

## ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ ПРИ РАЗРАБОТКЕ СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ

Казачинская Е.И.<sup>1,2</sup>, Шаньшин Д.В.<sup>2</sup>, Щербаков Д.Н.<sup>2</sup>,  
Шестопапов А.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»,  
г. Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора,  
р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

**Резюме.** Лихорадка денге, известная, по литературным источникам, с эпохи династии Цинь (265-420 гг.), развивается у человека при укусе комарами рода *Aedes*, инфицированных вирусом денге (dengue virus, DENV) и проявляется как гриппоподобное заболевание. Лихорадочное состояние может сопровождаться диспепсическими расстройствами (тошнотой, рвотой, диареей) и сыпью. Приблизительно 1-2% случаев инфекции клинически представлены как наиболее тяжелая форма — это геморрагическая лихорадка денге/синдром шока денге (dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS), приводящие в эндемичных районах к 500 тыс. ежегодных госпитализаций с летальностью около 5%. Четыре генетически удаленных серотипа DENV (1, 2, 3 и 4), открытые в середине XX в., классифицируются как разные виды вирусов внутри одного антигенного комплекса и имеют почти идентичную эпидемиологическую картину вызываемых ими заболеваний. В 2013 г. был выделен новый серотип DENV-5. До 1980-х гг. в большинстве географических регионов мира, где регистрировалась лихорадка денге, выявлялся вирус, относящийся только к одному или двум серотипам. С течением времени наблюдается увеличение ко-циркуляции четырех видов вирусов, что может служить ключевым индикатором их глобального распространения. По мере того, как «следы» четырех видов DENV все больше пересекаются, угроза развития тяжелой болезни возрастает из-за феномена антитело-зависимого усиления инфекции при повторном инфицировании гетерологичным вирусным серотипом.

Разработка средств специфической профилактики лихорадки денге ведется с 1944 г. (с момента выделения этиологического возбудителя этой болезни), но первая и пока единственная лицензированная в 2015 г. четырехвалентная вакцина — Dengvaxia, разработанная французской фармацевтической компанией Sanofi Pasteur, оказалась в разной степени эффективна при инфицировании каждым из вирусных серотипов и, кроме того, опасной для ранее серонегативных людей. Исследования, направленные на получение безопасной и эффективной вакцины, продолжаются. Нейтрализующие моноклональные антитела являются необходимым инструментом изучения антигенной структуры вирусных иммуногенов — основы профилактических препаратов против лихорадки денге.

*Ключевые слова:* лихорадка денге, вирус денге, вакцина

### Адрес для переписки:

Казачинская Елена Ивановна  
ФБУН «Государственный научный центр вирусологии  
и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора  
630559, Россия, Новосибирская обл., р. п. Кольцово, 32-1.  
Тел.: 8 (909) 530-74-41.  
E-mail: lena.kazachinskaja@mail.ru

### Address for correspondence:

Kazachinskaya Elena I.  
State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector"  
630559, Russian Federation, Novosibirsk Region,  
Koltsovo, 32-1.  
Phone: 7 (909) 530-74-41.  
E-mail: lena.kazachinskaja@mail.ru

### Образец цитирования:

Е.И. Казачинская, Д.В. Шаньшин, Д.Н. Щербаков,  
А.М. Шестопапов «Проблемные вопросы при  
разработке средств специфической профилактики  
лихорадки денге» // Медицинская иммунология, 2022.  
Т. 24, № 1. С. 19-30.  
doi: 10.15789/1563-0625-PQI-2346

© Казачинская Е.И. и соавт., 2022

### For citation:

E.I. Kazachinskaya, D.V. Shanshin, D.N. Shcherbakov,  
A.M. Shestopalov "Problematic questions in the development  
of specific prevention of dengue fever", *Medical Immunology  
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2022, Vol. 24, no. 1,  
pp. 19-30.  
doi: 10.15789/1563-0625-PQI-2346

DOI: 10.15789/1563-0625-PQI-2346

## PROBLEMATIC QUESTIONS IN THE DEVELOPMENT OF SPECIFIC PREVENTION OF DENGUE FEVER

Kazachinskaya E.I.<sup>a, b</sup>, Shanshin D.V.<sup>b</sup>, Shcherbakov D.N.<sup>b</sup>,  
Shestopalov A.M.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>b</sup> State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

**Abstract.** Dengue fever known from literary sources since the Qin dynasty (265-420) is caused in humans when bitten by *Aedes* mosquitoes infected with the dengue virus (DENV) and manifests as a flu-like disease. A feverish state can be accompanied by dyspeptic disorders (nausea, vomiting, diarrhea) and a rash. Approximately 1-2% of infections are clinically presented as the most severe form – it is dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) leading to 500 thousand annual hospitalizations with a mortality rate of about 5% in endemic areas.

Four genetically removed DENV serotypes (1, 2, 3, and 4) are classified as different types of viruses within the same antigen complex and have almost identical epidemiological features. In 2013 a new serotype DENV-5 was isolated.

Until the 1980s in most geographical regions of the world where dengue fever was registered only one or two viral serotypes were detected as an etiological agent of the disease. Over time there is an increase in the co-circulation of four types of viruses which can serve as a key indicator of their global spread. As the "traces" of the four DENV species overlap more and more the threat of severe disease increases due to the phenomenon of antibody-dependent of infection when re-infected with a heterologous viral serotype.

Development of specific dengue fever prevention has been underway since 1944 (since the discovery of viral agents of this disease) but the first and so far only licensed in 2015 tetravalent vaccine-Dengvaxia developed by the French pharmaceutical company Sanofi Pasteur has been effective in varying degrees of protection against infection with each of the viral serotypes and in addition dangerous for previously seronegative people. Research aimed at obtaining a safe and effective vaccine is continuing. Neutralizing monoclonal antibodies are a necessary tool for studying the antigenic structure of viral immunogens as base of prevention prepares against dengue fever.

*Keywords:* dengue fever (DF), dengue virus (DENV), vaccine

### Введение

Еще до недавнего времени, т.е. до распространения в 2020 г. по всему миру SARS-CoV-2 – нового вида коронавируса (coronavirus, CoV), вызывающего тяжелый острый респираторный синдром (severe acute respiratory syndrome, SARS) [54], в научной литературе вирус денге (dengue virus, DENV) именовался одним из глобальных патогенов, т.к. вызываемая им болезнь у людей – лихорадка денге (dengue fever, DF) эндемична более чем для 100 стран тропических/субтропических районов земного шара (в Юго-Восточной Азии, Северной и Южной Америке, западной части Тихого океана, Африке и Восточном Средиземноморье) [30]. Почти 4 миллиарда человек, проживающих на перечисленных территориях, подвержены риску заражения DENV при контакте с переносчиками возбудителя болезни – комарами рода *Aedes* (видами *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* и др.) [10], ареал которых расширяется из-за потепления климата [39]. Появление комаров вида *Ae. aegypti* зафиксировано в Турции, на черноморском побережье России и

Грузии [38], в Германии [56] и Англии [16]. Неконтролируемая урбанизация с перемещением вирусного «хозяина» на неэндемичные территории приводит к формированию новых природных очагов DF [39], т.к. в острой фазе болезни DENV присутствует в высокой концентрации в крови инфицированных [4] и вiremия способствует автохтонным (с включением в цикл местных видов комаров) спорадическим случаям болезни на неэндемичных территориях, как например, описано для европейских стран – Хорватии, Франции и острова Мадейра, принадлежащего Португалии [60]. В период с 2006 по 2016 г. количество зарегистрированной DF в мире увеличилось на 74,7% [55]. Согласно отчету ВОЗ за 2017 г., ежегодно регистрируется 390 миллионов случаев DF, из которых 96 миллионов с симптомами средней или тяжелой степени течения болезни. В то же время, подавляющее большинство случаев болезни (до 80% от числа инфицированных) бессимптомны. Для классической DF характерно острое начало болезни с повышением температуры тела (до 40 °С), головной болью, ре-

