

# Кандидатная вакцина на основе модифицированных липополисахаридов *Shigella flexneri* 1b, 2a, 3a, 6 и Y безопасна и стимулирует секрецию специфических антител у добровольцев, результаты I фазы клинических исследований

В.А.Лёдов<sup>1,3</sup>, М.А.Головина<sup>1</sup>, Б.И.Алхазова<sup>1</sup>, И.В.Анкудинов<sup>1</sup>, П.А.Стряхнин<sup>1</sup>, А.Л.Ковальчук<sup>2</sup>, П.Г.Апарин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ООО «ГРИТВАК», Москва, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ООО «НПФ "МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ"», Москва, Российская Федерация;

<sup>3</sup>ФБУН «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины», Москва, Российская Федерация

Кандидатная вакцина против дизентерии Флекснера Флексвак® была разработана на основе эпидемически значимых штаммов *Shigella flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y. В клиническое исследование были включены 25 добровольцев в возрасте от 18 до 45 лет, случайным образом распределенные на 2 группы. В первые сутки наблюдения трижды через 2 ч они проходили медицинское обследование. Болезненности, образования инфильтратов, увеличения регионарных лимфоузлов выявлено не было за весь период наблюдения ни у одного из наблюдаемых лиц. У двух добровольцев, привитых препаратом Флексвак® дозой 125 мкг, было зарегистрировано незначительное покраснение в месте введения в течение 2 ч после инъекции. Общее самочувствие добровольцев после вакцинации – без изменений. Жалоб на недомогание, головную боль, тошноту, рвоту, боль в животе не предъявляли. По данным термометрии, измерения артериального давления, пульса отрицательной динамики не выявлено. Отклонений от норм биохимических и общих показателей крови не зарегистрировано, так же как и не зарегистрировано отклонений в цитокиновом статусе в первые часы после введения препарата. Через 21 день после первичной иммунизации препаратом Флексвак® дозой 62,5 мкг сероконверсия IgA, специфичных к *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, была выявлена у 67; 75; 42; 42 и 50% добровольцев соответственно. Сероконверсия IgG, специфичных к *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, была выявлена у 58; 58; 42; 33; 33% добровольцев соответственно. Сероконверсия IgM, специфичных к *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, была выявлена у 25; 33; 8; 0; 8% добровольцев соответственно. С повышением дозы и кратности иммунизации существенных изменений в уровнях антител, специфичных к ЛПС *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, у добровольцев не установлено.

**Ключевые слова:** липополисахарид, *Shigella flexneri*

**Для цитирования:** Лёдов В.А., Головина М.А., Алхазова Б.И., Анкудинов И.В., Стряхнин П.А., Ковальчук А.Л., Апарин П.Г. Кандидатная вакцина на основе модифицированных липополисахаридов *Shigella flexneri* 1b, 2a, 3a, 6 и Y безопасна и стимулирует секрецию специфических антител у добровольцев, результаты I фазы клинических исследований. Бактериология. 2024; 9(4): 49–55. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-49-55

## A candidate vaccine based on modified lipopolysaccharides of *Shigella flexneri* 1b, 2a, 3a, 6 and Y is safe and stimulates secretion of serotype-specific antibodies in volunteers, results of phase 1 clinical trial

V.A.Ledov<sup>1,3</sup>, M.A.Golovina<sup>1</sup>, B.I.Alkhazova<sup>1</sup>, I.V.Ankudinov<sup>1</sup>, P.A.Stryakhnin<sup>1</sup>, A.L.Kovalchuk<sup>2</sup>, P.G.Aparin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>GRITVAK LLC, Moscow, Russian Federation;

<sup>2</sup>ООО "НПФ "МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ"" , Moscow, Russian Federation;

<sup>3</sup>Research Institute of Systems Biology and Medicine, Moscow, Russian Federation

### Для корреспонденции:

Лёдов Владимир Алексеевич, кандидат медицинских наук, клинический директор ООО «ГРИТВАК», специалист во ФБУН «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины»

Адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Телефон: (499) 617-0813

E-mail: ledov\_va@sysbiomed.ru

Статья поступила 12.08.2024, принята к печати 25.12.2024

### For correspondence:

Vladimir A. Ledov, MD, PhD, Clinical Director of GRITVAK LLC, Specialist at the Research Institute of Systems Biology and Medicine

