

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-6-137-146>

Пептидные и м-РНК вакцины: особенности иммуногенности и иммунопротективности

Т. Ф. Степанова¹, О. Е. Троценко², И. В. Бакштановская¹,
Е. А. Базыкина^{*2}, К. Б. Степанова¹

¹ФБУН «Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора,
г. Тюмень

²ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора,
г. Хабаровск

Резюме

Актуальность. Современные вызовы здравоохранению заключаются в риске формирования пандемических вариантов возбудителей и требуют переосмысления классических подходов к профилактике инфекционных заболеваний, в частности, внедрения эффективных, безопасных, универсальных и быстрых методов производства вакцинных препаратов. **Цель.** Провести анализ научной литературы об особенностях м-РНК и пептидных вакцинных препаратов. Поиск публикаций проводился в базах данных PubMed, Google Scholar и e-library. **Выводы.** Оба варианта платформ для разработки вакцинных препаратов, помимо очевидных преимуществ, имеют и недостатки. Для м-РНК вакцин наиболее существенными ограничениями являются ее нестабильность и необходимость хранения и транспортировки при температуре не выше минус 80 °С, что существенно снижает их доступность странам с ограниченными экономическими возможностями. Несмотря на это, в период пандемии COVID-19 именно м-РНК стала платформой для создания западными странами (США и Германия) вакцин против SARS-CoV-2. Наиболее активно развивающиеся направления в разработке м-РНК вакцин против инфекционных заболеваний, кроме COVID-19 стали: вакцины против гриппа, респираторно-синцитиального вируса, бешенства, малярии, ВИЧ, вируса Эбола, вируса Зика и цитомегаловируса. Пептидные вакцины, несмотря на удобство транспортировки, нуждаются в усилении иммуногенности различными адъювантами, а также довольно затруднительны в производстве из-за сложности формирования четвертичной структуры белковых эпитопов антигена возбудителя. До настоящего времени первую и вторую стадию клинических испытаний прошли зарубежные пептидные вакцины против следующих возбудителей: гриппа, ВИЧ-инфекции, гепатита С, туберкулеза, малярии, лейшманиоза. Как мРНК, так и пептидные вакцины в организме человека подвергаются быстрому разрушению, что побуждает разработчиков осваивать новые молекулярные методы доставки матрицы вакцины в клетки-мишени.

Ключевые слова: м-РНК вакцины, пептидные вакцины, разработка, испытания, иммуногенность, иммунопротективность, обзор

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Степанова Т. Ф., Троценко О. Е., Бакштановская И. В. и др. Пептидные и м-РНК вакцины: особенности иммуногенности и иммунопротективности. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2024;23(6):137-146. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-6-137-146>

Peptide and m-RNA Vaccines: Peculiarities of Immunogenicity and Protective Effect

TF Stepanova¹, OE Trotsenko², IV Bakshtankvskaya¹, EA Bazykina^{*2}, KB Stepanova¹

¹Tumen scientific research institute of regional infectious pathology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing, Tumen, Russia

²Khabarovsk scientific research institute of epidemiology and microbiology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing, Khabarovsk, Russia

Abstract

Relevance. Pandemic pathogen variants formation is a pressing issue of modern healthcare system thus classic approaches of preventive measures against infectious diseases require revision including implementation of effective, safe, universal and rapid methods of vaccine production. **Aim.** To conduct analysis of scientific literature concerning peculiarities of m-RNA and peptide vaccines. Search of publications was carried out in PubMed, Google Scholar and e-library databases. **Conclusions.** In addition to obvious advantages both vaccine platforms have disadvantages. m-RNA vaccines are thermally unstable and need to be stored and

* Для переписки: Базыкина Елена Анатольевна, младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД, ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, 680000, Россия, г. Хабаровск, ул. Шевченко 2. +7 (4212) 46-18-55, alyonaf@yandex.ru. Степанова Т. Ф. и др.

** For correspondence: Bazykina Elena A., junior research associate of laboratory of viral hepatitis and AIDS epidemiology and prevention, FBUN Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of the Federal ospotrebnadzor, 2, Shevchenko str., Khabarovsk, 680000, Russia. +7 (4212) 46-18-55, alyonaf@yandex.ru. ©Stepanova TF, et al.

transported at temperature not exceeding minus 80 °C which significantly reduces their availability in countries with low income. m-RNA vaccine platform was chosen to manufacture vaccines against SARS-CoV-2 in Western countries (USA and Germany) during the COVID-19 pandemic despite the mentioned disadvantage. Most perspective mRNA vaccine prototypes vaccine were designed to combat influenza, respiratory syncytial virus, rabies, malaria, HIV, Ebola virus, Zika virus and cytomegalovirus. Peptide vaccines are undemanding to external factors such as temperature of storage and transportation. On the other hand, they need to be more immunogenic which is achieved by adding various adjuvants. They are also challenging to manufacture due complexity of quaternary structure of protein epitopes of antigens. To date, foreign peptide vaccines against influenza, HIV infection, hepatitis C, tuberculosis, malaria, and leishmaniasis have passed the first and second stages of clinical trials. Both mRNA and peptide vaccines undergo rapid degradation in human body, which prompts scientists to develop new molecular methods for delivering the vaccine matrix to target cells.

Keywords: m-RNA vaccines, peptide vaccines, development, tests, immunogenicity, protective effect, narrative review
No conflict of interest to declare.

For citation: Stepanova TF, Trotsenko OE, Bakshtankvskaya IV et al. Peptide and m-RNA vaccines: peculiarities of immunogenicity and protective effect. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(6):137-146 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-6-137-146>

Введение

Быстрый рост пострадавших во время вспышек инфекционных заболеваний выявил острую необходимость использования новых подходов в борьбе с ними и ускоренной разработки и внедрения вакцин против неизвестных ранее патогенов. Реальность спонтанного возникновения пандемий и вспышек потрясла мир в начале XXI века: тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС, 2002), грипп A(H1N1)/2009, ближневосточный респираторный синдром (БВРС, MERS, 2012), лихорадка Эбола (2013–2016 гг.), COVID-19, а также резкий рост заражения населения вирусами Денге, Чикунгунья и Зика. В результате указанных событий исследователями начата ускоренная разработка вакцин, но большинство из них еще находится в стадии клинических испытаний [1].

Стало очевидным, что в условиях эпидемических вспышек, возникающих в последнее время на фоне динамичного распространения патогенов среди населения, классические подходы к разработке иммунобиологических препаратов уже не всегда способны отвечать запросам. Так, живые аттенуированные вакцины несут риск реверсии, что опасно для работы с высокопатогенными инфекционными, в том числе неохарактеризованными, агентами. Сложность культивирования патогенов в условиях *in vitro* в связи с требованиями высокого уровня биобезопасности в специализированных лабораториях также ограничивает возможность их создания. Кроме того, более простые в разработке инактивированные вакцины могут не привести к формированию протективного иммунного ответа, как это произошло в случае с лихорадкой Эбола. Таким образом, при конструировании вакцин возникла необходимость в новых и универсальных подходах, не зависящих от культивирования всего патогена, а главными критериями при выборе платформы для синтеза современных иммунобиологических препаратов стали иммуногенность и иммунопротективность вакцин при условии скорости и экономичности производства [1,2].

Многообещающими кандидатами, отвечающими перечисленным запросам, являются мРНК и пептидные вакцины. Анализ современных научных публикаций показал преимущества этих вакцинных препаратов, заключающиеся в высокой скорости их разработки, в возможности реализации крупносерийного производства, в удобстве создания препаратов, включающих несколько антигенных детерминант разных геновариантов патогена, в способности активизировать как гуморальный, так и клеточный иммунитет. Немаловажным преимуществом является и возможность производить разные вакцины на оборудовании в рамках одного производственного процесса, а также использование технологий, исключающих накопление возбудителя [1,3–6].