троорбитальной болью, миалгией, артралгиями и длительностью лихорадочного периода от 2 до 7 суток. Лихорадочное состояние может сопровождаться диспепсическими расстройствами (тошнотой, рвотой, диареей). У 50-80% от числа больных с первых суток заболевания наблюдается гиперемия кожи. На 4-7-е сутки возможно появление пятнистой, пятнисто-папулезной или петехиальной сыпи (от единичных элементов до обильной кореподобной экзантемы). Кроме того, встречается такая характерная для DF сыпь, как «белые острова в красном море» [3]. В опасных для жизни случаях болезни вирус поражает почти все органы человеческого тела, вызывая полиорганную недостаточность, кардиомиопатию и даже энцефалопатию [8]. Приблизительно 1-2% случаев инфекции клинически представлены наиболее тяжелой формой — геморрагической DF/синдромом шока денге (dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS), характеризующейся повреждением тканей и капилляров, и, как результат — утечкой плазмы и/или кровоизлиянием. DHF/DSS приводит к 500 тыс. ежегодных госпитализаций с летальностью около 5% [39].

Четыре серотипа DENV (1, 2, 3 и 4) имеют почти идентичную эпидемиологическую картину вызываемых ими заболеваний [13] и, по мере того, как их «следы» все больше пересекаются, угроза развития тяжелой болезни возрастает из-за феномена антитело-зависимого усиления инфекции (antibody-dependent enhancement, ADE) при повторном инфицировании гетерологичным вирусным серотипом [21]. Еще одна гипотеза патогенности при повторном заражении DENV заключается в том, что иммунопатогенные механизмы приводят к «цитокиновому шторму» (неконтролируемой и не несущей защитной функции активации цитокинами иммунных клеток в очаге воспаления), который вызывает дисфункцию проницаемости капилляров и плазмолитеру. Имеются публикации, указывающие на то, что DENV-2 чаще остальных серотипов вызывает DHF/DSS, независимо от возраста и пола заболевшего. DENV-3 также ассоциируется с DHF/DSS и тяжелым поражением печени. Осложняет ситуацию отсутствие доступных и простых методов серотипирования, в настоящее время для этого используют молекулярно-генетические методы [9]. Нет и специфического лечения болезни, вызываемой DENV, поэтому одной из приоритетных задач, поставленных ВОЗ в 2012 г. было снижение смертности от DF к 2020 г. на 50% за счет использования однократно вводимой вакцины, вызывающей длительный иммунитет, защищающей от всех четырех серотипов DENV и не имеющей серьезных побочных эффектов [48]. Эта задача осталась невыполненной. Первая и пока единственная лицензированная в

2015 г. вакцина против DENV — Dengvaxia, разработанная французской фармацевтической компанией Sanofi Pasteur, была одобрена для применения в Бразилии, Мексике и на Филиппинах. Но оказалось, что она защищает от серотипов 3 и 4 DENV на 72 и 77%, а против серотипов 1 и 2 еще менее эффективна — 40 и 50% соответственно (от числа испытуемых) [27]. Кроме того, Филиппины немедленно прекратили кампанию вакцинации после того, как в ноябре 2017 г. представители Sanofi Pasteur объявили, что вакцина может усугубить случаи DF у ранее не инфицированных детей [20]. По информации министерства здравоохранения Филиппин от 19 сентября 2018 г. — 130 детей, вакцинированных Dengvaxia, умерли, у 19 из них была подтверждена DF [43]. ВОЗ признала некоторые летальные случаи, связанные с развитием тяжелой DF у иммунизированных детей при последующем инфицировании и рекомендовала использовать Dengvaxia только лицам от 9 до 45 лет в условиях серопревалентности [20].

США и Евросоюз недавно лицензировали Dengvaxia [61] и в литературе обсуждается вопрос необходимости ее применения для неиммунных путешественников, т.к. DF в количественном отношении обогнала малярию в качестве ведущей причины лихорадочных заболеваний в Юго-Восточной Азии и встречается чаще, чем вакциноконтролируемые заболевания, такие как гепатиты А и В, бешенство, японский энцефалит и желтая лихорадка [33]. В России нет природных очагов DF, но в последние годы страны Юго-Восточной Азии пользуются особой популярностью у российских туристов и в РФ все чаще стали регистрироваться завозные случаи этой болезни, в том числе в 2012 г. — 63, в 2013 г. — 170, в 2014 г. — 105, в 2015 г. — 136, в 2016 г. — 145, в 2017 г. — 196, за 11 месяцев 2018 г. — 212 случаев соответственно. Заражение происходит при посещении Таиланда, Вьетнама, Индонезии, Индии, Бангладеш, Гонконга, Мальдивских островов [2]. Специфическая профилактика DF становится все более актуальным вопросом, поэтому в данном обзоре рассмотрены варианты вакцинных препаратов и проблемные вопросы, связанные с их разработкой.

### **1. Классификация, характеристика инфекционного агента, строение генома и вириона, феномен ADE**

DENV, по классификации Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV), отнесен к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* (от лат. *Flavus* — желтый) [1]. В настоящее время наиболее изученными являются вирусы некоторых антигенных комплексов рода *Flavivirus*: вирус желтой лихорадки (yellow fever virus, YFV); DENV (четыре серотипа); Японского энцефалита (Japanese encephalitis virus, JEV), в него включены вирус

Западного Нила (West Nile virus, WNV) и вирус энцефалита Сент-Луис (Saint-Louis virus, SLEV); клещевого энцефалита (tick-borne encephalitis virus, TBEV) и вирус Омской геморрагической лихорадки (Omsk hemorrhagic fever virus, OHFV, комплекс TBEV); вирус Зика (Zika virus, ZIKV), — это известные флавивирусы, в большинстве своем, патогенные для человека вследствие их нейровирулентности. Эпидемиологические исследования показали, что ареалы некоторых из этих флавивирусов перекрываются [34].

Четыре генетически удаленных вирусных серотипа DENV классифицируются внутри одного антигенного комплекса как разные виды (серотипы) вирусов — DENV-1, DENV-2, DENV-3 и DENV-4 соответственно. Каждый серотип, в свою очередь, разделяется на различные генотипы на основе полных последовательностей гена E, кодирующего белок оболочки [13]. Результаты широкого филогенетического анализа показывают, что все современные серотипы DENV эволюционировали независимо и неоднократно в серии дивергентных событий, которые произошли после формирования достаточно больших городских популяций (человеческих и комариных), поддерживающих постоянный цикл передачи вирусов комарами от человека человеку. Предполагается, что общий предок DENV появился более 1000 лет назад в инфекционном цикле, включающем нечеловекообразных приматов и комаров, причем передача вирусов людям произошла независимо для каждого из всех четырех типов вирусов всего несколько сотен лет назад [35]. До 1980-х гг. в большинстве географических регионов мира регистрировалась DF и этиологический агент болезни только одного или двух серотипов DENV. С течением времени наблюдается отчетливое увеличение циркуляции четырех видов вирусов, что может служить ключевым индикатором их глобального распространения [14]. Кроме того, в последние годы обсуждается существование пятого серотипа (DENV-5), выделенного в 2013 г. [42].