Address: 24 Kashirskoye highway, Moscow, 115478, Russian Federation

Phone: (499) 617-0813

E-mail: ledov\_va@sysbiomed.ru

The article was received 12.08.2024, accepted for publication 25.12.2024

A candidate vaccine against Flexner's dysentery, Flexvac<sup>®</sup>, was developed on the basis of epidemically significant strains of *Shigella flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y. The clinical trial included 25 volunteers aged 18 to 45 years, who were randomly divided into 2 groups. During the first day of observation, they underwent a medical examination every 2 hours, three times. Pain, induration at the injection site, or enlargement of regional lymph nodes were not detected during the entire observation period in any of the study participants. Two volunteers vaccinated with Flexvac<sup>®</sup> at a dose of 125 µg experienced slight redness at the injection site for 2 hours after vaccine administration. There was no change in the general well-being of the volunteers after vaccination. No complaints of malaise, headache, nausea, vomiting, or abdominal pain were recorded. According to thermometry, blood pressure and pulse measurements, no negative dynamics was detected. No deviations in biochemical and hematological parameters from normal values were registered, as well as no changes in the cytokine status were detected in the first hours after vaccine administration. 21 days after primary immunization with "Flexvac<sup>®</sup>" at a dose of 62.5 µg, seroconversion of IgA specific for *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y was detected in 67, 75, 42, 42, and 50% of volunteers, respectively. Seroconversion of IgG specific for *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y was detected in 58, 58, 42, 33, and 33% of volunteers, respectively. Seroconversion of IgM specific to *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y was detected in 25, 33, 8, 0, and 8% of volunteers, respectively. With increasing dose and frequency of immunization, no significant changes in the levels of antibodies specific to LPSs of *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y were revealed in volunteers.

**Key words:** lipopolysaccharide, *Shigella flexneri*

**For citation:** Ledov V.A., Golovina M.A., Alkhazova B.I., Ankudinov I.V., Stryakhnin P.A., Kovalchuk A.L., Aparin P.G. A candidate vaccine based on modified lipopolysaccharides of *Shigella flexneri* 1b, 2a, 3a, 6 and Y is safe and stimulates secretion of serotype-specific antibodies in volunteers, results of phase 1 clinical trial. Bacteriology. 2024; 9(4): 49–55. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-49-55

**Ш**игеллез является основной причиной воспалительных заболеваний кишечника в эндемичных регионах. Заболевание особенно опасно для детей, живущих в странах с низким и средним уровнем дохода, для беженцев, путешественников и дислоцированных военнослужащих [1–3]. Шигеллы распространяются фекально-орально, например через зараженную пищу и воду, а также при контакте от человека к человеку и имеют низкую инфекционную дозу, что делает их особенно контагиозными в условиях плохих санитарных условий и перенаселенности [4, 5]. От дизентерии ежегодно в мире погибает порядка 54 900 детей в возрасте до пяти лет, это ~50% смертей, связанных с диареей, в данной возрастной группе [6].

В Российской Федерации дизентерия остается одним из распространенных инфекционных заболеваний. Особую эпидемическую значимость дизентерия имеет для ограниченных коллективов, находящихся в условиях компактного проживания, путешественников, а также групп лиц, работающих в полевых условиях [7].

Около половины случаев дизентерии вызвано шигеллой Флекснера, причем подавляющее большинство зарегистрированных смертельных исходов обусловлено именно этим видом шигелл. Доминирующим возбудителем дизентерии Флекснера является *Shigella flexneri* 2a, минорные эпидемически значимые серотипы шигелл Флекснера: 1b, 3a, Y, 6, 4a [4]. Доля шигелл, устойчивых к антимикробной терапии, в мире варьирует в широком диапазоне и неуклонно возрастает. В некоторых регионах резистентность к ципрофлоксацину и цефтазидину достигает 100% [8]. На территории России устойчивость выделенных штаммов шигелл к сульфаниламидам составила 96%, к фторхинолонам – 53% [9].

Хотя шигеллы Флекснера являются важной составляющей эпидемий инфекционной диареи во всем мире, коммерческого вакцинного препарата против дизентерии Флекснера пока не разработано. Полисахаридным антигеном микроорганизма *S. flexneri* является липополисахарид (ЛПС), который локализован на внешней поверхности бактериальной клетки и является главным протективным антигеном шигелл [10]. При введении в макроорганизм ЛПС индуцирует высокий уровень специфических иммуноглобулинов, а также синтез провоспалительных цитокинов, фактора некроза

опухоли-α (ФНО-α) и интерферона-γ (ИФН-γ), т.е. является мощным бактериальным иммуностимулятором [11].

Одним из подходов к снижению уровня токсичности и пирогенности является контролируемая детоксикация ЛПС *S. flexneri* [12]. Нами была разработана кандидатная вакцина против заболеваний, связанных с шигеллами Флекснера серотипов 1b, 2a, 3a, 6, Y, – Флексвак<sup>®</sup>. Доклинические исследования кандидатной вакцины на лабораторных животных свидетельствовали о том, что препарат апиrogenен, безопасен, обладает выраженной иммуногенной активностью [13].

**Целью** данного исследования было изучить безопасность и иммуногенность вакцины Флексвак<sup>®</sup> с участием добровольцев в возрасте от 18 до 55 лет.

## Материалы и методы

### Вакцина

Активными компонентами вакцины Флексвак<sup>®</sup> являются модифицированные ЛПС *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, полученные методом контролируемой химической детоксикации [14].

### Дизайн исследования и участники

Нами была проведена I фаза рандомизированного слепого исследования в Федеральном государственном учреждении здравоохранения «Центральная медико-санитарная часть №8 Федерального медико-биологического агентства России» (разрешение №432 от 14.10.2009). В исследовании приняли участие добровольцы (мужчины и женщины) в возрасте от 18 до 55 лет. Помимо основных критериев включения, подтверждающих хорошее физическое состояние добровольцев, проверяли также отсутствие в анамнезе и при лабораторном исследовании дизентерии Флекснера.