Оценка иммуногенности и иммунопротективности вакцин

Основным из главных свойств вакцины является создание активного поствакцинального иммунитета, который по своему характеру и конечному эффекту соответствует постинфекционному, иногда отличаясь от него лишь количественно [7].

С точки зрения молекулярной и клеточной иммунологии вакцина должна удовлетворять следующим требованиям:

- активировать вспомогательные клетки (макрофаги, дендритные клетки, клетки Лангерганса), участвующие в процессинге и презентации антигена;
- содержать эпитопы для Т- и В-клеток, обеспечивающие необходимое соотношение гуморального и клеточного иммунитета;
- легко подвергаться процессированию, т.е. ее эпитопы должны обладать способностью взаимодействовать с антигенами гистосовместимости класса I и/или класса II;
- индуцировать образование регуляторных клеток (Т-хелперов), эффекторных клеток (киллеров, Т-эффекторов, антителообразующих клеток) и клеток иммунологической памяти.

Иммуногенность (способность вызывать Т- или В-клеточный антиген-специфический иммунный ответ) в доклинических испытаниях вакцины проверяют на лабораторных животных и выражают в дозах антигена, защищающих 50% иммунизированных животных, зараженных определенным числом инфицирующих доз патогенного микроба или токсина. Иммуногенность прямо пропорционально влияет на итоговую протективность вакцинного антигена, то есть способность обеспечить защиту животных от летальных доз инфекционного агента после вакцинации. Протективность определяется коэффициентом защиты – отношением числа заболеваний среди непривитых к числу заболевших среди привитых. Способность вакцины индуцировать защитный иммунитет является критерием ее эффективности [8]. Степень иммуногенности зависит от молекулярных особенностей вакцины, ее фармакокинетики в организме (дозы, кратности и интервала между прививками), реактивности макроорганизма (от соответствия антигена генетическим и фенотипическим особенностям организма).

Общие данные о мРНК-вакцинах

Вакцины, использующие для формирования иммунного ответа матричную РНК (мРНК), представляют собой новый класс вакцин, которые продемонстрировали высокую эффективность в доклинических и клинических исследованиях против различных инфекционных заболеваний, особенно во время пандемии COVID-19 [9,10].

мРНК, введенная в качестве вакцины, транслируется в клетках в специфический белок, стимулирующий иммунный ответ, и обладает значительными преимуществами, по сравнению с обычными методами, с точки зрения безопасности (живой вирус и адъювант не требуются), эффективности (экспрессия антигена *in situ* и имитация истинной инфекции, вызывающая, таким образом, как В-, так и Т-клеточный ответ) и высокой специфичности [11], а также относительной дешевизны и высокой скорости разработки и производства, в сравнении с другими вариантами вакцин. Эта технология чрезвычайно универсальна из-за простоты манипулирования антигенами и поддерживает доставку любого выбранного антигена. На ее основе возможна разработка различных вакцин с помощью унифицированных методов производства, очистки и проверки [9,12,13].

Вакцины на основе мРНК индуцируют врожденный иммунитет и приводят к генерации мощного специфического ответа, как гуморального, с высокими титрами долгоживущих антител, так и клеточного. Преимуществом мРНК вакцин считают также возможность хранения материала для изготовления вакцины в течение многих десятилетий для быстрого развертывания их производства и дальнейшей транспортировки [14].

Основными проблемами мРНК вакцин, ограничивающими их применение, являются нестабиль-

ность незащищенной РНК в физиологических условиях, а также необходимость создания мРНК, которая бы быстро расщеплялась внеклеточными РНКазами для снижения побочных реакций после вакцинации, но не разрушалась до момента формирования достаточного иммунного ответа. Для стабилизации (защиты от деградации) мРНК, облегчения ее захвата клетками было разработано множество реагентов (протамин, полисахаридные частицы, катионная наноэмульсия, катионный полимер, катионные липидные наночастицы, катионные липиды, объединенные с наночастицей холестерина, микс катионных липидов, холестерина и полиэтиленгликолевых наночастиц) для трансфекции, то есть процесса введения нуклеиновой кислоты в клетки эукариот невирусным методом, как *in vitro*, так и *in vivo*, которые [15–17].

Системы доставки вакцины в клетку могут функционировать как антиген-ассоциированные носители с регулируемым высвобождением, а также как рекрутеры иммунных клеток благодаря продуцированию провоспалительной реакции в месте инъекции, способствуя антиген-специфическому поглощению [18–20].

Одними из наиболее эффективных носителей мРНК признаны липидные наночастицы нового поколения, которые обеспечивают пролонгированную экспрессию антигена *in vivo*, способствуя формированию сильных гуморальных и клеточных иммунных реакций [18–20]. Текущие исследования направлены на повышение стабильности мРНК-вакцин и достижение различных уровней иммуногенности и экспрессии антигена, в том числе путем включения иммуноадъювантов, при этом крайне важно сбалансировать результирующие адъювантные эффекты и трансляционную активность для достижения оптимальных иммунных ответов [21,22].

Другим ограничением мРНК-вакцин является распознавание РНК врожденной иммунной системой с активацией интерферона I типа, способного вызвать остановку трансляции и быструю деградацию мРНК. Для повышения стабильности, эффективности трансляции и иммунного профиля мРНК разработано несколько методов, таких как оптимизация кодонов, модификация нуклеотидов и выбор эффективных процессов очистки [23].

Последним серьезным ограничением широкого применения мРНК-вакцин является необходимость их хранения при чрезвычайно низких температурах (-80 °C), в том числе во время транспортировки, что делает их логистически непрактичными, особенно для стран с низким уровнем дохода [9,10].

Существующие и разрабатываемые вакцины на базе мРНК, оценка их иммуногенности и иммунопротективности

Прогресс в технологиях разработки мРНК вакцин начался задолго до борьбы с пандемией COVID-19. Например, платформа м-РНК вакцин активно использовалась в разработке вакцин против

гриппа. Следует отметить, что в связи с высокой частотой мутаций вирусов гриппа состав вакцины необходимо постоянно адаптировать к последним циркулирующим штаммам, что оказалось сложно контролировать из-за длительного времени производства обычных вакцин. Однако выяснено, что использование технологии мРНК может способствовать либо улучшению дизайна антигена, либо разработке универсальной вакцины с перекрестной реакцией между различными вариантами вирусов гриппа, а также упрощению производства вакцины для более эффективного реагирования на сезонные подъемы заболеваемости и пандемии. Так, доклинические исследования мРНК-LNP-вакцины обнаружили выраженный защитный иммунитет на животных моделях против множества штаммов вируса гриппа. Часть мРНК вакцин против гриппа прошла клинические испытания, а вакцины-кандидаты Moderna (mRNA-1010) и Pfizer (qIRV) недавно вступили в 3 фазу клинических испытаний [14,24–28].

Анализ иммунореактивности вакцины LNP/mH1NA против вируса гриппа, проведенный на мышах, показал, что к 3 неделе после первичной вакцинации у всех вакцинированных мышей развился иммунный ответ, который превышал пороговый уровень защиты от инфекции (1:20) до третьей недели. После бустерной иммунизации на 3 неделе титр антител в группах мышей, вакцинированных LNP/mH1NA, значительно повысился в сравнении с контрольной группой, которой был введен 0,9% NaCl. Общий уровень IgG/IgG1/IgG2a в сыворотке в группе вакцинированных мышей был значительно выше, чем в сыворотке в контрольной группе грызунов и на пятой неделе. Таким образом, вакцина LNP/mH1NA может индуцировать мощный иммунный ответ, особенно после бустерной иммунизации. Для установления иммунопротективных свойств экспериментальной вакцины через две недели после бустерной иммунизации мышам была введена половина летальной дозы вируса гриппа H1N1 ($LD_{50} = 10-3,625/0,1$ мл). За животными было установлено наблюдение в течение двух недель (по шесть мышей в группе). Результаты показали, что иммунизация LNP/mH1NA защищала мышей от потери веса и смерти. Напротив, все мыши контрольной группы умерли в течение 12 дней после заражения [29].