Вирион DENV, как и любого флавивируса, имеет сферическую форму и содержит в оболочке, окружающей нуклеокапсид, 180 молекул гликопротеина E и 180 молекул негликолизированного белка M. Капсид с кубическим типом симметрии, сформированный 180 молекулами капсидного белка C, содержит геном — линейную плюс — нитевую РНК размером приблизительно 11 000 пар нуклеотидов (п.н.). Геномная РНК инфекционна т.к. имеет такую же последовательность нуклеотидов, что мРНК, и поэтому в клетке-мишени может обеспечить экспрессию генов [5]. DENV имеет широкий тканевый тропизм из-за способности использовать нескольких видов клеточных рецепторов. В первую очередь это глюкозамин, в том числе гепарансульфаты,

интегрины, молекулы клеточной адгезии, ламининовый и маннозный рецепторы и другие [17]. Вирусная РНК транслируется в цитоплазме эндоплазматического ретикулума (endoplasmic reticulum, ER) в виде одного полипротеинового предшественника, который расщепляется вирусными и клеточными протеазами с образованием трех структурных белков: оболочечного гликопротеина E (envelope), мембранного белка prM/M (precursor/matrix) (у незрелого/зрелого вириона соответственно), капсидного белка C (capsid) и семи неструктурных (nonstructure) белков: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b и NS5. Структурные белки закрепляются в ER на люминальной стороне, где происходит сборка и созревание вириона [5]. Белки E четырех серотипов DENV имеют 60-70% сходства по составу аминокислотных остатков (а.о.) [41]. Трехмерная реконструкция изображения зрелого DENV показала, что вирус проявляет различные конформационные изменения поверхностных структур во время своего созревания в процессе заражения клетки, и это объясняется определенной гибкостью поверхностного белка E [37]. Белок E (молекулярной массой 50-53 кДа и длиной примерно 500 а.о.) является основным поверхностным антигеном вириона DENV, поэтому антитела, направленные против него, обеспечивают иммунитет во время естественной инфекции. Белок E состоит из трех доменов (domain E, ED), а именно — EDI, EDII и EDIII, а его олигомерные состояния поддерживаются шарнирным движением между EDI-EDII и EDI-EDIII [41]. EDIII каждого из четырех серотипов DENV способствуют синтезу высокоактивных нейтрализующих антител, которые в значительной степени являются серотип-специфичными [57]. При естественной инфекции у людей вырабатываются, в основном, перекрестно-реактивные антитела, специфичные к EDII [53], т.к. он содержит петлю слияния (район 98-113 а.о.) — высококонсервативную область белка E, почти на 100% идентичную у известных представителей флавивирусов [46]. Считается, что DENV использует эти перекрестно-реактивные антитела (слабо нейтрализующие или не нейтрализующие) для получения доступа в клетку «хозяина» через ее Fc-рецептор в качестве альтернативного пути при вторичной инфекции с гетерологичным серотипом, что приводит к усилению инфекции — эффекту ADE [57]. Поэтому идеальной вакциной против DF может быть профилактический препарат, способный обеспечить синтез большого количества высоко нейтрализующих антител, специфичных к четырем серотипам DENV [37]. Также необходимо учитывать, что DENV, имеющие РНК-геном, имеют высокую частоту мутаций и совместная циркуляция нескольких серотипов, индуцирующих синтез разного набора нейтрализующих антител, повы-

шает вероятность таких событий и появление новых генотипов [42].

## 2. Варианты разрабатываемых вакцин против лихорадки денге

DF, известная, по литературным источникам, с эпохи династии Цинь (265-420 гг.) [24], в XX веке нанесла значительный ущерб военному корпусу США [23], оказавшись в списке наиболее приоритетных угроз [12]. В связи с этим министерство обороны США активно поддерживает исследования в плане разработки вакцины с момента выделения этиологического агента DF – DENV [23]. В 1944 г. майору медицинской службы Альберту Сабину (Albert Sabin) с сотрудниками удалось из сывороток крови инфицированных военных выделить образцы DENV и идентифицировать их как два его серотипа (Hawaii и New Guinea, позднее названные как DENV-1 и DENV-2 соответственно) в экспериментах по заражению волонтеров. Были получены первые вакцинные препараты на основе мозговой ткани инфицированных мышей, но испытания остановили из-за многочисленных побочных явлений и в связи с окончанием войны [23]. Позднее, в 1953 г., на Филиппинах были выявлены еще два вирусных серотипа – 3 и 4 [40].

В настоящее время вакцины против DF находятся на разных этапах разработки, рассматриваются варианты нерепликативных и репликативных четырехвалентных платформ, способных одновременно индуцировать гомотипический иммунитет к каждому из четырех серотипов DENV.

### 2.1. Нерепликативные вирусные вакцины

Существует несколько стратегий для разработки этого класса вакцин – инактивированные, субъединичные белковые (рекомбинантные белки E), ДНК, на основе вирусных векторов с дефектом репликации, пептидные. Преимущества таких препаратов: сниженная реактогенность и лучшая пригодность для иммунодефицитных лиц (т.е. индукция развития иммунитета без риска заражения). Недостатки заключаются в необходимости применения адъювантов из-за низкого и кратковременного иммунного ответа, который, к тому же, может привести к эффекту ADE [37]. Из перечисленных платформ испытания I фазы на добровольцах описаны пока для четырехвалентной смеси (1 мкг препарата, конъюгированного с квасцами) четырех серотипов DENV, инактивированных в 0,05%-ом растворе формалина [49] и для ДНК-вакцины, содержащей гены prM и E каждого вирусного серотипа [47]. Ожидается переход к клиническим испытаниям самых перспективных из этих препаратов.

### 2.2. Реплицирующиеся вирусные вакцины

Живые аттенуированные вирусы (live-attenuated viruses, LAVs) создаются путем снижения вирулентности патогена без ущерба для его

репликации. Такие препараты должны генерировать полноценный иммунный ответ у вакцинированных, т.к. известно, что во время естественной инфекции за защиту отвечают антитела, специфически направленные как против структурных, так и неструктурных белков DENV [37]. Способы получения LAVs против DENV включают аттенуирование путем последовательного пассирования вируса на клеточных линиях или целенаправленного мутагенеза, а также путем конструирования химерных вирусов. Преимущества таких вакцин – низкая себестоимость производства и долгосрочный иммунитет. Недостатки: трудности в ослаблении инфекционности вирионов, генетическая нестабильность, возможность реверсии к дикому генотипу, а также интерференция в случае многокомпонентного состава [37]. Тем не менее в настоящее время две живые аттенуированные вакцины находятся на поздних стадиях разработки – LATVΔ30 (live-attenuated tetravalent vaccine) с делецией 30 н.о. в 3'-нетраскрибируемой области генома (производства США) и TDV (tetravalent dengue vaccine, ранее называемая DENVax, химера на основе аттенуированного штамма DENV-2, производства США и Японии), а третья – CYD-TDV (chimeric yellow fever-dengue, CYD-tetravalent dengue vaccine, химера на основе живой аттенуированной вакцины против YFV, производства Франции) после завершения фазы III испытаний прошла долгосрочное наблюдение в течение 5 лет [22].

#### 2.2.1. LAVs, аттенуированные путем последовательных пассажей

Научная группа Университета Mahidol в Тайване впервые разработала живую аттенуированную четырехвалентную вакцину путем последовательных пассажей вирусов на сертифицированных первичных клеточных культурах. Инфекционность серотипов 1, 2 и 4 DENV была ослаблена в первичных клетках почки собаки (primary dog kidney, PDK), тогда как серотип 3 был последовательно пассирован в перевиваемых клетках почки африканской зеленой марышки (линия Vero). Вакцины-кандидаты были тестированы в виде одновалентных (один вирус), двухвалентных, трехвалентных и четырехвалентных (все четыре серотипа вируса) препаратов на добровольцах из Таиланда. Показана иммуногенность препаратов как у взрослых, так и у детей, но отмечалась повышенная частота побочных реакций, таких как лихорадка, сыпь, миалгия и ретроорбитальная боль, в первую очередь связанных с вакцинным штаммом DENV-3. Дальнейшее испытание этих LAVs на людях было остановлено [6]. Другая четырехвалентная LAV была разработана в WRAIR (Walter Reed Army Institute of Research, исследовательский институт армии США имени Уолтера Рида). Этот препарат оценивался в клинических испытаниях в сотрудничестве с британской фармацев-