Рис. 1. Схема подкожной вакцинации и отбора проб.  
Fig. 1. Scheme of subcutaneous vaccination and sampling.

### Рандомизация добровольцев и ослепление образцов для исследований

Всего в исследование были включены 25 добровольцев (включая скрининг). Распределение по группам проводилось случайным образом независимо от возраста и пола (рис. 1). Полученные от добровольцев биоматериалы были зашифрованы для исследователя.

День 0 – забор венозной крови до иммунизации – скрининг 30 человек (общий анализ крови, биохимический анализ крови, определение уровня фоновых антител к ЛПС-антигенам *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y).

День 1 – забор венозной крови через 2, 4, 6 ч после первой иммунизации (цитокиновый профиль), через 6 ч после первой иммунизации – общий анализ крови, биохимический анализ крови.

День 21 – забор венозной крови через 21 день после первой иммунизации (общий анализ крови, биохимический анализ крови, специфический иммунный ответ к ЛПС-антигенам *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y).

День 51 – забор венозной крови через 30 дней после второй иммунизации (специфический иммунный ответ к ЛПС-антигенам *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y).

### Безопасность и переносимость вакцины Флексвак®

После проведения вакцинации добровольцы находились под наблюдением врача на протяжении 5 дней. В первые сутки наблюдения они трижды, с интервалом 2 ч, проходили медицинское обследование. Любые выявленные нежелательные явления (НЯ) и серьезные нежелательные явления (СНЯ) записывались.

НЯ оценивали как общие и местные реакции организма. В структуре общих реакций подлежали учету температура тела, повышение артериального давления, учащение пульса, недомогание, головная боль, тошнота, рвота, жидкий стул, его кратность и консистенция, боль в животе и другие симптомы, а также клинические, биохимические анализы крови и цитокиновый профиль. Для оценки цитокинового профиля у добровольцев брали образец венозной крови через 2, 4 и 6 ч после первой иммунизации. Образцы крови для общего и биохимического анализов крови брали до вакцинации, через 6 ч после первой вакцинации и через 21 день после первой вакцинации. Из проявлений местной реакции учитывали болезненность, покраснение и припухлость в месте введения препаратов, возникновение инфильтратов и увеличение регионарных лимфоузлов. Также подлежали учету НЯ, не связанные с применением вакцины Флексвак®.

Любое неблагоприятное медицинское событие, которое вне зависимости от дозы лекарственного продукта привело к смерти, представляет собой угрозу для жизни, требует госпитализации или ее продления, привело к стойкой или значительной нетрудоспособности или инвалидности или представляет собой врожденную аномалию или дефект рождения, обозначали как СНЯ.

### Оценка иммуногенности

Иммунный ответ на вакцинацию измеряли в образцах сыворотки добровольцев до вакцинации, через 21 день после первой вакцинации и через 30 дней после повторной вакцинации (рис. 1). Специфические антитела классов А, G,

М к шигеллам Флекснера 1b, 2a, 3a, 6, Y измеряли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) описанным ранее [13].

### Анализ данных

Иммуногенность вакцины оценивали по фактору сероконверсии (отношение среднего значения титра Ig после вакцинации к титру до вакцинации) и проценту добровольцев с более чем или равными 2- и 4-кратными приростами специфических антител.

## Результаты исследования

### Рандомизация

Всего в исследование были включены 25 добровольцев в возрасте от 18 до 45 лет, случайным образом распределенные на 2 группы. В первые сутки наблюдения они трижды, с интервалом 2 ч, проходили медицинское обследование.

### Безопасность и переносимость

Из местных постпрививочных реакций на вакцинацию у двух добровольцев, привитых вакциной Флексвак® 125 мкг, была зарегистрирована незначительная гиперемия в месте

Таблица 1. Местные реакции на введение вакцины Флексвак®  
Table 1. Local reactions to the administration of the Flexvac® vaccine

Состояние привитых / The condition of the vaccinated	Вакцина Флексвак® (25 человек) / Vaccine Flexvac® (25 people)
Болезненность / Pain	0 (0%)*
Покраснение / Redness	2 (8%)
Инфильтраты / Infiltrates	0 (0%)
Увеличение регионарных лимфатических узлов / Enlargement of regional lymph nodes	0 (0%)

\* в таблице приведено количество привитых, в скобках – процент от общего числа привитых.

\* the table shows the number of vaccinated, in brackets – the percentage of the total number of vaccinated.

Таблица 2. Общие реакции организма на введение вакцины Флексвак®  
Table 2. General reactions of the body to the administration of the Flexvac® vaccine

Состояние привитых / The condition of the vaccinated	Вакцина Флексвак® (25 человек) / Vaccine Flexvac® (25 people)
Повышение температуры >37,1°C / Temperature increase over 37.1°C	0 (%)*
Повышение артериального давления >140/100 мм рт. ст. / Increase in blood pressure over 140/100 mmHg	0 (%)
Ускорение пульса >90/мин / Pulse rate increases to more than 90 beats per minute	0 (%)
Тошнота / Nausea	0 (%)
Понос / Diarrhea	0 (%)
Головная боль / Headache	0 (%)
Боль в животе / Abdominal pain	0 (%)

\* в таблице приведено количество привитых, в скобках – процент от общего числа привитых.