В последние годы мРНК-вакцины продемонстрировали эффективность на животных моделях против инфекционных заболеваний, вызванных респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ) [30], вирусом бешенства [31,32], возбудителем малярии [33,34], ВИЧ [33–37], вирусом Эбола [38], вирусом Зика [39], цитомегаловирусом (ЦМВ) [40]. Причем мРНК-вакцина против ЦМВ-инфекции (mRNA-1647), разработанная Moderna, вошла в 3 фазу клинических испытаний [41].

Одна из экспериментальных вакцин против вируса Зика, разработанная на платформе модифи-

цированной мРНК, инкапсулированной в липидные наночастицы (ЛНЧ), показала высокую иммуногенность и иммунопротективность на животной модели (мышь). Две дозы модифицированных ЛНЧ мРНК, кодирующих гены prM-E, используемые для синтеза белков и сборки вирусоподобных частиц, приводили к формированию сильного иммунного ответа у всех вакцинированных грызунов. Для проверки иммунопротективности вакцины грызунам вводили дикий штамм вируса Зика, в результате чего ни один из инфицированных грызунов, получивших две дозы вакцины (в дозировках 2 и 10 мкг), не умер. В группе мышей с однократной вакцинацией выживаемость составила 60%, а в контрольной – 30% [42].

Попытки создать вакцины против ВИЧ-1 пока не оказались успешными. Так, вакцина, созданная на базе платформы мРНК против ВИЧ-1 (AGS-004), продемонстрировала нижеследующие результаты клинического исследования (фаза IIb; $n = 54$). На 8-й неделе после инъекции препарата произошло увеличение числа CD4+ лимфоцитов до уровня более 1000 клеток у 69% вакцинированных лиц, получивших 2 дозы AGS-004, а также произошел синтез антигенов Gag, Nef, Vpr и Rev и, соответственно, антител к ним, тогда как в контрольной группе только у 11% добровольцев, получивших плацебо. На 18-й и 26-й неделе в группе вакцинированных AGS-004 иммуногенность составила 83% и 92%, а в группе получивших плацебо – 25%. Однако в результате вакцинация не привела к формированию противовирусного эффекта, несмотря на индукцию ВИЧ-специфических эффекторных Т-клеток памяти CD8+ [43].

Отсутствие значимого эффекта мРНК-вакцины против ВИЧ-1 отмечено и в другом исследовании (идентификатор клинических испытаний NCT00833781), где после иммунизации не было выявлено различий в иммунном ответе между группой вакцинированных и плацебо-контролируемой группой [44]. Пролиферативный ответ CD4+ Т-лимфоцитов у вакцинированных увеличился в 2,4 раза ($p = 0,026$), а пролиферативный ответ CD8+ – в 2,5 раза после вакцинации, но отличия с контрольной группой не были значимыми ($p = 0,053$). Следует отметить, что среди реципиентов вакцины было зафиксировано увеличение пролиферативного ответа CD4+ Т-клеток на стимуляцию белками Gag ВИЧ-1, однако статистическая обработка результатов, полученных в группах не показала их значимых отличий (в 2,5 раза по сравнению с исходным уровнем и в 3,4 раза по сравнению с плацебо, $p = 0,054$) и Nef ВИЧ-1 (в 2,3 раза по сравнению с исходным уровнем и в 6,3 раза по сравнению с плацебо, $p = 0,009$), однако данные эффекты оказались кратковременными [44].

Проводятся исследования по созданию мРНК вакцины и против бешенства. Первая фаза клинических испытаний (иммуногенности) мРНК вакцины против бешенства среди людей показала, что через

7 дней от момента вакцинации, проводимой с помощью безыгольной внутрикожной или внутримышечной инъекции, был установлен защитный титр вируснейтрализующих антител у 32 из 45 участников (71,1%), которым внутрикожно вводился препарат CV7201 в дозировке 80 мкг или 160 мкг, и у 6 из 13 участников (46,1%), которым внутримышечно вводили дозы 200 мкг или 400 мкг. Через год только у 8 из 14 участников (57,1%), получивших 80 мкг CV7201 безыгольно внутрикожно, титр антител оставался на протективном уровне. Внутрикожное или внутримышечное введение шприцем оказалось недостаточно эффективным, протективный иммунитет зарегистрирован только у одного участника, получившего 320 мкг препарата внутрикожно [45]. Исследование на этапе первой фазы клинических испытаний на людях другой мРНК вакцины против бешенства (CV7202) показало более существенную иммуногенность, составившую 100% ($n = 55$) на 43 день после вакцинации [46].

Эффективной показала себя и экспериментальная мРНК вакцина от гриппа (H10 mRNA), иммуногенность которой в первой фазе клинических испытаний к 43 дню от момента вакцинации составила 87% ($n = 20$) [47].

На данный момент проходит вторая фаза испытаний вакцины против цитомегаловируса (Moderna), начавшаяся 18.06.2021 г., планируемая дата окончания – 30.12.2025 г. По сведениям компании Moderna, первая фаза клинических испытаний прошла успешно, однако точных данных об иммуногенности и иммунопротективности компания не приводит. Эффективность выработанных антител подтверждалась фактом нейтрализации ЦМВ после добавления сыворотки, полученной от вакцинированных участников исследования, при попытке инфицирования эпителиальных клеток и фибробластов *in vitro*. Также рассчитывалось увеличение уровня антител в сравнении с определенным до начала исследования у не вакцинированных участников.

В ходе исследования было установлено, что в группе ЦМВ-серонегативных лиц через 7 месяцев после проведенной вакцинации титры антител продолжали увеличиваться после третьей прививки. Титр нейтрализующих антител, предотвращающий заражение эпителиальных клеток вирусом, у вакцинированных двукратно в дозе 90 и 180 мкг увеличился в 3 или 5 раз соответственно. Трехкратное введение вакцины приводило более чем к 10-кратному увеличению уровня нейтрализующих антител в обеих группах, вакцинированных в дозе 90 и 180 мкг, в сравнении с титром, определенным до вакцинации. Уровень нейтрализующих антител, предотвращающий инфицирование фибробластов, увеличивался в 1,4 раза после трехкратного введения вакцины в дозировках 90 и 180 мкг, в сравнении с исходным.

В группе пациентов с наличием антител к ЦМВ, определенных до начала исследования, через 7 ме-

сяцев с момента вакцинации были получены следующие результаты: после второй прививки уровень нейтрализующих антител увеличился в 10–19 раз. Введение третьей дозы вакцины увеличивало титр нейтрализующих антител, предотвращающих инфицирование эпителиальных клеток *in vitro*, в 22–40 раз, в сравнении с уровнем антител до начала исследования. Титр нейтрализующих антител, предотвращающий инфицирование фибробластов, после второй вакцинации вырос в 2 и 4 раза, после третьей – в 4–6 раза в сравнении с исходным. Авторы работы утверждают, что полученные данные указывают на эффективность вакцинации как ЦМВ-серонегативных пациентов, так и тех, кто ранее был заражен вирусом [41].

Общие данные о пептидных вакцинах

Пептидные вакцины представляют собой иммунобиологические препараты, при введении которых иммунный ответ формируется на синтетические эпитопы или пептиды (короткие цепочки аминокислот). Вакцины состоят из белковых компонентов инфекционного агента или эпитопа, вызывающего иммунный ответ на внедрение патогена. Синтезированные в ответ на введение иммунобиологического препарата антитела распознают не весь вирус целиком, а конкретные участки (эпитопы), длина которых невелика, составляя менее двух десятков аминокислот. Несмотря на то, что пептидные вакцины имеют большие перспективы, остается много сложностей, препятствующих их клиническому использованию.