тической компанией GlaxoSmithKline (GSK). Все четыре серотипа DENV (штаммы 45AZ5 DENV-1, S16803 DENV-2, CH53489 DENV-3, 341750 DENV-4) были аттенуированы путем их пассирования в первичных клетках почки собаки. Во время клинических испытаний фазы II (оценка на безопасность и иммуногенность) этот четырехвалентный препарат, названный как F17/Pre, при подкожном введении в дельтовидную мышцу взрослым американским добровольцам в дозе от  $10^3$  до  $10^5$  БОЕ/мл (бляшкообразующих единиц в миллилитре), приводил к вакцинно-индуцированной виремии на 10-е сутки после первой иммунизации. При повторной иммунизации виремия не была обнаружена [51]. Испытание безопасности и иммуногенности четырехвалентной вакцины WRAIR/GSK на основе F17/Pre, было проведено в отделении педиатрии больницы г. Бангкок (Таиланд) на группе, состоящей из 51-го здорового ребенка в возрасте 12-15 месяцев. Этот возрастной диапазон был выбран как самый ранний момент времени для индукции потенциально защитного иммунного ответа против DENV, не модифицированного материнскими антителами, функции которых ослабевают к 12 месяцам жизни. Вакцина WRAIR/GSK, введенная в виде двух доз с интервалом в 6 месяцев детям с флавивирусной наивностью (т.е. они были неиммунны к DENV и JEV) была, со слов авторов статьи, в целом хорошо переносимой. При этом отмечалось наличие лихорадки у 20 реципиентов с температурой тела  $38^\circ\text{C}$  и выше. Семь испытуемых имели виремию на 10-е сутки после первой вакцинации (пятеро по DENV-4 и двое по DENV-2). В течение 30-суточного периода наблюдения после каждой дозы вакцины наиболее частыми побочными проявлениями была сыпь и лимфаденопатия (цервикальная, паховая или оба вида). У одного ребенка имелись признаки поражения печени, проявляющиеся повышением концентрации аминотрансфераз. Доказательства повреждения печени были наиболее заметны после введения второй дозы вакцины и были связаны с обнаружением низких титров DENV-4 [58].

### 2.2.2. LAVs, аттенуированные мутагенезом

Стратегия 30-нуклеотидной делеции ( $\Delta 30$ ) в районе 172-143 п.н. 3'-нетранслируемой области (untranslated region, UTR) генома DENV для получения подходящей аттенуированной четырехвалентной вакцинной композиции является привлекательным подходом. Таким образом обеспечивается ослабление инфекционности вирионов, при сохранении всех структурных и неструктурных вирусных белков в составе каждого из четырех компонентов четырехвалентного препарата, способных вызывать полноценный гуморальный и клеточный иммунный ответ. Кроме того, делеционные мутации генетически более стабильны, чем точечные мутации, поэтому

реверсия аттенуированного вирусного фенотипа маловероятна [18].

Вакцина LATV $\Delta 30$  (в двух композициях TV003/TV005, отличающихся по дозам аттенуированного штамма Tonga/74 DENV-2, но содержащих одинаковые дозы DENV-1, 3 и 4 – штаммы Western Pacific, Sleman/78 и Dominica/814669/1981 соответственно), совместно разработанная государственным биомедицинским научно-исследовательским центром Бутантан (Butantan, Бразилия) и Национальным институтом здравоохранения США в Мариленде, прошла фазу III испытаний на взрослых добровольцах, имеющих флавивирусные антитела (против DENV, YFV, WNV, SLEV или JEV) при подкожном введении по 0,5 мл дважды (на 0 и 180-е сутки). Показано, что каждый из компонентов тетравалентного препарата индуцирует гомотипический антительный ответ. После первой иммунизации у большинства испытуемых (66%) появилась сыпь и у многих испытуемых (76%) детектировалась виремия. Авторы считают, что ранее существовавшие антитела к любому из флавивирусов, возможно, могли играть роль в транзитном усилении виремии при применении вакцины DENV на серотип-специфической основе [59]. По данным этих же авторов [59], проводится оценка TV003/TV005 на людях в популяциях Таиланда и Бразилии на эндемичных территориях. Вакцина лицензирована для отечественных производителей в Бразилии (Instituto Butantan), Вьетнаме (Vabiotech) и Индии (Panacea Biotec and Serum Institute of India).

### 2.2.3. Химерные LAVs

Химерные вакцины против DENV разрабатываются с использованием двух подходов. В первом случае препарат получают при совместной репликации целевого штамма DENV с другим аттенуированным штаммом DENV (интертипичная химера), во втором – с антигенно-родственным аттенуированным флавивирусом [37].

DENVax является примером использования химерного варианта, разработанного компанией Inviragen Inc., в Форт Коллинсе (США). Штамм DENV-2 (16681, Таиланд) был аттенуирован в результате 53-х пассажей на культуре первичных клеток почки собаки. Поскольку мутации в аттенуированном штамме обнаружены в генах неструктурных белков, аттенуированный препарат использовали в качестве компонента DENV-2 в четырехвалентной рецептуре и в качестве основы для замены генов rgM и E этого штамма соответствующими генами из штаммов DENV-1 (16007, Таиланд), DENV-3 (16562, Филиппины) и DENV-4 (1036, Индонезия). Полученные таким образом химерные вирусы обладали чувствительным к температуре фенотипом, сниженной репликацией в клеточных линиях комаров, высокой степенью генетической стабильности и отсутствием нейровирулентности у мышей-сосунков [36]. Без-

опасность и иммуногенность препарата тетравалентного DENVax были оценены при подкожном введении  $10^5$  БОЕ/0,5 мл 5–8-недельным иммунодефицитным мышам линии AG129, не имеющих генов рецепторов для IFN $\alpha$ , IFN $\beta$  и IFN $\gamma$ . Препарат DENVax вызывал у животных ограниченную виремию, индуцировал синтез нейтрализующих антител (специфичных ко всем четырем серотипам DENV) и обеспечивал полную защиту от клинических признаков заболевания при внутрибрюшинном заражении дикими типами DENV-1 (штамм Mochizuki) либо DENV-2 (штамм New Guinea C) в дозах  $10^6$  БОЕ/0,1 мл [11]. Тетравалентный DENVax также был протестирован на безопасность, иммуногенность и эффективность на приматах вида *synomolgus* (*Macaca fascicularis*) возраста 6–8 лет, сыворотки крови которых не обладали реактивностью в отношении флавивирусов. Подкожное введение препарата в дозе  $10^5$  БОЕ/мл каждого серотипа хорошо переносилось этими животными. Антитела, нейтрализующие все четыре серотипа DENV, появились после одного или двух введений вакцины (на 0 и 60-е сутки). Все иммунизированные животные были защищены от виремии при заражении штаммами дикого типа в дозах  $10^5$  БОЕ/0,5 мл на 30-е сутки после второй иммунизации [44].

Для оценки различий в иммуногенности и/или интерференции между серотипами DENV были приготовлены три четырехвалентные вакцинные композиции, состоящие из различных соотношений отдельных компонентов DENVax: препарат № 1 содержал  $10^3$  БОЕ/мл каждого из четырех вирусов на одну дозу; препарат № 2 –  $10^3$  БОЕ/мл DENV-1 и DENV-2, но более высокие титры ( $10^5$  БОЕ/мл) DENV-3 и DENV-4 на одну дозу; препарат № 3 –  $10^5$  БОЕ/мл каждого из четырех вирусов DENVax на одну дозу. Было отмечено, что при подкожном введении макакам серотип DENV-2 является доминирующим компонентом живой химерной вакцины, но его репликативный потенциал снижается за счет увеличения концентрации компонентов DENV-3 и DENV-4. Таким образом, снижение уровня DENV-2-индуцированной виремии из-за изменения дозы других штаммов указывает на вирусную интерференцию. Кроме того, было обнаружено, что титры нейтрализующих антител, специфичных к DENV-4, были значительно ниже, чем против трех других видов вирусов, но, несмотря на это, приматы были защищены от инфицирования как штаммом DENV-4 дикого вида, как и от всех других серотипов DENV [44].