\* the table shows the number of vaccinated, in brackets – the percentage of the total number of vaccinated.

Таблица 3. Цитокиновый профиль у добровольцев, привитых вакциной Флексвак®  
Table 3. Cytokine profile in volunteers vaccinated with Flexvac® vaccine

Название препарата / Drug	Доза вакцины Флексвак® / Dose of Flexvac® vaccine	
	125 мкг (n = 13)	62,5 мкг (n = 12)
ФНО-α, пг/мл / TNF-α, pg/ml		
0 ч	11,2 ± 2,7	12,7 ± 2,2
2 ч	17,9 ± 5,4	17,7 ± 3,2
4 ч	13,5 ± 5,7	13,5 ± 0
6 ч	11,8 ± 0	19,9 ± 2,3
ИЛ-1β, пг/мл / IL-1β, pg/ml		
0 ч	0,005 ± 0,01	0
2 ч	0	0
4 ч	1,5 ± 0,8	0
6 ч	0	0
ИЛ-6, пг/мл / IL-6, pg/ml		
0 ч	1,3 ± 1,2	1,2 ± 0,8
2 ч	1,9 ± 2,4	0,7 ± 0,7
4 ч	6,1 ± 2,9	1,8 ± 1,1
6 ч	2,6 ± 0	2,8 ± 1,9
ИЛ-12, пг/мл / IL-12, pg/ml		
0 ч	110,4 ± 28,3	56,8 ± 30,4
2 ч	96,9 ± 25,8	49,9 ± 27,1
4 ч	138,4 ± 39,3	95,4 ± 34,5
6 ч	136,1 ± 0	63,6 ± 29,6
ИФН-γ, пг/мл / IFN-γ, pg/ml		
0 ч	2,3 ± 0,8	1,7 ± 1,1
2 ч	4,4 ± 0,7	3,1 ± 0,7
4 ч	3,7 ± 0,3	2,3 ± 0
6 ч	1,7 ± 0	3,1 ± 0,5
Кортизол, нмоль/л (норма 171–536 нмоль/л) / Cortisol, nmol/l (normal 171–536 nmol/l)		
0 ч	400,7 ± 129,8	367,2 ± 239,1
2 ч	411,2 ± 173,4	428,4 ± 106,8
4 ч	457,8 ± 81,8	234,2 ± 167,1
6 ч	192,7 ± 0	222 ± 156,7

введения препарата в верхней трети плеча в течение 2 ч после инъекции. Болезненности, покраснения, образования инфильтратов, увеличения регионарных лимфоузлов выявлено не было за весь период наблюдения ни у одного из наблюдаемых лиц (табл. 1).

Общее самочувствие добровольцев после вакцинации – без изменений. Жалоб на недомогание, головную боль, тошноту, рвоту, боль в животе не предъявляли. По данным инструментальных методов исследования отрицательной динамики не выявлено (табл. 2).

#### Продукция провоспалительных цитокинов

При изучении цитокинового статуса у добровольцев брали кровь из вены до введения исследуемого препарата Флексвак® (0 ч) и через 2, 4 и 6 ч после введения. Как видно из табл. 3, уровень провоспалительных цитокинов существенно не возрастает. Достигая пика, концентрация цитокинов не превышает базовый уровень (0 ч). Максимально концентрация ФНО-α, ИФН-γ возрастает через 2 ч, а интерлейкина-6 (ИЛ-6) и ИЛ-12 – через 4 ч после введения исследуемых препаратов, за исключением группы, иммунизированной 62,5 мкг, в этом случае пик ФНО-α и ИЛ-6 приходится на 6 ч после вакцинации. Концентрация ИЛ-1β практически не меняется (табл. 3).

Кровь для проведения общего и биохимического анализов брали у добровольцев до вакцинации, через 6 ч и через 21 сутки после вакцинации. Как видно по данным, представленным в табл. 4, 5, отклонений от норм биохимических и общих показателей крови не зарегистрировано.

При введении препарата Флексвак® в исследуемых дозах за весь 60-дневный период наблюдения СНЯ не зарегистрировано.

#### Иммуногенность

Иммуногенность вакцины Флексвак® оценивали как увеличение концентрации О-специфических анти-S. flexneri-антител в сыворотках крови добровольцев. Уровни антител определяли с использованием парных порций сывороток добровольцев, полученной от всех привитых до иммунизации, через 21 день после первичной иммунизации и через 30 дней после повторной иммунизации в тех же дозах. Вторичная иммунизация происходила через 21 день после первичной.