Пептидные вакцины имеют ряд преимуществ по сравнению с классическими вакцинами, синтезирующимися из целых патогенов или их крупных фрагментов. Например, пептидные вакцины индуцируют эпитоп-специфические иммунные ответы, не вызывают аллергических, аутоиммунных или воспалительных реакций в месте введения, обеспечивают прямой иммунный ответ на неиммунные фрагменты антигенов, могут быть получены химическими методами с высокой чистотой и воспроизводимостью, а их биологическое загрязнение предотвращается благодаря химическому синтезу. Они более стабильны, чем цельновирионные и мРНК вакцины, и обычно не требуют условий холодовой цепи при транспортировке. Skwarczynski M с соавт. (2016) одним из главных преимуществ вакцин на основе пептидов считают их способность стимулировать иммунный ответ против областей белка, существенных для функций патогена, но располагающихся в областях патогена, труднодоступных для иммунных клеток [7].

Однако у пептидных вакцин существуют и недостатки, главными из которых являются низкая иммуногенность и необходимость включения адъювантов. Для достижения высоких показателей иммуногенности и протективного иммунного ответа может потребоваться введение нескольких бустерных доз. Как и в случае мРНК вакцин, пеп-

тидные вакцины необходимо заключать в специфические носители для доставки, защищающие их от деградации. Чаще всего для этих целей используют вирусоподобные частицы, липосомы, полимерные микро-, наночастицы и дендримерные системы [48,49]. Несмотря на способность пептидных препаратов растворяться в воде и оставаться стабильными при хранении в лиофилизированном виде, что обеспечивает преимущество при транспортировке без необходимости использования холодильной цепи, на настоящий момент для пептидных вакцин отсутствует широкое практическое применение [50].

Существующие и разрабатываемые пептидные вакцины, оценка их иммуногенности и иммунопротективности

Независимо от значительного интереса мирового научного сообщества к пептидным вакцинам, технология их разработки пока относительно нова и недостаточно изучена, а пептидные вакцины не представлены на рынке иммунобиологических препаратов западных стран [51]. Однако существует огромное количество прототипов, проходящих клинические испытания против различных инфекционных заболеваний, включая грипп, ВИЧ-инфекцию, гепатит С, туберкулез, малярию, лейшманиоз и COVID-19 [52–59].

Одними из наиболее перспективных экспериментальных пептидных вакцин считаются вакцины против гриппа. Согласно научным публикациям ученых из Китая, США и Канады, проведены успешные испытания на животных вакцины против гриппа птиц H9N2. В исследовании мыши были случайным образом разделены на 9 групп по 40 особей в каждой, им вводили: натрий-фосфатный буфер (0,2 мл); чистый полидопамин (0,2 мл), эпитопный пептид (1 мг/мл, 0,2 мл); эпитопную пептидную вакцину (немодифицированная пептидная вакцина, 1 мг/мл, 0,2 мл); наноэпитопную пептидную вакцину (1 мг/мл, 0,2 мл);, наноэпитопную пептидную вакцину BPP-V (1 мг/мл, 0,2 мл), наноэпитопную пептидную вакцину BP-IV (1 мг/мл, 0,2 мл), классическую вакцину против вируса гриппа птиц (0,2 мл) и неиммунный/незараженный/«пустой» контроль [52].

Иммунизацию проводили путем подкожной многоточечной инъекции в спину. Заражение животных осуществляли на 21-й день от момента иммунизации методом интраназальной инокуляции вируса. Образцы сыворотки крови выбранных случайным образом мышей из каждой группы ($n = 5$) исследовали для определения уровней IgG против гемагглютинаина (анти-ГА) на 7-й, 14-й и 21-й день после вакцинации.

Результаты исследования показали, что в контрольных группах мышей, которым вводили натрий-фосфатный буфер (0,2 мл) и чистый полидопамин, синтеза анти-ГА не выявлено вплоть до 21 дня после «иммунизации». Уровень анти-ГА в группах мышей, вакцинированных BPP-V и BP-IV, был

выше, чем в группе с одним эпитопным пептидом, и увеличивался, начиная с 7-го по 14-й дни после иммунизации. Однако статистически значимый ($p < 0,05$) рост анти-ГА с 7-го дня после иммунизации выявлен только у мышей, вакцинированных классической вакциной против вируса гриппа птиц по сравнению с группой, получавшей наноэпитопную пептидную вакцину. На 14-й день после иммунизации секреция анти-ГА значительно увеличилась в группах мышей, которым вводили эпитопные пептидные вакцины BPP-V и BP-IV ($p < 0,05$) и классическую вакцину против вируса гриппа птиц ($p < 0,01$), причем титр антител был значительно выше чем в группе мышей, которым вводили эпитопный пептид ($p < 0,05$). Такая тенденция прослеживалась и на 21-й день после иммунизации: анти-ГА у мышей, вакцинированных BPP-V и BP-IV ($p < 0,01$) и классической вакциной против вируса гриппа птиц ($p < 0,01$), были выше в сравнении с иммунным ответом на немодифицированную эпитопную пептидную вакцину. Для оценки протективных свойств вакцинных препаратов забой животных проводили на 1-е, 3-и и 5-е сутки после заражения, затем осуществляли гистологическое освидетельствование ткани легких. В легких мышей контрольной группы, которым вирус не вводился, повреждений легочной структуры не наблюдалось, в то время как легкие вакцинированных мышей имели различную степень патологических изменений. Со временем патологические изменения ткани легких постепенно уменьшались. На 5-й день после заражения ткани легких мышей, которым вводился натрий-фосфатный буфер, имели патологические изменения, включая массивные кровоизлияния. У мышей, которым вводился полидопамин, было утолщение альвеолярной стенки. В тканях легких мышей, иммунизированных эпитопными пептидами, не наблюдалось четкой альвеолярной структуры, отмечалось утолщение альвеолярных стенок и сужение альвеолярных полостей. Однако патологические повреждения тканей легких в группах грызунов, вакцинированных BPP-V и BP-IV, были менее выраженными. В частности, не обнаруживались кровоизлияния, альвеолярные структуры были четкими. Небольшая лейкоцитарная инфильтрация ткани легких наблюдалась в группе, получавшей классическую вакцину против вируса гриппа птиц.

Также была проведена оценка вирусной нагрузки в тканях легких мышей на 1-е, 3-и и 5-е сутки после заражения. Установлено, что на 3-й день после заражения вирусная нагрузка в легких мышей, иммунизированных препаратами BPP-V и BP-IV и классической вакциной против вируса гриппа птиц, была значительно ниже в сравнении с группой животных, вакцинированных немодифицированной эпитопной пептидной вакциной ($p < 0,05$) и эпитопным пептидом ($p < 0,01$). Однако значительное снижение вирусной нагрузки в тканях легких мышей, вакцинированных пептидными

вакцинами BPP-V BP-IV, наблюдалось на 5-й день с момента заражения ($p < 0,01$).

Таким образом, использование полидопамина с целью увеличения иммуногенных и протективных свойств эпитопных пептидных вакцин является перспективным, что подтверждено эффективностью вакцин BPP-V и BP-IV в животной модели гриппа птиц у мышей [52].

