	Здоровые, вакцинированные оспенной вакциной Healthy, vaccinated with smallpox vaccine	Ревакцинация, двукратно Boosting, twice	1·10 ⁸ ЦПД ₅₀ CPE ₅₀	694 Значение GMT после второго бустирования GMT value after the second boost	Нет данных No data
США [7] USA [7]	50	Здоровые, 10 % вакцинированных оспенной вакциной Healthy, 10% vaccinated with smallpox vaccine	Первичная иммунизация, трехкратно Primary immunization, three times	2,5·10 ⁸ ЦПД ₅₀ CPE ₅₀	100 % Сероконверсия / Serogconversion	Нет данных No data
США [8] USA [8]	150	Здоровые, не вакцинированные оспенной вакциной Healthy, not vaccinated with smallpox vaccine	Первичная иммунизация, двукратно Primary immunization, twice	1·10 ⁹ БОЕ PFU	100 % Сероконверсия / Serogconversion	Нет данных No data
Швеция [9] Sweden [9]	24	Здоровые, не вакцинированные оспенной вакциной Healthy, not vaccinated with smallpox vaccine	Вторая ревакцинация через 38 месяцев, однократно The second boost after 38 months, once	1·10 ⁸ БОЕ PFU	167 Среднее значение вируснейтрализующих антител The average value of virus neutralizing antibodies	Нет данных No data
Испания [11] Spain [11]	13	Здоровые, не вакцинированные оспенной вакциной Healthy, not vaccinated with smallpox vaccine	Вторая ревакцинация через 4 года, однократно The second booster after 4 years, once	1·10 ⁸ БОЕ PFU	100 % Сероконверсия / Serogconversion 9601 Титр антител, определенный в ИФА Antibody titer determined in ELISA 378 Титр вируснейтрализующих антител Titer of virus neutralizing antibodies	У 80 % волонтеров полифункциональные CD8 ⁺ Т-лимфоциты 80% of volunteers have multifunctional CD8 ⁺ T lymphocytes
Индия [13] India [13]	32	Здоровые, не вакцинированные оспенной вакциной Healthy, not vaccinated with smallpox vaccine	Ревакцинация, двукратно Boosting, twice	5·10 ⁶ БОЕ PFU	1442 Средние титры, определенные в ИФА Average titers measured in ELISA	Нет данных No data
Англия [14] England [14]	32	Здоровые, не вакцинированные оспенной вакциной Healthy, not vaccinated with smallpox vaccine	Первичная иммунизация, трехкратно Primary immunization, three times	5·10 ⁷ БОЕ PFU	100 % Сероконверсия / Serogconversion ≈2000 Средние титры, определенные в ИФА Average titers measured in ELISA	Не определяли Not determined
Испания [15] Spain [15]	30	ВИЧ-инфицированные HIV infected	Первичная иммунизация, трехкратно Primary immunization, three times	1·10 ⁸ БОЕ PFU	Не определяли Not determined	Полифункциональные CD8 ⁺ Т-лимфоциты Multifunctional CD8 ⁺ T-lymphocytes
США [16] USA [16]	117	Здоровые Healthy	Первичная иммунизация, трехкратно Primary immunization, three times	1·10 ⁸ ЦПД ₅₀ CPE ₅₀	Не определяли Not determined	Полифункциональные CD4 ⁺ и CD8 ⁺ Т-лимфоциты Multifunctional CD4 ⁺ and CD8 ⁺ T-lymphocytes
Великобритания [17] United Kingdom [17]	24	Здоровые, вакцинированные оспенной вакциной Healthy, vaccinated with smallpox vaccine	Вакцина MVA85A аэрозольно и внутрикочно MVA85A vaccine, in aerosol form and intradermally	1·10 ⁷ БОЕ PFU	Титр сывороточных антител выше при внутрикочной иммунизации The titer of serum antibodies is higher in case of intradermal administration	Т-клеточный T-cell

Примечание: * ссылка на источник литературы.

Notes: * link to the literature source, CPE – cytopathogenic effect.

трехкратно MVA-вакциной в дозе $1 \cdot 10^8$ БОЕ [11]. Через 4 года после последней вакцинации 13 из 30 волонтеров, давших согласие на продолжение испытания, ревакцинировали еще раз той же MVA-вакциной в дозе $1 \cdot 10^8$ БОЕ [12]. Вакцинация прошла без осложнений. Клеточный и гуморальный иммунитет оценивали к вирусу ВИЧ и антигенам векторного вируса MVA методами ElisPot, проточной цитометрии, ELISA и в реакции нейтрализации на сроках 0, 2, 4 и 12 недель после ревакцинации.