Фактор сероконверсии (ФС) IgA, специфичных к ЛПС S. flexneri 1b, у добровольцев, иммунизированных 62,5 мкг препарата Флексвак®, на 21-й день после первой иммунизации составил 4,2; специфичных к ЛПС S. flexneri 2a – 4,2; к S. flexneri 3a и 6 – по 2,4; к S. flexneri Y – 3,3. ФС IgG, специ-

Таблица 4. Биохимическое исследование крови у добровольцев, привитых вакциной Флексвак®  
Table 4. Biochemical blood test in volunteers vaccinated with the Flexvac® vaccine

Показатели / Indicators	До вакцинации / Before vaccination	Через 6 ч / After 6 h	21 сутки / 21 days	Норма / Norm
АЛТ, Ед/л / ALT, U/L	21 ± 12	29 ± 17	17 ± 14	5–40
АСТ, Ед/л / AST, U/L	24 ± 14	31 ± 16	19 ± 12	5–40
Креатинин, мкмоль/л / Creatinine, μmol/L	108 ± 22	119 ± 20	113 ± 17	70–130
Мочевина, моль/л / Urea, mol/L	4,6 ± 3,1	4,7 ± 4,1	3,9 ± 2,8	3,38–8,32
Мочевая кислота, мкмоль/л / Uric acid, μmol/L	325 ± 128	340 ± 142	290 ± 118	240–500
Глюкоза, моль/л / Glucose, mol/L	4,6 ± 3,5	5,1 ± 4,2	4,1 ± 3,8	3,5–6,1

АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза.

Таблица 5. **Общий анализ крови у добровольцев, привитых вакциной Флексвак®**  
 Table 5. **Complete blood count in volunteers vaccinated with Flexvac® vaccine**

Показатели / Indicators	До вакцинации / Before vaccination	Через 6 ч / After 6 h	21 сутки / 21 days	Норма / Norm
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ / Erythrocytes, $\times 10^{12}/l$	5,0 $\pm$ 0,6	4,9 $\pm$ 0,4	4,7 $\pm$ 0,7	4,5–5,0
Гемоглобин, г/л / Hemoglobin, g/l	159 $\pm$ 24	154 $\pm$ 28	142 $\pm$ 33	13–160
Цветовой показатель / Color index	0,97 $\pm$ 0,05	0,96 $\pm$ 0,06	0,96 $\pm$ 0,06	0,9–1,1
Лейкоциты, $\times 10^9/л$ / Leukocytes, $\times 10^9/l$	5,6 $\pm$ 1,2	5,8 $\pm$ 1,4	9,0 $\pm$ 3,2	4,5–9,5
Сегментоядерные нейтрофилы, % / Segmented neutrophils, %	69 $\pm$ 11	71 $\pm$ 3	70 $\pm$ 5	50–72
Лимфоциты, % / Lymphocytes, %	26 $\pm$ 14	23 $\pm$ 15	25 $\pm$ 17	18–38
Моноциты, % / Monocytes, %	5 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	7 $\pm$ 2	2–10
СОЭ, мм/ч / ESR, mm/h	4 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2	1–5

СОЭ – скорость оседания эритроцитов.

фичных к *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, составил 4; 4,2; 2,2; 2,5; 5,7 соответственно. ФС IgM, специфичных к *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, составил 2; 2; 1,7; 2; 1,5 соответственно. Существенной разницы в количестве антител между группами, иммунизированными 62,5 мкг и 125 мкг, не выявлено. Повторная иммунизация также не привела к увеличению титра специфических антител (рис. 2).

Через 21 день после первичной иммунизации 62,5 мкг препарата Флексвак® сероконверсия  $\geq 4$  IgA, специфичных к *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, была выявлена у 67, 75, 42, 42 и 50% добровольцев соответственно. Сероконверсия  $\geq 4$  IgG, специфичных к *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y, выявлена у 58, 58, 42, 33, 33%; сероконверсия  $\geq 4$  IgM – у 25, 33, 8, 0, 8% добровольцев соответственно. С повышением дозы и кратности иммунизации существенных отличий в сероконверсии специфичных к ЛПС *S. flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y антител у добровольцев не выявлено (табл. 6).

### Обсуждение

В настоящее время в мире нет зарегистрированных вакцин против дизентерии Флекснера. Разработка вакцин затруднена по причине отсутствия доступной модели заболевания на животных, ограниченного понимания механизмов защиты или отсутствия коммерческого интереса. Тем не менее активно изучаются многочисленные стратегии получения дизентерийных вакцин, включая живые ослабленные пероральные, убитые пероральные и субъединичные парентеральные вакцины [15, 16]. Важность разработки шигеллезной вакцины регулярно подчеркивает Всемирная организация здравоохранения [17].

В ходе клинического исследования вакцины Флексвак® в дозах 62,5 мкг и 125 мкг нами не было зарегистрировано СНЯ и других значимых НЯ, которые были расценены как имеющие особый интерес вследствие их клинической значимости. В общей сложности в период исследования было зарегистрировано 2 НЯ (у 2 из 30 добровольцев). Не было выявлено отклонений от норм в общем и биохимическом анализе крови, а также при оценке цитокинового профиля при введении исследуемых доз 62,5 мкг и 125 мкг препарата Флексвак® за весь 21-дневный период наблюдения.