В настоящее время проводятся попытки создать эффективную пептидную вакцину против туберкулеза. Так, иммунизация мышей иммунобиологическим препаратом Rv1733c индуцировала синтез Rv1733c-специфических антител и активацию $\text{IFN-}\gamma$ +/TNF+ и $\text{IFN-}\gamma$ + CD4+ Т-клеток, что привело к значительному снижению бактериальной нагрузки в легких мышей, инфицированных *M. tuberculosis* [53]. Причем снижение числа микобактерий туберкулеза происходило как среди мышей, которые перед вакцинацией не были инфицированы *M. tuberculosis*, так и среди грызунов, ранее инфицированных микобактериями. Наивных и иммунизированных мышей (по 5 животных в группе) заражали живым штаммом *M. tuberculosis* H37Rv через 2 недели после введения третьей дозы экспериментальной вакцины или через 12 недель после иммунизации БЦЖ. Мышей заражали 10^5 КОЕ *M. tuberculosis*. Забой животных проводился через 6 недель после заражения патогеном. Определение вирусной нагрузки проводили в тканях легких [53]. В результате исследования показано, что иммунизация рекомбинантным белком Rv1733c SLP препятствовала размножению микобактерий в легких грызунов. Так, число *M. tuberculosis* в группе невакцинированных мышей равнялось $3,6 \times 10^5$ КОЕ/мл, а в группе вакцинированных животных всего $0,65 \times 10^5$ КОЕ/мл ($p = 0,0003$). Установлен и терапевтический эффект вакцины. В группе мышей, инфицированных микобактериями туберкулеза (МБТ), которым впоследствии проводили вакцинацию, МБТ обнаруживались в количестве $1,96 \times 10^5$ КОЕ/мл, в то же время в группе зараженных невакцинированных мышей – $3,6 \times 10^5$ КОЕ/мл ($p = 0,018$). Исследование выявило, что когда Rv1733c SLP использовали для усиления предшествующей вакцинации БЦЖ, то у мышей, ревакцинированных Rv1733c SLP, наблюдался самый высокий протективный эффект, МБТ – $0,44 \times 10^5$ КОЕ/мл и оказалось статистически значимо ниже, чем в группе невакцинированных грызунов ($3,6 \times 10^5$ КОЕ/мл, $p = 0,0002$) и в группе мышей, привитых только БЦЖ ($0,76 \times 10^5$ КОЕ/мл; $p = 0,0004$). Эти данные свидетельствуют о перспективах использования синтетических длинных пептидов, полученных из латентного антигена *M. tuberculosis* Rv1733c, в качестве новой противотуберкулезной вакцины, обладающей как профилактическим, так и терапевтическим потенциалом [53].

Другое исследование, посвященное изучению противотуберкулезных синтетических пептидных вакцин,

продемонстрировало эффективность препарата L91 для защиты от инфицирования *M. tuberculosis*. В ходе наблюдения мышей вакцинировали препаратом L91 (основная группа). Было также сформировано несколько контрольных групп, иммунизированных БЦЖ, F91 – другим туберкулезным пептидом, LH-Pam2Cys, конъюгированным, нетуберкулезным специфическим пептидом из гемагглютинаина вируса гриппа и плацебо (мышам вводили буферный раствор). На 75-й день после вакцинации мышей заражали аэрозолем МБТ и умерщвляли через 30 дней. Было установлено, что мыши, иммунизированные L91, имели значительно более низкую бактериальную нагрузку в легких по сравнению с мышами, вакцинированными БЦЖ ($p < 0,05$), и другими препаратами из числа перечисленных выше для контрольных групп. Кроме того, у мышей, иммунизированных L91, была отмечена минимальная инфильтрация тканей легких и меньшее число гранулем [54].

Синтетические пептидные вакцины против малярии пытались создать еще в 2000-х гг. Пептидные вакцины против малярии второго поколения способствовали выработке нейтрализующих антител против спорозоитов, а также активации моноцитов и ингибированию ими паразитов. Кроме того, *in vitro* было показано, что CD4(+) и CD8(+) Т-клетки, образующиеся в ходе вакцинации, оказались сходными с теми, которые образуются при естественном инфекционном процессе [55].

Исследование, опубликованное в 2020 г., показало высокую эффективность пептидной вакцины V.FFRK.NVYSP против малярии у грызунов. Чтобы изучить иммунопротективность вакцины среди мышей, прошедших первичную и бустерную вакцинацию (внутривенно на 30-й день после первичной), мышам заражали 200 спорозитами *Plasmodium berghei* через 73 дня от момента первичной иммунизации. Было установлено, что бустерная вакцинация индуцировала стерильную защиту у всех мышей. На 93-й день мышам повторно вводили высокую дозу паразитов (3000 спорозоитов). В ходе эксперимента установлено, что половина мышей выжила после инфицирования. В совокупности эти данные показывают, что V.FFRK.NVYSP можно использовать в схемах первичной и бустерной вакцинации, и что эта вакцина индуцирует большое количество TRM-клеток печени, которые эффективно защищают ткани от заражения спорозитами [56].

Еще одним паразитарным заболеванием, против которого пытаются создать пептидную вакцину, является лейшманиоз. Так, у мышей, вакцинированных rLiHyV/сапонином (прототип пептидной вакцины против лейшманиоза), был выявлен более высокий уровень паразит-специфических IgG1 и IgG2a по сравнению с контролем. Для оценки иммунопротективных свойств препарата rLiHyV против инфицирования *Leishmania infantum* у мышей оценивалась паразитарная нагрузка в печени, селезенке, костном мозге и лимфатических

узлах лапок животных через 10 недель после заражения. У мышей, вакцинированных rLiHuV/сапонином, наблюдалось снижение паразитарной нагрузки в печени (3,4- и 3,2-log), селезенке (3,3- и 3,0-log), костном мозге (4,0- и 3,8-log) и лимфатических узлах лапок (3,4- и 3,3-log), по сравнению с группами, получавшими физиологический раствор или только сапонин. Это исследование показало, что специфичный для *Leishmania spp.* белок LiHuV, экспрессия которого была обнаружена как на промастиготной, так и на амастиготной стадии у *L. infantum*, является перспективной вакциной-кандидатом против висцерального лейшманиоза. Кроме того, рекомбинантный белок показал себя как эффективный маркер для серодиагностики лейшманиоза [57].

Продолжаются попытки создания эффективных пептидных вакцин против вируса гепатита С (ВГС) и ВИЧ [58,59]. Так, в исследовании, посвященном изучению иммуногенности вакцины-кандидата против ВГСр6, индуцирование синтеза антител в ответ на введение вакцины оказалось дозозависимым на модели мышей. Титр антител через 10 недель после введения 16 мкг ВГСр6 был значительно выше ($p < 0,01$), чем в группе, получавшей 1600 нг, а в ней выше ($p < 0,01$), чем в группе, получивших 800 нг. Продукция антител против оболочечных пептидов достигала пиковых значений ($p < 0,01$) к 10-й неделе от момента иммунизации и оставалась на тех же уровнях через 20 недель после иммунизации.

Чтобы проверить, могут ли антитела, образующиеся в ответ на вакцинацию ВГС р6, нейтрализовать репликацию ВГС в клетках Huh-7, проводили два эксперимента: один с использованием изолята субтипа 2a JFH1, второй – с химерным вирусом ED43/JFH1, основанном на рекомбинантном экспрессирующем ядре JFH1 NS2 штамма ED43 генотипа 4a. Для этого проводили инкубацию сывороток, полученных от мышей, вакцинированных тремя различными дозами ВГСр6, с изолятом JFH1 (генотип 2a) с последующим введением смеси в клеточную культуру Huh-7. Результаты показали, что мышинные антитела против ВГСр6 снижали вирусную нагрузку ВГС в клеточной культуре по сравнению с контролем дозозависимым образом с наибольшей нейтрализующей способностью сывороток мышей, получавших 1600 нг вакцины (ингибирование ~ 70%), по сравнению с мышами, получавшими 800 нг. (~ 40% ингибирование). Антитела от мышей, получавших 16 мкг ВГСр6, снижали репликацию ВГС практически на 75% по сравнению с контролем.

Второй эксперимент проводился с использованием химерного изолята ВГС ED43/JFH1 (генотип 4a/2a). Установлено, что мышинные антитела против ВГСр6 уменьшали репликацию ВГС, по сравнению с контрольной группой дозозависимым образом, как и в предыдущем эксперименте. Лучшие значения были достигнуты в сыворотках крови мышей, вакцинированных препаратом в дозировке 1600 мкг (ингибирование ~ 50%), тогда как в груп-

пе вакцинированных дозой 800 нг результат был значительно хуже (ингибирование ~ 25%). Антитела от мышей, получавших 16 мкг ВГСр6, снижали репликацию вируса примерно на 40% в сравнении с контрольной группой. Следовательно, в обоих экспериментах дозировка 1600 нг пептидной вакцины против ВГСр6 была признана наиболее подходящей для дальнейшего изучения [58].