Специфичность клеточного иммунного ответа оценивали методом внутриклеточного цитокинового окрашивания. Перед ревакцинацией только у 12,5 % волонтеров выявляли $CD8^+$ Т-клеточный антивекторный иммунитет. После нее количество добровольцев с наличием антивекторного клеточного иммунитета резко увеличилось. Так, через 4 недели после вакцинации в пробах у 80 % добровольцев определяли $CD8^+$ Т-клетки, которые экспрессировали IFN- γ , IL-2, TNF- α и CD107a цитокины.

Перед ревакцинацией иммуноглобулины G против белков вируса вакцины, определенные методом ИФА, выявлялись в титре 187 у 61,5 % волонтеров. После нее эти антитела были определены у 100 % волонтеров. Через 2 недели их титр достигал значения 9601, к 4-й неделе снижался незначительно – до значения 6867, а к 12-й неделе – до 4953.

Нейтрализующих антител к вирусу вакцины перед ревакцинацией не было ни у одного из волонтеров, но через 2 недели их титр достигал максимального значения 378 и определялся у 100 % волонтеров, после чего к 4-й неделе снижался до значения 164, а к 12-й неделе – до 104 [12]. И хотя их титр снижается уже через 2 месяца, эти значения являются, на наш взгляд, достаточно высокими.

В испытании, которое проводили в Индии, принимали участие 32 ВИЧ-неинфицированных здоровых волонтера, не иммунизированных оспенной вакциной. Оценивались две схемы вакцинации: группа А – первичная иммунизация двукратным введением ДНК-вакцины с интервалом 1 месяц; ревакцинация – двукратным введением MVA-вакцины на 3-й и 6-й месяцы от начала исследования в дозе $5 \cdot 10^6$ БОЕ и группа В – трехкратное введение MVA-вакцины в той же дозе на 0, 1, 6-й месяцы [13].

Результаты определения уровня гуморального антивекторного иммунитета методом ИФА свидетельствовали о наличии антител к вирусу вакцины у волонтеров в обеих группах. Несмотря на относительно низкую иммунизирующую дозу, через 14 суток после последней вакцинации средние значения титров в группе А равнялись 1442, в группе В – 946. Через 6 месяцев после последней вакцинации значения титров уменьшались и составляли 418 в группе А и 616 в группе В, то есть практически не отличались друг от друга.

В испытании, проведенном в Англии на 32 ВИЧ-неинфицированных, не иммунизированных оспенной вакциной в течение трех лет до участия в испы-

тании волонтерах, оценивались две схемы иммунизации: А – трехкратно ДНК-вакцина и однократно MVA-вакцина; В – трехкратно MVA-вакцина в дозе $5 \cdot 10^7$ БОЕ [14]. Титры специфических антител к вирусу вакцины, определенные методом ИФА, оценивались до вакцинации и через 2 и 13 недель после последней иммунизации.

Перед вакцинацией антитела к вирусу вакцины выявляли у 27,3 % волонтеров в группе А, у 25,0 % – в группе В, у 37,5 % – в группе плацебо. Через 2 недели после последней вакцинации они определялись у 18,2 % в группе А и у 100 % – в группе В. Через 13 недель после последней вакцинации они выявлялись у 27,3 % волонтеров в группе А и у 100 % – в группе В. Средние значения титров ИФА к вирусу вакцины через 2 недели после последней вакцинации резко повышались в группе В до значения ≈ 2000 и имели величину < 100 в группе А. Через 13 недель они были равны 745 в группе В и оставались на прежнем уровне в группе А. Результаты свидетельствуют, что для формирования антивекторного иммунитета одной дозы MVA-вакцины недостаточно, в то время как трехкратная иммунизация формировала выраженный противооспенный гуморальный иммунитет, который практически не снижался в течение 3 месяцев.