Следует отметить, что в ходе клинических исследований у одного из успешных вакцинных кандидатов против шигеллеза – 4-компонентной везикулярной GMMA-вакцины

(Generalized Modules for Membrane Antigens), содержащей OMV-частицы (outer membrane vesicles), включающие в состав генетически детоксифицированный ЛПС *S. flexneri*, уже на дозе 100 мкг при интраназальной иммунизации у каждого шестого добровольца была зафиксирована нейтропения и еще чаще ринорея [18, 19]. В рамках исследований I фазы

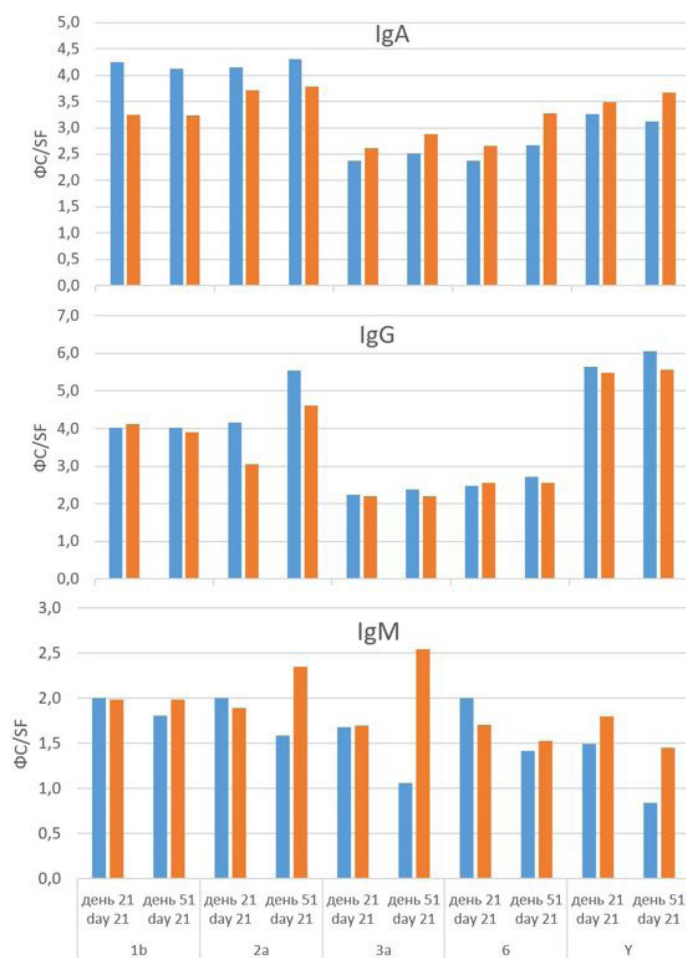


Рис. 2. **Фактор сероконверсии специфических IgA, IgG, IgM в сыворотке крови добровольцев на 21-й и 51-й день (30 дней после повторной) иммунизации препаратом Флексвак® в дозах:** ■ – 62,5 мкг, ■ – 125 мкг. **ФС** – фактор сероконверсии.

**Fig. 2. Seroconversion factor of specific IgA, IgG, IgM in the blood serum of volunteers on days 21 and 51 (30 days after repeated) immunization, immunized with the drug Flexvac® in doses:** ■ – 62.5 mcg, ■ – 125 mcg. **SF** – seroconversion factor.

Таблица 6. Процент добровольцев, иммунизированных вакциной Флексвак®, с ≥2- и ≥4-кратными приростами специфических антител на 21-й день после первичной иммунизации и на 51-й день (30 дней после повторной иммунизации)

Table 6. Percentage of volunteers immunized with Flexvac® vaccine with ≥2- and ≥4-fold increases in specific antibodies at 21 days post-primary immunization and at 51 days (30 days post-boost)

		62,5 мкг (n = 12)				125 мкг (n = 13)			
		21-й день / day 21		51-й день / day 51		21-й день / day 21		51-й день / day 51	
		≥2 (%)	≥4 (%)	≥2 (%)	≥4 (%)	≥2 (%)	≥4 (%)	≥2 (%)	≥4 (%)
1b	IgA	75	67	75	58	77	54	85	54
	IgG	75	58	75	58	92	54	92	54
	IgM	67	25	42	17	69	38	69	46
2a	IgA	92	75	92	67	77	54	77	61,5
	IgG	75	58	100	75	85	69	92	77
	IgM	50	33	50	25	61,5	31	69	46
3a	IgA	67	42	75	42	77	54	77	61,5
	IgG	67	42	75	42	100	69	100	69
	IgM	67	8	17	0	69	23	69	23
6	IgA	75	42	83	58	92	54	77	46
	IgG	67	33	75	42	85	54	100	69
	IgM	50	0	42	25	54	15	31	15
Y	IgA	83	50	75	50	92	38	69	54
	IgG	67	33	83	42	100	54	100	61,5
	IgM	58	8	58	0	69	15	54	23

GMMA-вакцины отмечены подъемы температуры до 38°C у 6,9% привитых, головные боли, а также боли в месте введения вакцины, в т.ч. высокой интенсивности [20].

ЛПС *S. flexneri* является одним из самых эндотоксичных ЛПС энтеробактерий. Его генетическая детоксикация посредством введения мутаций генов поздних ацетилтрансфераз (*msbB*, *htrB*) не может быть признана удовлетворительной.

Получаемые рекомбинантные штаммы-продуценты шигелл в значительных количествах синтезируют достаточно эндотоксичные пента- и тетра-ацильные формы ЛПС [21]. В вакцине Флексвак® используются три-ацильные формы, обладающие низкой эндотоксичностью, что позволяет вакцине иметь высокий уровень безопасности без снижения иммуногенности.