Для исследований DENVax фазы I в Колумбии были выбраны 96 здоровых мужчин и женщин в возрасте 18–45 лет с отрицательными серологическими результатами на антитела ко всем серотипам DENV, а также к YFV, WNV, гепатитам В и С, ВИЧ. Препараты вакцины вводили подкожно

но (по 0,5 или 0,1 мл) в дельтовидную мышцу в виде двух доз с интервалом в 90 суток. Низкодозовые препараты DENVax1, DENVax2, DENVax3 и DENVax4 содержали  $8 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$  и  $2 \times 10^5$  БОЕ на одну дозу соответственно. Высокодозовые композиции содержали  $2 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ , и  $3 \times 10^5$  БОЕ этих препаратов на одну дозу. Исследования показали, что кандидатный вакцинный препарат безопасен и иммуногенен против всех четырех серотипов DENV. Титры нейтрализующих антител, вызванные четырехвалентным DENVax, отличались – самыми низкими были против DENV-4 и самыми высокими против DENV-2. (Примечательно, что эти результаты подтвердили данные, полученные ранее в исследовании на нечеловекообразных приматах). Инфекционные вирусы DENVax были обнаружены только у десяти (25%) из 40 участников в группе низких доз и у 13 (33%) из 39-ти участников в группе высоких доз. Также отмечены приемлемая переносимость и иммуногенность препаратов четырехвалентного DENVax у здоровых взрослых людей, ранее не имевших иммунного ответа к флавивирусам [45]. Японская фармацевтическая компания Takeda приобрела лицензию на производство DENVax (Inviragen Inc.) под названием TDV (tetraivalent dengue vaccine) и проводит интенсивные клинические испытания этого препарата [22].

Dengvaxia (или CYD-TDV, т.е. chimeric yellow fever-dengue – tetraivalent dengue vaccine) разработана международной фармацевтической компанией Sanofi Pasteur, одним из четырех мировых производителей вакцины против YFV [28, 29]. Эта четырехвалентная химерная вакцина против DENV, сконструирована путем замены структурных генов (Е и рgМ) живой аттенуированной вакцины против YFV 17D структурными генами из каждого серотипа DENV. Каждый моновалентный CYD представлен родительским штаммом: DENV-1 – PUO-359/TVP-1140 (Таиланд), DENV-2 – PUO-218 (Таиланд), DENV-3 – РаН881/88 (Таиланд) и DENV-4 – 1228(TVP-980, Индонезия) соответственно, которые культивировались на клетках Vero и объединялись в единую вакцинную композицию. Геномы CYD (DENV-1-4) были полностью секвенированы на различных стадиях производства, начиная с первых пассажей и до позднего этапа. Вакцинный препарат содержит по  $5 \log_{10}$  CCID<sub>50</sub> (cell-culture infections dose 50%, 50%-ной инфекционной дозы для клеток) каждого химерного типа DENV и рекомендован для подкожной инъекции в трех дозах с интервалом в 6 месяцев [52]. Доклинические испытания вакцины проводили на макаках (*Macaca mulatta* и *Macaca fascicularis*), т.к. у этих животных воссоздается клинический фенотип DF. Однократная доза CYD-TDV вводилась приматам подкожно и, в результате, была выявлена

сероконверсия нейтрализующих антител, специфичных к каждому вирусному серотипу. При инфицировании дикими штаммами DENV через 6 месяцев после иммунизации 22 макаки из 24-х были защищены от виремии [25]. При оценке интерференции между моновалентными CYD на макаках было выявлено, что при их одинаковой концентрации ( $5 \log_{10}$  CCID<sub>50</sub>) нейтрализующий антительный ответ преимущественно вызывал серотип DENV-4. При уменьшении дозы DENV-4 повышался синтез антител, нейтрализующих DENV-1 [26]. Антитела сывороток крови, собранные через две недели после вакцинации приматов с Dengvaxia, *in vitro* нейтрализовали широкий спектр циркулирующих серо- и генотипов DENV [7].

Безопасность и иммуногенность Dengvaxia была изучена в многочисленных клинических испытаниях, включая взрослых добровольцев до 60-ти лет и детей в возрасте от 9 месяцев в Азии, Латинской Америке и США [52]. Dengvaxia – это первая лицензированная вакцина против DENV (2015 г.) и одобренная для применения в Бразилии, Мексике и на Филиппинах, хотя защита от серотипов 3 и 4 DENV составляет 72% и 77% соответственно, а против серотипов 1 и 2 всего – 40% и 50% соответственно (из числа испытуемых). Такой уровень защиты может считаться низким, особенно по сравнению с протективностью 95% и даже 100%, для вакцин, используемых для профилактики желтой лихорадки, гепатита В, краснухи, кори, паротита и столбняка [27]. Кроме того, в ходе трех клинических испытаний с участием более 35 тыс. детей в возрасте от 2 до 16 лет в странах Азиатско-Тихоокеанского региона и Латинской Америки показано, что эффективность Dengvaxia зависит от серологического статуса прививаемого лица [31], т.е. вакцина безопасна только для людей, ранее переболевших DF и может быть причиной развития тяжелой болезни у тех, кто впервые подвергается естественному инфицированию DENV после вакцинации. Сообщается, что Dengvaxia использовалась на Филиппинах для вакцинации 9-16-летних школьников, живущих в районах с высокой эндемичностью DF. После того, как около 830 тыс. детей получили, по крайней мере, одну из трех рекомендованных доз, были зарегистрированы случаи усиления заболевания у вакцинированных [20].

В 2019 г. бразильскими учеными был проведен систематический анализ литературы по эффективности CYD-TDV и результаты показали низкую эффективность этого препарата, особенно против серотипов 1 и 2. В результате был сделан вывод о том, что вакцина не защитит население в Бразилии, т.к. на территории этой страны в 2015 г. было зафиксировано преобладание распространенности серотипа DENV-1 (93,8%), по

сравнению с серотипами DENV-4, DENV-2 и DENV-3 – 5,1%, 0,7% и 0,4% соответственно [15].

Основываясь на недавних исследованиях Dengvaxia, высказано предположение, что эта конструкция, лишенная неструктурных белковых антигенов DENV, не защищает серонегативных реципиентов, поскольку она не обеспечивает формирование сбалансированного Т-клеточного ответа и/или синтез антител, специфичных к неструктурному белку NS1, играющему важную роль в репликации генома и развитии иммунного ответа. Также возможно, что химерная структура вириона не способствует правильной конформации белка Е – основной мишени протективного иммунитета [32]. Гетерогенность вирионов в препаратах CYD-TDV по степени их «созревания» (т.е. конформационной укладки молекул белка Е в 90 гомодимеров, которые лежат плоско на поверхности зрелого вириона, из 60 тримерных поверхностных шипов незрелых вирусных частиц) и, соответственно, по экспонируемым конформационным эпитопам, также, вероятнее всего, влияет на спектр защитных антител [22]. Кроме того, известно, что лишь небольшая часть общего количества DENV-специфических антител при естественной инфекции состоит из высоконейтрализующих антител [19].