В испытании, проведенном в Испании на 30 ВИЧ-инфицированных волонтерах, получающих антиретровирусную терапию, оценивали клеточный антивекторный иммунитет с точки зрения его полифункциональности [15]. Ответы специфичных к антигенам вектора Т-клеток оценивали методом ICS-анализа (внутриклеточное цитокиновое окрашивание) после стимуляции изолированных РВМС аутологичными клетками, инфицированными штаммом MVA-вируса коровьей оспы (VACV). В группе плацебо ни у одного из волонтеров $CD8^+$ Т-лимфоциты против вируса вакцины не выявлены ни до, ни после проведения испытания. В опытной группе до вакцинации также не обнаружено ответов Т-клеток $CD8^+$ против ортопоксвирусов, но их количество значительно увеличилось после 2 или 3 доз рекомбинантной вакцины MVA, при этом ответы специфических Т-клеток против вектора обнаружены у 12 из 14 (86 %) вакцинированных. Трехкратное введение MVA-вакцины в дозе $1 \cdot 10^8$ БОЕ приводило к формированию антивекторного клеточного иммунитета, представленного в основном $CD8^+$ Т-лимфоцитами.

Клеточный антивекторный иммунный ответ также исследовали вышеописанными методами в испытании, проведенном в США, с участием 117 здоровых волонтеров [16]. Изучали три схемы вакцинации: первая – две дозы ДНК-вакцины и две дозы MVA-вакцины (ДДММ); вторая – одна доза ДНК-вакцины и две дозы MVA-вакцины (ДММ); третья – три дозы MVA-вакцины (МММ). MVA-вакцину в третьей группе вводили в дозе $1 \cdot 10^8$ ЦПД₅₀ трехкратно через 8 и 24 недели. Выявлено, что самый высокий уровень клеточного антивекторного иммунитета инду-

цируется у волонтеров, трижды иммунизированных MVA-вакциной (третья группа). Он представлен полифункциональными CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами (определялась экспрессия IFN- γ , IL-2) [16].

Помимо определения противовекторного иммунного ответа при иммунизации рекомбинантными MVA-вакцинами, экспрессирующими антигенные детерминанты ВИЧ, клеточный иммунный ответ исследовали в испытании при аэрогенной иммунизации добровольцев рекомбинантной вакциной на основе вектора MVA, в геном которого встроен один из иммунодоминантных антигенов возбудителя туберкулеза – 85A [17]. В испытании, проведенном в Великобритании, участвовали 24 здоровых, вакцинированных BCG-вакциной волонтера. Антивекторный иммунитет оценивали в сравнении с таковым при внутрикожном введении той же вакцины в той же дозе ($1 \cdot 10^7$ БОЕ). Определяли титры антител к MVA-IgG, -IgA, и -IgM. Выявлено, что титр сывороточных антивекторных антител выше при внутрикожной иммунизации [17].

В таблице представлены показатели антивекторного иммунитета в зависимости от схемы вакцинации и доз MVA-вакцины.

Результаты клинических испытаний по исследованию антивекторного иммунного ответа при применении рекомбинантных вакцин на основе вируса вакцины, штамм MVA, сравнивали с результатами иммуногенности коммерческой вакцины на основе вируса вакцины, штамм MVA (IMVAMUNE®) [18]. Оптимальной дозой для формирования иммунитета, выявленной в клинических испытаниях вакцины IMVAMUNE®, является доза $1 \cdot 10^8$ ЦПД₅₀ при двукратном введении (праймирование/бустирование) с интервалом 4 недели. При этом уровень сероконверсии, определенный методом ИФА, после завершения цикла иммунизации составлял 100 %. При определении антивекторного иммунитета при разных схемах введения рекомбинантной MVA-вакцины уровень сероконверсии также равнялся 100 % после окончания полного цикла иммунизации [7, 8, 12, 14].

Значения GMT в клинических испытаниях после ревакцинации, определенные методом ИФА, для вакцины IMVAMUNE® составили 813,8 [18], 501,7 [19], 804,1 [20]. Средние значения титров антивекторных антител, определенные также методом ИФА, для MVA-вакцин имели значение 694 [6] либо даже превышали таковые для вакцины IMVAMUNE® (9601, 1442, ≈ 2000) [12–14] при одинаковых дозах вакцины, но разных схемах иммунизации. Значения GMT после ревакцинации, определенные в реакции нейтрализации, для вакцины IMVAMUNE® составляли 19,43 [18], 30,2 [19] и 210,3 [20]. Значения средних титров нейтрализующих антител после ревакцинации рекомбинантными MVA-вакцинами (167 [10] и 378 [12]) даже превышали таковые для вакцины IMVAMUNE®.