Изучение пептидных вакцин проводится не только в рамках профилактики инфекционных заболеваний, но и в качестве терапевтических средств. Например, пептидная вакцина VAC-3S против ВИЧ-1 прошла вторую фазу клинических испытаний. ВИЧ-инфицированных участников вакцинировали 16, 32 или 64 мкг VAC-3S, контрольной группе вводили плацебо. Вакцинация хорошо переносилась всеми участниками, серьезных поствакцинальных реакций не наблюдалось. При этом, препарат вызывал значительное увеличение синтеза антител у вакцинированных пациентов ($p < 0,0001$) по сравнению с группой плацебо. На 12-й неделе доля вакцинированных с регистрируемым увеличением титра антител составила 45,8% ($p = 0,0026$), 62,5% ($p = 0,0002$) и 47,8% ($p = 0,0020$) в группах, вакцинированных 16, 32 и 64 мкг препарата соответственно. В контрольной группе, получившей плацебо, синтез антител не наблюдался.

У лиц со значительным иммунным ответом на вакцинацию также было зафиксировано увеличение количества CD4-лимфоцитов. Следует отметить, что изменений уровня ДНК ВИЧ в крови до вакцинации и на 12-й и 48-й неделях после вакцинации не установлено, что позволяет предположить, что вакцина против 3S не оказывала прямого влияния на вирус. При этом число CD4+ Т-клеток не снижалось либо наоборот увеличивалось за счет снижения экспрессии рецепторов PD-1 и NKp44L, отвечающих за программируемую гибель клеток. Это позволяют сделать заключение, что препарат перспективен для разработки персонифицированной вакцинации против ВИЧ-1 среди ВИЧ-инфицированных пациентов с высоким уровнем PD-1 [59].

Во время пандемии COVID-19 в России была создана пептидная вакцина «ЭпиВакКорона», включавшая консервативные эпитопы двух субъединиц шиповидного белка SARS-CoV-2 – S1 и S2, из которых первая отвечает за связывание вириона с рецептором клеток-мишеней ACE2, а вторая – за слияние вируса с восприимчивой клеткой организма человека. Иммуногенность разработанной вакцины была продемонстрирована на животной модели. Животным проводилась двукратная внутримышечная инъекция препарата с интервалом в две недели (14 дней) в двух дозировках 260 и 86 мкг. Обе дозировки показали иммунный ответ в группе сирийских хомячков и приматов через 14 суток после второй вакцинации, в группе хомячков иммунный ответ был достигнут у 94% особей. Для оценки протективности препарата ЭпиВакКорона двукратно иммунизированным животным интраназально вводили SARS-CoV-2, после чего подвергали

эвтаназии. У хомяков, получавших плацебо, при гистологическом освидетельствовании установлена потеря эпителия мелких бронхов и бронхиол, очаги некроза ткани, ателектаз легких и плазматическое пропитывание сосудов легких. У вакцинированных хомяков был выявлен отек легочной паренхимы, ее инфильтрация иммунными клетками, характерная для воспалительного процесса, дистрофия эпителия мелких бронхов и бронхиол, поражение эндотелия кровеносных сосудов. У вакцинированных хорьков было установлено снижение времени элиминации вируса из носоглоточных смывов более чем на 6 суток, в сравнении с контрольной группой, получавшей плацебо. В случае приматов, снижения сроков выделения вируса в вакцинированной группе относительно животных контрольной группы установлено не было. Несмотря на это, через 14 дней с момента заражения макак при проведении рентгенографии органов грудной клетки было установлено, что у всех вакцинированных животных очагово-инфильтративные изменения легких не развивались, а в контрольной группе наличие рентгенологических признаков пневмонии установлено у 67% животных. Гистологическое исследование ткани легких приматов показало, что в вакцинированной группе животных поражение было менее выраженным относительно контрольной группы [60]. Полученные результаты доклинических испытаний вакцины были признаны успешными, что позволило провести клинические испытания [61]. Однако, несмотря на низкую реактогенность, широкого применения она не приобрела.

Заключение

Таким образом, регулярное появление возбудителей инфекций с пандемическим потенциалом диктует необходимость создания новых платформ для срочной разработки вакцин против потенциально неизвестных ранее патогенов. Сложность внедрения новых технологий обусловлена длительностью и дорогой стоимостью разработки иммунобиологических препаратов, необходимостью накопления возбудителя, что накладывает определенные ограничения при создании традиционных вакцин. Одними из перспективных платформ для производства новых вакцинных препаратов считаются мРНК и пептидные вакцины, характеризующиеся быстротой и экономичностью производства, а также высокой иммуногенностью и иммунопротективностью.

Несмотря на перспективу успешной разработки этих двух вариантов вакцин, существуют определенные ограничения и недостатки. Для мРНК вакцин – это нестабильность из-за состава липосом, что требует хранения при -80°C , в то время, как конструирование эффективных пептидных вакцин требует повышения иммуногенности препаратов, поиска оптимальных конформаций синтетических пептидов, повторяющих эпитопы инфекционных агентов. Как мРНК, так и пептидные вакцины в организме человека подвергаются быстрому разрушению, что побуждает исследователей осваивать новые молекулярные методы доставки матрицы вакцины в клетки-мишени.