Для получения полезной информации о вирусных эпитопах, вызывающих синтез широко нейтрализующих антител, в плане разработки безопасной вакцины против DENV, исследуются панели моноклональных антител (МКА) различного происхождения – гибридомные мышиные, рекомбинантные химерные (мышь/человек, примат/человек) и/или полностью человеческие [50]. Некоторые из МКА структурно охарактеризованы с помощью рентгеновской кристаллографии и криоэлектронной микроскопии. Например, показано, что нейтрализующие человеческие МКА1F4, HM14c10 и 2D22, специфичные к DENV-1 и -2, связываются с четвертичными эпитопами, находящимися на границе раздела двух мономеров или димеров белка Е [22]. Методом криоэлектронной микроскопии с разрешением 9 исследован комплекс белка Е с Fab МКА 5J7, которые способны нейтрализовать на 50% DENV-3 при концентрации антител в диапазоне нанограмм. По структуре иммунного комплекса оказалось, что одна молекула Fab взаимодействует с тремя белками Е и, соответственно, с тремя функционально важными доменами каждого из трех вирусных белков, имеющих решающее значение для связывания клеточных рецепторов и слияния с эндосомальной мембраной. Способность этих антител связываться с несколькими доменами позволяет им полностью покрыть поверхность вируса 60-ю копиями Fab, т.е. вдвое меньшим количеством по сравнению с другими МКА, описанными в литературе [19].

Интересно, что МКА 5J7 обладают профилактической и терапевтической активностью на мышечной модели DF [50]. Механизм генерации таких эффективных антител пока недостаточно изучен. Остается не ясным вопрос — происходят ли они из клеток памяти, перекрестно взаимодействующих с разными видами DENV и индуцированных первичной инфекцией, затем активированных и созревающих при повторной инфекции, или это продукты небольшой популяции уже зрелых клеток памяти. В связи с этим, поиск и изучение четвертичных эпитопов белка E четырех вирусных серотипов должны быть приоритетными при разработке вакцин следующего поколения [22]. Важно также извлечь уроки из результатов таких исследований, т.к. в настоящее время против SARS-CoV-2 экстренно разрабатываются вакцины на разных платформах и уже тестируются на людях. Пока отсутствуют клинические данные, указывающие на ADE как результат патогенности при COVID-19, но этот механизм возможен из-за циркуляции антигенно-родственных человеческих коронавирусов или появления мутантных штаммов SARS-CoV-2 [54] как в ситуации с серотипами DENV.

## Заключение

Анализ литературы показал, что вакцины против DF на основе живых аттенуированных и химерных вирусов предпочтительнее репликативных препаратов, т.к. генерируют у вакцинированных животных и людей полноценный иммунный ответ в виде антител, специфически направленных как против структурных, так

и против неструктурных белков DENV. Одна из приоритетных задач, поставленных ВОЗ в 2012 г. — снижение смертности от DF к 2020 г. на 50% за счет использования однократно вводимой вакцины, вызывающей длительный иммунитет, защищающей от всех четырех серотипов DENV и не имеющей серьезных побочных эффектов, осталась невыполненной. Единственная лицензированная вакцина Dengvaxia, полученная путем замены структурных генов (E и prM) живой аттенуированной вакцины против YFV 17D структурными генами каждого серотипа DENV, из-за интерференции между вирусными серотипами и несбалансированного иммунного ответа, оказалась опасной для серонегативных лиц в результате феномена антитело-зависимого усиления инфекции при повторном инфицировании гетерологичным вирусным серотипом. Возможно, что необходимо учитывать, что DENV, имеющие РНК-геном, имеют высокую частоту мутаций и совместная циркуляция нескольких серотипов, индуцирующих синтез разного набора нейтрализующих антител, повышает вероятность таких событий и появление новых генотипов. Исследования антигенной структуры иммуногенных белков DENV с помощью МКА, узнающих четвертичные эпитопы, находящиеся на границе раздела двух мономеров или димеров белка E, должны быть приоритетными при разработке вакцин следующего поколения.

### Конфликт интересов

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

## Список литературы / References

1. Международный комитет по таксономии вирусов. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode\\_id=19790162&src=NCBI&ictv\\_id=19790162](https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=19790162&src=NCBI&ictv_id=19790162) (дата обращения: 29.08.2020). [Virus Taxonomy. International website [Electronic resource]. Access mode: [https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode\\_id=19790162&src=NCBI&ictv\\_id=19790162](https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=19790162&src=NCBI&ictv_id=19790162) (date of the application 29.08.2020)].
2. Сайфуллин М.А., Келли Е.И., Базарова М.В., Ларичев В.Ф., Карань Л.С., Акиншина Ю.А., Бутенко А.М. Случай лихорадки денге с летальным исходом // Эпидемиология и инфекционные болезни, 2015. № 2. С. 49-51. [Sayfullin M.A., Kelly E.I., Bazarova M.V., Larichev V.F., Karan L.S., Akinshina Yu.A., Butenko A.M. Dengue fever fatal case. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2015, no. 2, pp. 49-51. (In Russ.)].
3. Роспотребнадзор. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.55.rospotrebnadzor.ru/news> (дата обращения: 20.08.2020). [Rosspotrebnadzor [Electronic resource]. Access mode: <http://www.55.rospotrebnadzor.ru/news> (date of the application 20.08.2020)].
4. Alcon S., Talarmin A., Debruyne M., Falconar A., Deubel V., Flamand M. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, Vol. 40, no. 2, pp. 376-381.
5. Anasir M.I., Ramanathan B., Poh C.L. Structure-Based Design of Antivirals against Envelope Glycoprotein of Dengue Virus. *Viruses*, 2020, Vol. 12, no. 4, pii: E367. doi: 10.3390/v1204036.
6. Balas C., Kennel A., Deauvieux F., Sodoier R., Arnaud-Barbe N., Lang J., Guy B. Different innate signatures induced in human monocyte-derived dendritic cells by wild-type dengue 3 virus, attenuated but reactogenic

dengue 3 vaccine virus, or attenuated nonreactogenic dengue 1-4 vaccine virus strains. *J. Infect. Dis.*, 2011, Vol. 203, no. 1, pp. 103-108.

7. Barban V., Munoz-Jordan J.L., Santiago G.A., Mantel N., Girerd Y., Gulia S., Claude J.-B., Lang J. Broad neutralization of wild-type dengue virus isolates following immunization in monkeys with a tetravalent dengue vaccine based on chimeric yellow fever 17D/dengue viruses. *Virology*, 2012, Vol. 429, no. 2, pp. 91-8.

8. Begum F., Das S., Mukherjee D., Mal S., Ray U. Insight into the Tropism of Dengue Virus in Humans. *Viruses*, 2019, Vol. 11, no. 12, pii: E1136. doi: 10.3390/v11121136.

9. Bosch I., Reddy A., de Puig H., Ludert J.E., Perdomo-Celis F., Narváez C.F., Versiani A., Fandos D., Nogueira M.L., Singla M., Lodha R., Medigeshi G.R., Lorenzana I., Ralde H.V., Gélvez-Ramírez M., Villar L.A., Hiley M., Mendoza L., Salcedo N., Herrera B.B., Gehrke L. Serotype-specific detection of dengue viruses in a nonstructural protein 1-based enzyme-linked immunosorbent assay validated with a multi-national cohort *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2020, Vol. 14, no. 6, e0008203. doi: 10.1371/journal.pntd.0008203.

10. Brady O.J., Gething P.W., Bhatt S., Messina J.P., Brownstein J.S., Hoen A.G., Moyes C.L., Farlow A.W., Scott T.W., Hay S.I. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2012, Vol. 6, e1760. doi:10.1371/journal.pntd.0001760.

11. Brewoo J.N., Kinney R.M., Powell T.D., Arguello J.J., Silengo S.J., Partidos C.D., Huang C.Y., Stinchcomb D.T., Osorio J.E. Immunogenicity and efficacy of chimeric dengue vaccine (DENVax) formulations in interferon-deficient AG129 mice. *Vaccine*, 2012, Vol. 30, no. 8, pp. 1513-1520.