Сравнительная характеристика антивекторного иммунитета при введении рекомбинантных вакцин и

вакцины IMVAMUNE® показывает, что показатели индуцированных иммунных ответов либо соответствовали друг другу, либо даже превышали таковые для антивекторного иммунитета.

Таким образом, результаты иммунизации волонтеров рекомбинантными векторными вакцинами на основе вируса вакцины, штамм MVA, свидетельствуют об их безопасности и формировании, наряду с иммунитетом к белкам, экспрессируемым встроенными генами, гуморального и клеточного иммунного ответа к вирусу вакцины (антивекторного иммунитета). В результатах представленных испытаний не всегда достаточно данных, чтобы достоверно оценить значение уровня антивекторного иммунитета с точки зрения обеспечения защиты людей от вирулентных ортопоксвирусов в случае чрезвычайной ситуации, но их вполне достаточно, чтобы определенно подтвердить факт формирования выраженного антивекторного иммунитета, на фоне которого применение любых других оспенных вакцин в случае возобновления оспопрививания будет значительно безопаснее. Другими словами, иммунизация рекомбинантными вакцинами на основе вируса вакцины, штамм MVA, может стать первым шагом по восстановлению популяционного иммунитета населения к ортопоксвирусным инфекциям. На фоне неблагоприятной по ортопоксвирусам эпидемиологической обстановки и возможного возврата к противооспенной иммунизации населения применение векторных вакцин на основе вируса вакцины, штамм MVA, по основному назначению может быть также очень полезным для формирования первого эшелона защиты от опасных для человека ортопоксвирусов и повышения безопасности первичной оспенной иммунизации взрослых людей в будущем.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

References / Список литературы

1. Silva N.I.O., de Oliveira J.S., Kroon E.G., Trindade G.S., Drumond B.P. Here, there, and everywhere: The wide host range and geographic distribution of zoonotic orthopoxviruses. *Viruses*. 2020; 13(1):43. DOI: 10.3390/v13010043.
2. Gao J., Gigante C., Khmaladze E., Liu P., Tang S., Wilkins K., Zhao K., Davidson W., Nakazawa Y., Maghlakelidze G., Geleishvili M., Kokhrezidze M., Carroll D.S., Emerson G., Li Y. Genome sequences of Akhmeta virus, an early divergent old world orthopoxvirus. *Viruses*. 2018; 10(5):252. DOI: 10.3390/v10050252.
3. Cardetti G., Gruber C.E.M., Eleni C., Carletti F., Castilletti C., Manna G., Rosone F., Giombini E., Selleri M., Lapa D., Puro V., Di Caro A., Lorenzetti R., Scicluna M.T., Grifoni G., Rizzoli A., Tagliapietra V., De Marco L., Capobianchi M.R., Autorino G.L. Fatal outbreak in Tonkean macaques caused by possible novel orthopoxvirus, Italy, January 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(12):1941–9. DOI: 10.3201/eid2312.162098.
4. Gruber C.E.M., Giombini E., Selleri M., Tausch S.H., Andrusch A., Tyshaieva A., Cardetti G., Lorenzetti R., De Marco L., Carletti F., Nitsche A., Capobianchi M.R., Ippolito G., Autorino G.L., Castilletti C. Whole genome characterization of orthopoxvirus (OPV) Abatino, a zoonotic virus representing a putative novel clade of old world orthopoxvirus. *Viruses*. 2018; 10(10):546. DOI: 10.3390/v10100546.