Иммунизация вакциной приводила к запуску О-специфического протективного гуморального иммунного ответа, высокой сероконверсии специфических антител IgA и IgG. Особо следует отметить выраженную индукцию у привитых анти-О антител класса IgA, играющих ключевую роль в протективном иммунитете против дизентерии.

Отсутствие выраженного вторичного иммунного ответа и низкие титры антител IgM являются следствием предсуществующего иммунного ответа к мажорному антигену шигелл. Вторичный иммунный ответ также не зарегистрирован у добровольцев при иммунизации антигенами 4-компонентной везикулярной GMMA-вакцины [20].

Отдельный интерес представляют данные по сравнительной иммуногенности для человека антигенов вакцины в за-

висимости от серотипа О-антигена молекулы модифицированного ЛПС. Хотя все антигены вакцины являются иммуногенными, иммунный ответ (особенно IgA) на серотипы О-антигенов *S. flexneri* 1b, 2a, Y является более высоким, чем на серотипы 3a, 6. По-видимому, это связано с особенностями структуры О-антигенных детерминант 3a, 6. Однако иммунный ответ добровольцев к 1b антигену 4-компонентной везикулярной GMMA-вакцины является низким, и различия в иммуногенности по сравнению с серотипом 2a являются существенными. Это свидетельствует о неэффективной форме представления антигена. Авторы предполагают возможный запуск механизмов интерференции антигенов (межмолекулярной антигенной конкуренции) вследствие использования общего везикулярного носителя OMV [20].

Таким образом, использование три-ацильной формы ЛПС как базового антигена вакцины позволяет получать безопасные и иммунологически активные вакцинные антигены вне зависимости от серотипического варианта шигеллы Флекснера.

#### Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

#### Financial support

No financial support has been provided for this work.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

#### Литература / References

- Kotloff KL, Platts-Mills JA, Nasrin D, Roose A, Blackwelder WC, Levine MM. Global burden of diarrheal diseases among children in developing countries: Incidence, etiology, and insights from new molecular diagnostic techniques. *Vaccine*. 2017 Dec 14;35(49 Pt A):6783-6789. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.07.036
- Shah N, DuPont HL, Ramsey DJ. Global etiology of travelers' diarrhea: systematic review from 1973 to the present. *Am J Trop Med Hyg*. 2009 Apr;80(4):609-14.
- Porter CK, Olson S, Hall A, Riddle MS. Travelers' Diarrhea: An Update on the Incidence, Etiology, and Risk in Military Deployments and Similar Travel Populations. *Mil Med*. 2017 Sep;182(S2):4-10. DOI: 10.7205/MILMED-D-17-00064
- Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, Clemens JD, Swerdlow DL, Sansonetti PJ, Adak GK, Levine MM. Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull World Health Organ*. 1999;77(8):651-66.
- Porter CK, Thura N, Ranallo RT, Riddle MS. The *Shigella* human challenge model. *Epidemiol Infect*. 2013;141(2):223-32.
- GBD Diarrhoeal Diseases Collaborators. Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis*. 2017 Sep;17(9):909-948. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30276-1
- Kotloff KL, Riddle MS, Platts-Mills JA, Pavlinac P, Zaidi AKM. Shigellosis. *Lancet*. 2018 Feb 24;391(10122):801-812. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33296-8
- Jonas MC, Etienne N, Tarcisse BN, Rachel M, Jolivet MML, Faly SMA, et al. Antibiotic Resistance Profile of Pathogenic Bacteria Isolated from "Mabokes" Smothered Fish in Brazzaville, Congo. *J Biosci Med*. 2020;08(08):138-48.
- Fazul'zyanova AI, Tkacheva SV, Sagitova AS, Rakhmanova OA. Antibiotic resistance of prevalent *Salmonella* and *Shigella* strains. *Pract Med*. 2020;18(4):88-90.