12. Burnette W.N., Hoke C.H.Jr., Scovill J., Clark K., Abrams J., Kitchen L.W., Hanson K., Palys T.J., Vaughn D.W. Infectious diseases investment decision evaluation algorithm: a quantitative algorithm for prioritization of naturally occurring infectious disease threats to the US military. *Mil. Med.*, 2008, Vol. 173, pp. 174-181.

13. Chen R., Vasilakis N. Dengue – quo tu et quo vadis? *Viruses*, 2011, Vol. 3, no. 9, pp. 1562-608.

14. Cuong H.Q. Quantifying the emergence of dengue in Hanoi, Vietnam: 1998-2009. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2011, Vol. 5, e1322. doi: 10.1371/journal.pntd.0001322.

15. da Silveira L.T.C., Tura B., Santos M. Systematic review of dengue vaccine efficacy. *BMC Infect. Dis.*, 2019, Vol. 19, no. 1, 750. doi: 10.1186/s12879-019-4369-5.

16. Dallimore T., Hunter T., Medlock J.M., Vaux A.G.C., Harbach R.E., Strode C. Discovery of a single male *Aedes aegypti* (L.) in Merseyside, England. *Parasit. Vectors*, 2017, Vol. 10, no. 1, 309. doi:10.1186/s13071-017-2251-0.

17. de la Guardia C., Leonart R. Progress in the identification of dengue virus entry/fusion inhibitors. *BioMed Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 825039. doi: 10.1155/2014/825039.825039.

18. Durbin A.P., Karron R.A., Sun W., Vaughn D.W., Reynolds M.J., Perreault J.R., Thumar B., Men R., Lai C.J., Elkins W.R., Chanock R.M., Murphy B. R., Whitehead S.S.. Attenuation and immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in its 3'-untranslated region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2001, Vol. 65, no. 5, pp. 405-413.

19. Fibriansah G., Tan J.L., Smith S.A., de Alwis R., Ng T.-S., Kostyuchenko V.A., Jadi R.S., Kukkaro P., de Silva A.M., Crowe J.E., Lok S.-M. A highly potent human antibody neutralizes dengue virus serotype 3 by binding across three surface proteins. *Nat. Commun.*, 2015, Vol. 6, 6341. doi: 10.1038/ncomms7341.

20. Flasche S., Wilder-Smith A., Hombach J., Smith P.G.. Estimating the proportion of vaccine induced hospitalized dengue cases among Dengvaxia vaccinees in the Philippines. *Wellcome Open Res.*, 2019, Vol. 4, 165. doi: 10.12688/wellcomeopenres.15507.1.

21. Friberg H., Martinez L.J., Lin L., Blaylock J.M., De La Barrera R.A., Rothman A.L., Putnak J.R., Eckels K.H., Thomas S.J., Jarman R.G., Currier J.R. Cell-Mediated Immunity Generated in Response to a Purified Inactivated Vaccine for Dengue Virus Type 1. *mSphere*, 2020, Vol. 5, no. 1, pii: e00671-19. doi: 10.1128/mSphere.00671-19.

22. Galula J.U., Salem G.M., Chang G.-J.J., Chao D.-Y. Does structurally-mature dengue virion matter in vaccine preparation in post-Dengvaxia era? *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2019, Vol. 15, no. 10, pp. 2328-2336.

23. Gibbons R.V., Streitz M., Babina T., Fried J.R. Dengue and US military operations from the Spanish-American War through today. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012, Vol. 18, no. 4, pp. 623-630.

24. Gubler D.J. Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status. *Novartis Found. Symp.*, 2006, Vol. 277, pp. 3-16.

25. Guirakhoo F., Pugachev K., Zhang Z., Myers G., Levenbook I., Draper K., Lang J., Ocran S., Mitchell F., Parsons M., Brown N., Brandler S., Fournier C., Barrere B., Rizvi F., Travasso A., Nichols R., Trent D., Monath T. Safety and efficacy of chimeric yellow fever-dengue virus tetravalent vaccine formulations in nonhuman primates. *J. Virol.*, 2004, Vol. 78, no. 9, pp. 4761-4775.

26. Guirakhoo F., Pugachev K., Arroyo J., Miller C., Zhang Z.-X., Weltzin R., Georgakopoulos K., Catalan J., Ocran S., Draper K., Monath T.P. Viremia and immunogenicity in nonhuman primates of a tetravalent yellow fever-dengue chimeric vaccine: genetic reconstructions, dose adjustment, and antibody responses against wild-type dengue virus isolates. *Virology*, 2002, Vol. 298, no. 1, pp. 146-159.

27. Guy B., Jackson N. Dengue vaccine: hypotheses to understand CYD-TDV- induced protection. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2016, Vol. 14, no. 45-54.

28. Guy B., Saville M., Lang J. Development of sanofi pasteur tetravalent dengue vaccine. *Hum. Vaccin.*, 2010, Vol. 6, no. 9, pp. 696-705.

29. Guy B., Noriega F., Ochiai R.L., Lazou M., Delore V., Skipetrova A., Verdier F., Coudeville L., Savarino S., Jackson N. A recombinant live attenuated tetravalent vaccine for the prevention of dengue. *Expert Rev. Vaccines*, 2017, Vol. 16, no. 7, pp. 1-13.