Литература/References

- Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, Petsch B. New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations. *Front Immunol*. 2018;9:1963. doi: 10.3389/fimmu.2018.01963.
- Pronger ES, Weenen TC, Commandeur H, et al. Risk in vaccine research and development quantified. *PLoS ONE*. 2013;8:e57755. doi:10.1371/journal.pone.0057755.
- Eroglu B, Nuwarda RF, Ramzan I, Kayser V. A Narrative Review of COVID-19 Vaccines. *Vaccines (Basel)*. 2021;10(1):62. doi:10.3390/vaccines10010062.
- Di Natale C, La Manna S, De Benedictis I, et al. Perspectives in Peptide-Based Vaccination Strategies for Syndrome Coronavirus 2 Pandemic. *Front Pharmacol*. 2020;11:578382. doi:10.3389/fphar.2020.578382.
- Krut' VG, Chuvpilo SA, Astrakhanseva IV, et al. Will Peptides Help to Stop COVID-19? *Biochemistry (Mosc)*. 2022;87(7):590–604. doi:10.1134/S000629722070021.
- Al-Fattah Yahaya AA, Khalid K, Lim HX, Poh CL. Development of Next Generation Vaccines against SARS-CoV-2 and Variants of Concern. *Viruses*. 2023;15(3):624. doi:10.3390/v15030624.
- Skwarczynski M, Toth I. Peptide-based synthetic vaccines. *Chem. Sci*. 2016;7:842–854. doi: 10.1039/C5SC03892H.
- Тухватуллин А. И., Тухватулина Н. М., Джаруллаева А. Ш. и др. Способ проверки иммуногенности вакцинных антигенов для получения высокоэффективных вакцин против опасных инфекций Патент РФ № 2018140539; 2018. /Tuhvatullin AI, Tuhvatulina NM, Dzharrullaeva AS, et al. A method for testing immunogenicity of vaccine antigens to obtain highly effective vaccines against dangerous infections [Sposob proverki immunogenosti vaktsinnykh antigenov dlja polucheniya vysokoeffektivnykh vaktsin protiv opasnykh infektsij]. Patent RF № 2018140539. 18.05.2020. Available at: <https://patent.ru/patent/RU2722648C2>. Accessed: October 09, 2024 (in Russ.).
- Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines. A new era in vaccinology. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2018;17:261–279. doi: 10.1038/nrd.2017.243.
- Thomas SJ, Moreira ED Jr., Kitchin N, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine through 6 months. *N. Engl. J. Med*. 2021;385:1761–73. doi: 10.1056/NEJMoa2110345.
- Rodríguez-Gascón A, del Pozo-Rodríguez A, Solinís MÁ. Development of nucleic acid vaccines: Use of self-amplifying RNA in lipid nanoparticles. *Int. J. Nanomed*. 2014;9:1833–1843. doi: 10.2147/IJ.N.539810.
- Schlake T, Thess A, Fotin-Mleczek M, Kallen KJ. Developing mRNA-vaccine technologies. *RNA Biol*. 2012;9:1319–30. doi:10.4161/rna.22269.
- Pardi N, Weissman D. Nucleoside modified mRNA vaccines for infectious diseases. *Methods Mol Biol*. 2017;1499:109–21. doi:10.1007/978-1-4939-6481-9_6.
- Feldman RA, Fuhr R, Smolenov I, et al. mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials. *Vaccine*. 2019;37(25):3326–3334. doi:10.1016/j.vaccine.2019.04.074.
- Pardi N, Hogan MJ, Weissman D. Recent advances in mRNA vaccine technology. *Curr. Opin. Immunol*. 2020;65:14–20. doi: 10.1016/j.coi.2020.01.008.
- Rosa SS, Prazeres DMF, Azevedo AM, Marques MPC. mRNA vaccines manufacturing: Challenges and bottlenecks. *Vaccine*. 2021;39:2190–200. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.03.038. doi:10.1016/j.vaccine.2021.03.038.
- Yang L, Tang L, Zhang M, Liu C. Recent advances in the molecular design and delivery technology of mRNA for vaccination against infectious diseases. *Front Immunol*. 2022;13. doi: 10.3389/fimmu.2022.896958.
- Chaudhary N, Weissman D, Whitehead KA. mRNA vaccines for infectious diseases: principles, delivery and clinical translation. *Nat Rev Drug Discovery*. 2021;20:817–38. doi: 10.1038/s41573-021-00283-5.
- Andrianov AK, Fuerst TR. Immunopotentiating and Delivery Systems for HCV Vaccines. *Viruses*. 2021;13:981. doi: 10.3390/v13060981.
- Ding Y, Li Z, Jaklenec A, Hu Q. Vaccine Delivery Systems toward Lymph Nodes. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2021;179:113914. doi: 10.1016/j.addr.2021.113914.
- de Moura IA, Silva AJD, de Macedo LS, et al. Enhancing the Effect of Nucleic Acid Vaccines in the Treatment of HPV-Related Cancers: An Overview of Delivery Systems. *Pathogens*. 2022;11(12):1444. doi:10.3390/pathogens11121444.
- Abbasi S, Uchida S. Multifunctional Immunoadjuvants for Use in Minimalist Nucleic Acid Vaccines. *Pharmaceutics*. 2021;13:644. doi: 10.3390/pharmaceutics13050644.
- Sahin U, Karikó K, Türeci Ö. mRNA-based therapeutics—developing a new class of drugs. *Nat Rev Drug Discovery*. 2014;13:759–80. doi: 10.1038/nrd4278.
- Freyn AW, da Silva JR, Rosado VC, et al. A multi-targeting, nucleoside-modified mRNA influenza virus vaccine provides broad protection in mice. *Mol Ther*. 2020;28:1569–84. doi: 10.1016/j.jymthe.2020.04.018.
- Chivukula S, Plitnik T, Tibbitts T, et al. Development of multivalent mRNA vaccine candidates for seasonal or pandemic influenza. *NPJ Vaccines*. 2021;6:153. doi: 10.1038/s41573-021-00420-6.
- McMahon M, O'Dell G, Tan J, et al. Assessment of a quadrivalent nucleoside-modified mRNA vaccine that protects against group 2 influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci*. 2022;119. doi: 10.1073/pnas.2206333119.
- Arevalo CP, Bolton MJ, Le Sage V, et al. A multivalent nucleoside-modified mRNA vaccine against all known influenza virus subtypes. *Sci (1979)*. 2022;378:899–904. doi: 10.1126/science.abm0271.
- Pardi N, Carreño JM, O'Dell G, et al. Development of a pentavalent broadly protective nucleoside-modified mRNA vaccine against influenza b viruses. *Nat Commun*. 2022;13:4677. doi: 10.1038/s41467-022-32149-8.