5. Gigante C.M., Gao J., Tang S., McCollum A.M., Wilkins K., Reynolds M.G., Davidson W., McLaughlin J., Olson V.A., Li Y. Genome of Alaskapox virus, a novel orthopoxvirus isolated from Alaska. *Viruses*. 2019; 11(8):708. DOI: 10.3390/v11080708.
6. Gorse G.J., Newman M.J., deCamp A., Hay C.M., De Rosa S.C., Noonan E., Livingston B.D., Fuchs J.D., Kalams S.A., Cassis-Ghavamli F.L.; NIAID HIV Vaccine Trials Network. DNA and modified vaccinia virus Ankara vaccines encoding multiple cytotoxic and helper T-lymphocyte epitopes of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) are safe but weakly immunogenic in HIV-1-uninfected, vaccinia virus-naïve adults. *Clin. Vaccine Immunol.* 2012; 19(5):649–58. DOI: 10.1128/CI.00038-12.
7. Vasan S., Schlesinger S.J., Chen Z., Hurley A., Lombardo A., Than S., Adesanya P., Bunce C., Boaz M., Boyle R., Sayeed E., Clark L., Dugin D., Boente-Carrera M., Schmidt C., Fang Q., Lei Ba, Huang Y., Zaharatos G.J., Gardiner D.F., Caskey M., Seamons L., Ho M., Dally L., Smith C., Cox J., Gill D., Gilmour J., Keefer M.C., Fast P., Ho D.D. Phase I safety and immunogenicity evaluation of ADMVA, a multigenic, modified vaccinia Ankara-HIV-1B/C candidate vaccine. *PLoS One*. 2010; 5(1):e8816. DOI: 10.1371/journal.pone.0008816.
8. Walsh S.R., Seaman M.S., Grandpre L.E., Charbonneau C., Yanosick K.E., Metch B., Keefer M.C., Dolin R., Baden L.R. Impact of anti-orthopoxvirus neutralizing antibodies induced by heterologous prime-boost HIV-1 vaccine on insert-specific immune responses. *Vaccine*. 2012; 31(1):114–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.10.093.
9. Sandström E., Nilsson C., Hejdeman B., Bråve A., Bratt G., Robb M., Cox J., Vancott T., Marovich M., Stout R., Aboud S., Bakari M., Pallangyo K., Ljungberg K., Moss B., Earl P., Michael N., Birx D., Mhalu F., Wahren B., Biberfeld G.; HIV Immunogenicity Study 01/02 Team. Broad immunogenicity of a multigene, multiclade HIV-1 DNA vaccine boosted with heterologous HIV-1 recombinant modified vaccinia virus Ankara. *J. Infect. Dis.* 2008; 198(10):1482–90. DOI: 10.1086/592507.
10. Nilsson C., Godoy-Ramirez K., Hejdeman B., Bråve A., Gudmundsdottir L., Hallengård D., Currier J.R., Wiecezorek L., Hasselrot K., Earl P.L., Polonis V.R., Marovich M.A., Robb M.L., Sandström E., Wahren B., Biberfeld G. Broad and potent cellular and humoral immune responses after a second late HIV-modified vaccinia virus Ankara vaccination in HIV-DNA-primed and HIV-modified vaccinia virus Ankara-boosted Swedish vaccinees. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014; 30(3):299–311. DOI: 10.1089/AID.2013.0149.
11. García F., Bernaldo de Quirós J.C.L., Gómez C.E., Perdiguero B., Nájera J.L., Jiménez V., García-Arriaza J., Guardo A.C., Pérez I., Díaz-Brito V., Conde M.S., González N., Alvarez A., Alcamí J., Jiménez J.L., Pich J., Arnaiz J.A., Maleno M.J., León A., Muñoz-Fernández M.A., Liljeström P., Weber J., Pantaleo G., Gatell J.M., Plana M., Esteban M. Safety and immunogenicity of a modified pox vector-based HIV/AIDS vaccine candidate expressing Env, Gag, Pol and Nef proteins of HIV-1 subtype B (MVA-B) in healthy HIV-1-uninfected volunteers: A phase I clinical trial (RISVAC02). *Vaccine*. 2011; 29(46):8309–16. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.08.098.
12. Guardo A.C., Gómez C.E., Díaz-Brito V., Pich J., Arnaiz J.A., Perdiguero B., García-Arriaza J., González N., Sorzano C.O.S., Jiménez L., Jiménez J.L., Muñoz-Fernández M.A., Gatell J.M., Alcamí J., Esteban M., de Quirós J.C.L.B., García F., Plana M.; RISVAC02boost study. Safety and vaccine-induced HIV-1 immune responses in healthy volunteers following a late MVA-B boost 4 years after the last immunization. *PLoS One*. 2017; 12(10):e0186602. DOI: 10.1371/journal.pone.0186602.