10. Wahid R, Simon JK, Picking WL, Kotloff KL, Levine MM, Sztein MB. *Shigella* antigen-specific B memory cells are associated with decreased disease severity in subjects challenged with wild-type *Shigella flexneri* 2a. *Clin Immunol*. 2013 Jul;148(1):35-43. DOI: 10.1016/j.clim.2013.03.009
11. Jerala R. Structural biology of the LPS recognition. *Int J Med Microbiol*. 2007 Sep;297(5):353-63. DOI: 10.1016/j.ijmm.2007.04.001
12. Ledov VA, Golovina ME, Markina AA, Knirel YA, L'vov VL, Kovalchuk AL, et al. Highly homogenous tri-acylated S-LPS acts as a novel clinically applicable vaccine against *Shigella flexneri* 2a infection. *Vaccine*. 2019 Feb 14;37(8):1062-1072. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.12.067
13. Ledov VA, Golovina ME, Alkhazova BI, Lvov VL, Kovalchuk AL, Aparin PG. A Pentavalent *Shigella flexneri* LPS-Based Vaccine Candidate Is Safe and Immunogenic in Animal Models. *Vaccines (Basel)*. 2023 Feb 3;11(2):345. DOI: 10.3390/vaccines11020345
14. Ledov VA, Golovina ME, Markina AA, Knirel YA, L'vov VL, Kovalchuk AL, et al. Highly homogenous tri-acylated S-LPS acts as a novel clinically applicable vaccine against *Shigella flexneri* 2a infection. *Vaccine*. 2019 Feb 14;37(8):1062-1072. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.12.067
15. Barry EM, Pasetti MF, Sztein MB, Fasano A, Kotloff KL, Levine MM. Progress and pitfalls in *Shigella* vaccine research. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013 Apr;10(4):245-55. DOI: 10.1038/nrgastro.2013.12
16. Mani S, Wierzbica T, Walker RI. Status of vaccine research and development for *Shigella*. *Vaccine*. 2016 Jun 3;34(26):2887-2894. DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.02.075
17. Product WHO, For C. Vaccines against *Shigella*.
18. Micoli F, Nakakana UN, Berlanda Scorza F. Towards a Four-Component GMMA-Based Vaccine against *Shigella*. *Vaccines (Basel)*. 2022 Feb 18;10(2):328. DOI: 10.3390/vaccines10020328
19. Muturi-Kioi V, Lewis D, Launay O, Leroux-Roels G, Anemona A, Loulergue P, et al. Neutropenia as an Adverse Event following Vaccination: Results from Randomized Clinical Trials in Healthy Adults and Systematic Review. *PLoS One*. 2016 Aug 4;11(8):e0157385. DOI: 10.1371/journal.pone.0157385
20. Leroux-Roels I, Maes C, Mancini F, Jacobs B, Sarakinou E, Alhatemi A, et al.; *Shigella* Project Team. Safety and Immunogenicity of a 4-Component Generalized Modules for Membrane Antigens *Shigella* Vaccine in Healthy European Adults: Randomized, Phase 1/2 Study. *J Infect Dis*. 2024 Oct 16;230(4):e971-e984. DOI: 10.1093/infdis/jiae273
21. Rossi O, Pesce I, Giannelli C, Aprea S, Caboni M, Citiulo F, et al. Modulation of endotoxicity of *Shigella* Generalized Modules for Membrane Antigens (GMMA) by genetic lipid A modifications: Relative activation of TLR4 and TLR2 pathways in different mutants. *J Biol Chem*. 2014 Sep 5;289(36):24922-35. DOI: 10.1074/jbc.M114.566570

**Информация о соавторах:**

Головина Марина Эдуардовна, кандидат биологических наук, исполнительный директор ООО «ГРИТВАК»

Алхазова Биана Игоревна, оператор, ООО «ГРИТВАК»

Анкудинов Игорь Веналиевич, кандидат биологических наук, главный бухгалтер ООО «ГРИТВАК»

Стряхнин Пётр Алексеевич, химик-оператор, ООО «ГРИТВАК»

Ковальчук Александр Леонидович, кандидат медицинских наук, главный научный сотрудник ООО «НПФ "МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ"»

Апарин Пётр Геннадьевич, доктор медицинских наук, генеральный директор ООО «ГРИТВАК»

**Information about co-authors:**

Marina E. Golovina, PhD in Biological Sciences, executive director, GRITVAK LLC

Biana I. Alkhazova, operator, GRITVAK LLC

Igor V. Ankudinov, PhD in Biological Sciences, chief accountant, GRITVAK LLC

Petr A. Stryakhnin, chemist-operator, GRITVAK LLC

Alexander L. Kovalchuk, MD, PhD, Chief Researcher, NPF MATERIA MEDICA HOLDING LLC

Petr G. Aparin, MD, PhD, DSc, General Director, GRITVAK LLC

**НОВОСТИ НАУКИ****Искусственный интеллект точно отображает метаболизм клеток**

Омиксные технологии представляют собой изысканный комплекс самых современных научных средств, вобравший в себя геномику, транскриптомику, протеомику и метаболомику. Благодаря выдающимся достижениям в биологии, молекулярной генетике и биоинформатике, эти технологии открыли новые горизонты для изучения организмов на различных уровнях, начиная с глубинного – уровня ДНК. Теперь возможно выявлять мутации в ДНК, исследовать их влияние на экспрессию генов и продукцию белков, а также анализировать взаимодействие этих белков в дальнейшем.

Создание обширных наборов данных омики стало повседневной практикой для получения информации о клеточных процессах, однако расшифровка этих данных с целью определения метаболических состояний по-прежнему представляет собой сложное испытание. Кинетические модели могут интегрировать данные омики, связывая концентрации метаболитов, метаболические потоки и уровни ферментов. Тем не менее, определение кинетических параметров, определяющих клеточную физиологию, создает значительные барьеры для применения этих математических моделей. В этом контексте предлагается структура RENAISSANCE – генеративная модель машинного обучения, оптимизирующая параметризацию крупномасштабных кинетических моделей с динамическими свойствами, отражающими экспериментальные данные. Благодаря безупречной интеграции информации из различных источников, включая состав внеклеточной среды и опыт специалистов, RENAISSANCE точно фиксирует метаболические состояния в *Escherichia coli*, уменьшая неопределенность параметров и повышая точность, что будет крайне полезно в области здравоохранения и биотехнологии.

Choudhury S, Narayanan B, Moret M, Hatzimanikatis V, Miskovic L.

Generative machine learning produces kinetic models that accurately characterize intracellular metabolic states.

Nat Catal. 2024;7(10):1086-1098. DOI: 10.1038/s41929-024-01220-6