29. Zhuang X, Qi Y, Wang M, et al. mRNA vaccines encoding the HA protein of influenza A H1N1 virus delivered by cationic lipid nanoparticles induce protective immune responses in mice. *Vaccines (Basel)*. 2020;8(1):123. doi: 10.3390/vaccines8010123.
30. Espeseth AS, Cepas PJ, Citron MP, et al. Modified mRNA/lipid nanoparticle-based vaccines expressing respiratory syncytial virus F protein variants are immunogenic and protective in rodent models of RSV infection. *NPJ Vaccines*. 2020;5:16. doi: 10.1038/s41541-020-0163-z.
31. Li J, Liu Q, Liu J, et al. An mRNA-based rabies vaccine induces strong protective immune responses in mice and dogs. *Virol J*. 2022;19:184. doi: 10.1186/s12985-022-01919-7.
32. Schnee M, Vogel AB, Voss D, et al. An mRNA vaccine encoding rabies virus glycoprotein induces protection against lethal infection in mice and correlates of protection in adult and newborn pigs. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:e0004746. doi: 10.1371/journal.pntd.0004746.
33. Matarazzo L, Bettencourt PJG. mRNA vaccines: a new opportunity for malaria, tuberculosis and HIV. *Front. Immunol.* 2023;14:1172691. doi: 10.3389/fimmu.2023.1172691.
34. Hayashi CTH, Cao Y, Clark LC, et al. mRNA-LNP expressing PfCSP and Pfs25 vaccine candidates targeting infection and transmission of *Plasmodium falciparum*. *NPJ Vaccines*. 2022;7:155. doi: 10.1038/s41541-022-00577-8.
35. Pardi N, LaBranche CC, Ferrari G, et al. Characterization of HIV-1 nucleoside-modified mRNA vaccines in rabbits and rhesus macaques. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2019;15:36–47. doi: 10.1016/j.omtn.2019.03.003.
36. Zhang P, Narayanan E, Liu Q, et al. A multiclade env-gag VLP mRNA vaccine elicits tier-2 HIV-1-neutralizing antibodies and reduces the risk of heterologous SHIV infection in macaques. *Nat Med*. 2021;27:2234–45. doi: 10.1038/s41591-021-01574-5.
37. Valentin A, Bergamaschi C, Rosati M, et al. Comparative immunogenicity of an mRNA/LNP and a DNA vaccine targeting HIV gag conserved elements in macaques. *Front Immunol*. 2022;13. doi: 10.3389/fimmu.2022.945706.
38. Chahal JS, Khan OF, Cooper CL, et al. Dendrimer-RNA nanoparticles generate protective immunity against lethal Ebola, H1N1 influenza, and *Toxoplasma gondii* challenges with a single dose. *Proc Natl Acad Sci*. 2016;113:E4133–42. doi: 10.1073/pnas.1600299113.
39. Pardi N, Hogan M J, Pelc RS, et al. Zika virus protection by a single low-dose nucleoside-modified mRNA vaccination. *Nature*. 2017;543:248–51. doi: 10.1038/nature21428.
40. John S, Yuzhakov O, Woods A, et al. Multi-antigenic human cytomegalovirus mRNA vaccines that elicit potent humoral and cell-mediated immunity. *Vaccine*. 2018;36:1689–99. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.01.029.
41. Moderna Announces Additional Positive Phase 1 Data from Cytomegalovirus (CMV) Vaccine (mRNA-1647) and First Participant Dosed in Phase 2 Study (2020). Available at: <https://investors.modernatx.com/news/news-details/2020/Moderna-Announces-Additional-Positive-Phase-1-Data-from-Cytomegalovirus-CMV-Vaccine-mRNA-1647-and-First-Participant-Dosed-in-Phase-2-Study/default.aspx> (accessed 10 April 2024).
42. Richner JM, Himansu S, Dowd KA, et al. Modified mRNA Vaccines Protect against Zika Virus Infection. *Cell*. 2017;168(6):1114–1125.e10. doi: 10.1016/j.cell.2017.02.017.
43. Jacobson JM, Routh J-P, Welles S, et al. Dendritic cell immunotherapy for HIV-1 infection using autologous HIV-1 RNA: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J. Acquir. Immune Def. Syndr.* 2016;72, 31–38. doi: 10.1097/QAI.0000000000000926.
44. Gandhi RT, Kwon DS, Macklin EA, et al. Immunization of HIV-1-Infected Persons With Autologous Dendritic Cells Transfected With mRNA Encoding HIV-1 Gag and Nef: Results of a Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *J. Acquir. Immune Def. Syndr.* 2016;71(3):246–253. doi: 10.1097/QAI.0000000000000852.
45. Alberer M, Gnad-Vogt U, Hong HS, et al. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial. *Lancet*. 2017;390(10101):1511–1520. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31665-3.
46. Aldrich C, Leroux-Roels I, Huang KB, et al. Proof-of-concept of a low-dose unmodified mRNA-based rabies vaccine formulated with lipid nanoparticles in human volunteers: A phase 1 trial. *Vaccine*. 2021;39(8):1310–1318. doi: 10.1016/j.vaccine.2020.12.070.
47. Bahl K, Senn JJ, Yuzhakov O, et al. Preclinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses. *Mol. Ther.* 2017;25(6):1316–1327. doi: 10.1016/j.jymthe.2017.03.035.
48. Allahyari M, Mohit E. Peptide/protein vaccine delivery system based on PLGA particles. *Hum. Vaccines Immunother.* 2016;12(3):806–828. doi: 10.1080/21645515.2015.1102804.
49. Singh M, Chakrapani A, O'Hagan D. Nanoparticles and microparticles as vaccine-delivery systems. *Expert Rev. Vaccine*. 2007;6(5):797–808. doi: 10.1586/14760584.6.5.797.
50. Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins. *Annu. Rev. Virol.* 2016;doi: 3:237–261. doi: 10.1146/annurev-virology-110615-042301.
51. Vaccines Licensed for Use in the United States. Available at: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/vaccines-licensed-use-united-states> (accessed 10 April 2024).
52. Liu Y, Wang X, Zhou J, et al. Development of PDA Nanoparticles for H9N2 Avian Influenza BPP-V/BP-IV Epitope Peptide Vaccines: Immunogenicity and Delivery Efficiency Improvement. *Front Immunol.* 2021;12:693972. doi: 10.3389/fimmu.2021.693972.
53. Coppola M, van den Eeden SJ, Wilson L, et al. Synthetic Long Peptide Derived from *Mycobacterium tuberculosis* Latency Antigen Rv1733c Protects against Tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2015;22(9):1060–1069. doi: 10.1128/CI.00271-15.
54. Gowthaman U, Singh V, Zeng W, et al. Promiscuous Peptide of 16 kDa Antigen Linked to Pam2Cys Protects Against *Mycobacterium tuberculosis* by Evoking Enduring Memory T-Cell Response. *The Journal of Infectious Diseases*. 2011;204(9):1328–1338. doi: 10.1093/infdis/jir548.
55. Nardin E. The past decade in malaria synthetic peptide vaccine clinical trials. *Hum Vaccin.* 2010;6(1):27–38. doi: 10.4161/hv.6.1.9601.
56. Holz LE, Chua YC, de Menezes MN, et al. Glycolipid-peptide vaccination induces liver-resident memory CD8+ T cells that protect against rodent malaria. *Sci. Immunol.* 2020;5:eaz8035. doi: 10.1126/sciimmunol.eaz8035.
57. Martins VT, Duarte MC, Chávez-Fumagalli MA, et al. A Leishmania-specific hypothetical protein expressed in both promastigote and amastigote stages of *Leishmania infantum* employed for the serodiagnosis of, and as a vaccine candidate against, visceral leishmaniasis. *Parasit Vectors*. 2015;11:8:363. doi: 10.1186/s13071-015-0964-5.
58. Dawood RM, Moustafa RI, Abdelhazef TH, et al. A multipitope peptide vaccine against HCV stimulates neutralizing humoral and persistent cellular responses in mice. *BMC Infect Dis.* 2019;9(1):932. doi: 10.1186/s12879-019-4571-5.
59. Vieillard V, Combadière B, Tubiana R, et al. HIV therapeutic vaccine enhances non-exhausted CD4+ T cells in a randomised phase 2 trial. *NPJ Vaccines*. 2019;4:25. doi: 10.1038/s41541-019-0117-5.
60. Рыжиков А.Б., Рыжиков Е.А., Богрянцева М.П., и др. Иммуногенные и протективные свойства кандидатной пептидной вакцины против SARS-CoV-2. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2021;76(1):5–19. doi: 10.15690/vramn1528
61. Ryzhikov AB, Ryzhikov EA, Bogryantseva MP, et al. Immunogenicity and protectivity of the peptide vaccine against SARS-CoV-2. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2021;76(1):5–19. doi: 10.15690/vramn1528/ Ryzhikov AB, Ryzhikov EA, Bogryantseva MP, et al. A single blind, placebo-controlled randomized study of the safety, reactogenicity and immunogenicity of the EpiVacCorona Vaccine for the prevention of COVID-19, in volunteers aged 18–60 years (phase I–II). *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021;11(2):283–296 (in Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-ASB-1699

Об авторах

- **Татьяна Федоровна Степанова** – д. м. н., профессор, главный научный сотрудник, ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия. +7 (3452) 28-99-94, info@tniikp.rosпотребнадzor.ru. ORCID: 0000-0002-6289-6274.
- **Ольга Евгеньевна Троценко** – д. м. н., директор, ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия. +7 (4212) 32-52-28, trotsenko_oe@hniiem.ru. ORCID: 0000-0003-3050-4472.
- **Ирина Владимировна Бахтановская** – к. б. н., ученый секретарь, ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия. +7 (3452) 28-99-94, info@tniikp.rosпотребнадzor.ru. ORCID: 0000-0003-1365-7741.
- **Елена Анатольевна Базыкина** – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД, ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия. +7 (4212) 46-18-55, alyonaf@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5695-6752.
- **Ксения Борисовна Степанова** – к. м. н., врио директора, ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия. +7 (3452) 28-99-94, info@tniikp.rosпотребнадzor.ru. ORCID: 0000-0002-5420-0919.

Поступила: 09.10.2024. Принята к печати: 03.12.2024.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Tatyana F. Stepanova** – Dr. Sci. (Med.), professor, chief research associate, Tyumen Regional Infection Pathology Research Institute of Rosпотребнадzor, Tyumen, Russia. +7 (3452) 28-99-94, info@tniikp.rosпотребнадzor.ru. ORCID: 0000-0002-6289-6274.
- **Olga E. Trotsenko** – Dr. Sci. (Med.), director, Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of Rosпотребнадzor, Khabarovsk, Russia. +7 (4212) 32-52-28, trotsenko_oe@hniiem.ru. ORCID: 0000-0003-3050-4472.
- **Irina V. Bakshtanovskaya** – Cand. Sci. (Biol.), scientific secretary, Tyumen Regional Infection Pathology Research Institute of Rosпотребнадzor, Tyumen, Russia. +7 (3452) 28-99-94, info@tniikp.rosпотребнадzor.ru. ORCID: 0000-0003-1365-7741.
- **Elena A. Bazykina** – junior research associate of laboratory of viral hepatitis and AIDS epidemiology and prevention, Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of Rosпотребнадzor, Khabarovsk, Russia. +7 (4212) 46-18-55, alyonaf@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5695-6752.
- **Ksenia B. Stepanova** – Cand. Sci. (Med.), interim director, Tyumen Regional Infection Pathology Research Institute of Rosпотребнадzor, Tyumen, Russia. +7 (3452) 28-99-94, info@tniikp.rosпотребнадzor.ru. ORCID: 0000-0002-5420-0919.

Received: 09.10.2024. Accepted: 03.12.2024.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.