13. Mehendale S., Thakar M., Sahay S., Kumar M., Shete A., Sathyamurthi P., Verma A., Kurlle S., Shrotri A., Gilmour J., Goyal R., Dally L., Sayeed E., Zachariah D., Ackland J., Kochhar S., Cox J.H., Excler J.-L., Kumaraswami V., Paranjape R., Ramanathan V.D. Safety and immunogenicity of DNA and MVA HIV-1 subtype C vaccine prime-boost regimens: a phase I randomised trial in HIV-uninfected Indian volunteers. *PLoS One*. 2013; 8(2):e55831. DOI: 10.1371/journal.pone.0055831.
14. Hayes P., Gilmour J., von Lieven A., Gill D., Clark L., Kopycinski J., Cheeseman H., Chung A., Alter G., Dally L., Zachariah D., Lombardo A., Ackland J., Sayeed E., Jackson A., Boffito M., Gazzard B., Fast P.E., Cox J.H., Laufer D. Safety and immunogenicity of DNA prime and modified vaccinia Ankara virus-HIV subtype C vaccine boost in healthy adults. *Clin. Vaccine Immunol.* 2013; 20(3):397–408. DOI: 10.1128/CI.00637-12.
15. Gómez C.E., Perdiguero B., García-Arriaza J., Cepeda V., Sánchez-Sorzano C.O., Mothe B., Jiménez J. L., Muñoz-Fernández M.A., Gatell J.M., López Bernaldo de Quirós J.C., Brander C., García F., Esteban M. A phase I randomized therapeutic MVA-B vaccination improves the magnitude and quality of the T cell immune responses in HIV-1-infected subjects on HAART. *PLoS One*. 2015; 10(11):e0141456. DOI: 10.1371/journal.pone.0141456.
16. Goepfert P.A., Elizaga M.L., Sato A., Qin L., Cardinali M., Hay C.M., Hural J., DeRosa S.C., DeFawe O.D., Tomaras G.D., Montefiori D.C., Xu Y., Lai L., Kalams S.A., Baden L.R., Frey S.E., Blattner W.A., Wyatt L.S., Moss B., Robinson H.L.; National Institute of Allergy and Infectious Diseases HIV Vaccine Trials Network. Phase I safety and immunogenicity testing of DNA and recombinant modified vaccinia Ankara vaccines expressing HIV-1 virus-like particles. *J. Infect. Dis.* 2011; 203(5):610–9. DOI: 10.1093/infdis/jiq105.
17. Satti I., Meyer J., Harris S.A., Manjaly Thomas Z.-R., Griffiths K., Antrobus R.D., Rowland R., Ramon R.L., Smith M., Sheehan S., Bettinson H., McShane H. Safety and immunogenicity of a candidate tuberculosis vaccine MVA85A delivered by aerosol in BCG-vaccinated healthy adults: a phase I, double-blind, randomized controlled trial. *Lancet. Infect. Dis.* 2014; 14(10):939–46. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70845-X.
18. von Krempelhuber A., Vollmar J., Pokorny R., Rapp P., Wulff N., Petzold B., Handley A., Mateo L., Siersbol H., Kollaritsch H., Chaplin P. A randomized, double-blind, dose-finding Phase II study to evaluate immunogenicity and safety of the third generation smallpox vaccine candidate IMVAMUNE®. *Vaccine*. 2010; 28(5):1209–16. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.11.030.
19. Frey S.E., Winokur P.L., Hill H., Goll J.B., Chaplin P., Belshe R.B. Phase II randomized, double-blinded comparison of a single high dose (5·10⁸ TCID₅₀) of modified vaccinia Ankara compared to a standard dose (1·10⁸ TCID₅₀) in healthy vaccinia-naïve individuals. *Vaccine*. 2014; 32(23):2732–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.02.043.
20. Greenberg R.N., Hay C.M., Stapleton J.T., Marbury T.C., Wagner E., Kreitmair E., Rösch S., von Krempelhuber A., Young P., Nichols R., Meyer T.P., Schmidt D., Weigl J., Virgin G., Arndt-Wiedemann N., Chaplin P. A randomized, double-blind, placebo-controlled Phase II trial investigating the safety and immunogenicity of modified vaccinia Ankara smallpox vaccine (MVA-BN®) in 56–80-year-old subjects. *PLoS One*. 2016; 11(6):e0157335. DOI: 10.1371/journal.pone.0157335.

Authors:

Stovba L.F., Chernikova N.K., Khmelev A.L., Borisevich S.V.
48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Sergiev Possad, Moscow Region, 141306, Russian Federation.
E-mail: 48cnii@mail.ru.

Об авторах:

Стовба Л.Ф., Черникова Н.К., Хмелев А.Л., Борисевич С.В.
48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 141306, Московская обл., Сергиев Посад. E-mail: 48cnii@mail.ru.