30. Guzman M.G., Harris E. Dengue. *Lancet*, 2015, Vol. 385, no. 9966, pp. 453-465.
31. Hadinegoro S.R., Arredondo-García J.L., Capeding M.R., Deseda C., Chotpitayasunondh T., Dietze R., Muhammad Ismail H.I., Reynales H., Limkittikul K., Rivera-Medina D.M., Tran H.N., Bouckennooghe A., Chansinghakul D., Cortés M., Fanouillere K., Forrat R., Frago C., Gailhardou S., Jackson N., Noriega F., Plennevaux E., Wartel T.A., Zambrano B., Saville M.; CYD-TDV Dengue Vaccine Working Group. Efficacy and Long-Term Safety of a Dengue Vaccine in Regions of Endemic Disease. *N. Engl. J. Med.*, 2015, Vol. 373, no. 13, pp. 1195-206.
32. Halstead S.B. Which Dengue Vaccine Approach Is the Most Promising, and Should We Be Concerned about Enhanced Disease after Vaccination? There Is Only One True Winner. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2018, Vol. 10, no. 6, a030700. doi: 10.1101/cshperspect.a030700.
33. Halstead S., Wilder-Smith A. Severe dengue in travellers: pathogenesis, risk and clinical management. *J. Travel Med.*, 2019, Vol. 26, no. 7, taz062. doi: 10.1093/jtm/taz062.
34. Holbrook M.R. Historical Perspectives on Flavivirus Research. *Viruses*, 2017, Vol. 9, no. 5, pii:E97. doi: 10.3390/v9050097.
35. Holmes E.C., Twiddy S.S. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. *Infect. Genet. Evol.*, 2003, Vol. 3, no. 1, pp. 19-28.
36. Huang C. Y.-H., Butrapet S., Tsuchiya K. R., Bhamarapravati N., Gubler D. J., Kinney R.M. Dengue 2 PDK-53 virus as a chimeric carrier for tetravalent dengue vaccine development. *Virology*, 2003, Vol. 77, no. 21, 11436-11447.
37. Khetarpal N., Khanna I. Dengue Fever: Causes, Complications, and Vaccine Strategies. *Immunol. Res.*, 2016, Vol. 2016, 6803098. doi: 10.1155/2016/6803098.
38. Kraemer M.U., Sinka M.E., Duda K.A., Mylne A., Shearer F.M., Brady O.J., Messina J.P., Barker C.M., Moore C.G., Carvalho R.G., Coelho G.E., van Bortel W., Hendrickx G., Schaffner F., Wint G.R., Elyazar I.R., Teng H.J., Hay S.I. The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence. *Elife*, 2015, no. 4, e08347. doi: 10.7554/eLife.08347.
39. Kyle J.L., Harris E. Global spread and persistence of dengue. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2008, Vol. 62, pp. 71-92.
40. Messina J.P., Brady O.J., Scott T.W., Zou C., Pigott D.M., Duda K.A., Bhatt S., Katzelnick L., Howes R.E., Battle K.E., Simmons C.P., Hay S.I. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *Trends Microbiol.*, 2014, Vol. 22, no. 3, pp. 138-146.
41. Modis Y., Ogata S., Clements D., Harrison S.C. Variable surface epitopes in the crystal structure of dengue virus type 3 envelope glycoprotein. *J. Virol.*, 2005, Vol. 79, no. 2, pp. 1223-1231.
42. Mustafa M.S., Rasotgi V., Jain S., Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. *Med. J. Armed Forces India*, 2015, Vol. 71, no. 1, pp. 67-70.
43. News Science. Dengue vaccine fiasco leads to criminal charges for researcher in the Philippines. Available at: <https://www.sciencemag.org/news/2019/04/dengue-vaccine-fiasco-leads-criminal-charges-researcher-philippines> (20.08.2020).
44. Osorio J.E., Brewoo J.N., Silengo S.J., Arguello J., Moldovan I.R., Tary-Lehmann M., Powell T.D., Livengood J.A., Kinney R.M., Huang C.Y., Stinchcomb D.T. Efficacy of a tetravalent chimeric dengue vaccine (DENVax) in Cynomolgus macaques. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2011, Vol. 84, no. 6, pp. 978-987.
45. Osorio J.E., Velez I.D., Thomson C., Lopez L., Jimenez A., Haller A.A., Silengo S., Scott J., Boroughs K.L., Stovall J.L., Luy B.E., Arguello J., Beatty M.E., Santangelo J., Gordon G.S., Huang C.Y., Stinchcomb D.T. Safety and immunogenicity of a recombinant live attenuated tetravalent dengue vaccine (DENVax) in flavivirus-naïve healthy adults in Colombia: a randomised, placebo-controlled, phase 1 study. *Lancet Infect. Dis.*, 2014, Vol. 14, no. 9, pp. 830-838.
46. Priyamvada L., Quicke K.M., Hudson W.H., Onlamoon N., Sewatanon J., Edupuganti S., Pattanapanyasat K., Chokephaibulkit K., Mulligan M.J., Wilson P.C., Ahmed R., Suthar M.S., Wrammert J. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2016, Vol. 113, no. 28, pp. 7852-857.
47. Raviprakash K., Luke T., Doukas J., Danko J., Porter K., Burgess T., Kochel T. A dengue DNA vaccine formulated with Vaxfectin® is well tolerated, and elicits strong neutralizing antibody responses to all four dengue serotypes in New Zealand white rabbits. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2012, Vol. 8, no. 12, pp. 1764-1768.
48. Report World Health Organization: Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020. 43 p. Publication date: August 2012. Available at: <https://www.who.int/denguecontrol/9789241504034/en/> (20.08.2020).
49. Schmidt A.C., Lin L., Martinez L.J., Ruck R.C., Eckels K.H., Collard A., de la Barrera R., Paolino K.M., Toussaint J.F., Lepine E., Innis B.L., Jarman R.G., Thomas S.J. Phase 1 Randomized Study of a Tetravalent Dengue Purified Inactivated Vaccine in Healthy Adults in the United States. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2017, Vol. 96, no. 6, pp. 1325-1337.
50. Sun H., Chen Q., Lai H. Development of Antibody Therapeutics against Flaviviruses. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, Vol. 19, no. 1, pii: E54. doi:10.3390/ijms19010054.
51. Sun W., Cunningham D., Wasserman S.S., Perry J., Putnak J.R., Eckels K.H., Vaughn D.W., Thomas S.J., Kanasa-Thasan N., Innis B.L., Edelman R. Phase 2 clinical trial of three formulations of tetravalent live-attenuated dengue vaccine in flavivirus-naïve adults. *Hum. Vaccin.*, 2009, Vol. 5, no. 1, pp. 33-40.
52. Thomas S.J., Yoon I.-K. A review of Dengvaxia®: development to deployment. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2019, Vol. 15, no. 10, pp. 2295-2314.
53. Tsai W.Y., Lin H.E., Wang W.K. Complexity of human antibody response to dengue virus: implication for vaccine development. *Front. Microbiol.*, 2017, Vol. 8, 1372. doi: 10.3389/fmicb.2017.01372

54. Ulrich H., Pillat M.M., Tárnok A. Dengue Fever, COVID-19 (SARS-CoV-2), and Antibody-Dependent Enhancement (ADE): A Perspective. *Cytometry A.*, 2020, Vol. 97, no. 7, pp. 662-667.
55. Vos T., Abajobir A.A., Abate K.H., Abbafati C., Abbas K.M., Abd-Allah F., Abdulkader R.S., Abdishakur M.A., Abuka Abebo T. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 2017, Vol. 390, no. 10100, pp. 1211-1259.
56. Walther D., Scheuch D.E., Kampen H. The invasive Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Germany: local reproduction and overwintering. *Acta Trop.*, 2017, Vol. 166, pp. 186-192.
57. Watanabe S., Chan K.W.K., Wang J., Rivino L., Lok S.-M., Vasudevan S.G. Dengue virus infection with highly neutralizing levels of cross-reactive antibodies causes acute lethal small intestinal pathology without a high level of viremia in mice. *J. Virol.*, 2015, Vol. 89, no. 11, pp. 5847-5861.
58. Watanaveeradej V., Simasathien S., Nisalak A., Endy T.P., Jarman R.G., Innis B.L., Thomas S.J., Gibbons R.V., Hengprasert S., Samakoses R., Kerdpanich A., Vaughn D.W., Putnak J.R., Eckels K.H., Barrera R.de L., Mammen M.P. Jr. Safety and immunogenicity of a tetravalent live-attenuated dengue vaccine in flavivirus-naïve infants. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2011, Vol. 85, no. 2, pp. 341-351.
59. Whitehead S.S., Durbin A.P., Pierce K.K., Elwood D., McElvany B.D., Fraser E.A., Carmolli M.P., Tibery C.M., Hynes N.A., Jo M., Lovchik J.M., Larsson C.J., Doty E.A., Dickson D.M., Luke C.J., Subbarao K., Diehl S.A., Kirkpatrick B.D. In a randomized trial, the live attenuated tetravalent dengue vaccine TV003 is well-tolerated and highly immunogenic in subjects with flavivirus exposure prior to vaccination. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2017, Vol. 11, e0005584. doi: 10.1371/journal.pntd.0005584.
60. Wilder-Smith A., Quam M., Sessions O., Rocklöv J., Liu-Helmerson J., Franco L., Khan K. The 2012 dengue outbreak in Madeira: exploring the origins. *Euro Surveill.*, 2014, Vol. 19, no. 8, 20718. doi: 10.2807/1560-7917.es2014.19.8.20718.
61. Wilder-Smith A. The first licensed dengue vaccine: can it be used in travelers? *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2019, Vol. 32, no. 5, pp. 394-400.

**Авторы:**

**Казачинская Е.И.** — д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск; ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

**Шаньшин Д.В.** — младший научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

**Щербаков Д.Н.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией иммунохимии отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

**Шестопалов А.М.** — д.б.н., профессор, заведующий отделом экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия

**Authors:**

**Kazachinskaya E.I.**, PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Department of Experimental Modeling of Pathogenesis of Infectious Diseases, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk; Leading Research Associate, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

**Shanshin D.V.**, Junior Research Associate, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

**Shcherbakov D.N.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

**Shestopalov A.M.**, PhD, MD (Biology), Head, Department of Experimental Modeling of Pathogenesis of Infectious Diseases, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 23.04.2021  
Принята к печати 07.11.2021

Received 23.04.2021  
Accepted 07.11.2021