

Липополисахариды – антигенная основа для вакцинации против септического и эндотоксического шока

С.В.Коробова¹, О.И.Науменко², Б.И.Алхазова¹, П.А.Стряхнин¹, Е.В.Кожина¹, М.Э.Головина¹, П.Г.Апарин¹

¹ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация;

²Институт органической химии им. Н.Д.Зелинского Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

Сепсис и его осложнение септический шок – одни из ведущих причин смертности в клинической практике. Грамотрицательные бактерии являются основными этиологическими агентами, приводящими к их развитию. Из-за растущей устойчивости бактерий к антибиотикам необходимы новые подходы для профилактики сепсиса. Превентивная вакцинация в группах риска может значительно сократить число случаев его возникновения. Липополисахарид, структурный компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, может послужить хорошей основой для противошоковых вакцин. В данном обзоре описано его строение, механизмы развития как врожденного, так адаптивного иммунного ответа при попадании липополисахарида в организм. Рассмотрены доклинические и клинические исследования кандидатных вакцинных антигенов на основе липополисахарида для профилактики сепсиса и септического шока.

Ключевые слова: липополисахарид, сепсис, эндотоксический шок, эндотоксическая толерантность, врожденный иммунитет, вакцина

Для цитирования: Коробова С.В., Науменко О.И., Алхазова Б.И., Стряхнин П.А., Кожина Е.В., Головина М.Э., Апарин П.Г. Липополисахариды – антигенная основа для вакцинации против септического и эндотоксического шока. Бактериология. 2024; 9(4): 120–129. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-120-129

Lipopolysaccharides are antigenic basis for vaccination against septic and endotoxic shock

S.V.Korobova¹, O.I. Naumenko², B.I.Alkhazova¹, P.A.Stryakhnin¹, E.V.Kozhinova¹, M.E.Golovina¹, P.G.Aparin¹

¹SRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation;

²N.D.Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Sepsis and its complication septic shock are among the key causes of mortality in clinical practice. Gram-negative bacteria are the main etiologic agents that induces their development. Due to growing resistance to antibiotics, new approaches are needed to prevent sepsis. Preventive vaccination in risk groups can significantly reduce the number of cases of its occurrence. Lipopolysaccharide, a structural component of the cell wall of gram-negative bacteria, can serve as a good basis for anti-shock vaccines. This review describes its structure, the mechanisms of development of both innate and adaptive immune responses when lipopolysaccharide enters the body. Preclinical and clinical studies of candidate vaccine antigens based on lipopolysaccharide for the prevention of sepsis and septic shock are considered.

Key words: lipopolysaccharide, sepsis, endotoxic shock, endotoxin tolerance, innate immunity, vaccine

For citation: Korobova S.V., Naumenko O.I., B.I.Alkhazova B.I., Stryakhnin P.A., Kozhinova E.V., Golovina M.E., Aparin P.G. Lipopolysaccharides are antigenic basis for vaccination against septic and endotoxic shock. Bacteriology. 2024; 9(4): 120–129. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-120-129

Для корреспонденции:

Коробова Светлана Вячеславовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории полисахаридных вакцин, отдел иммунной биотехнологии, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

Адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, корп. 2

Статья поступила 30.10.2024, принята к печати 25.12.2024

For correspondence:

Svetlana V. Korobova, PhD in Biological Sciences, laboratory of polysaccharide vaccines, department of immune biotechnology, SRC Institute of Immunology FMBA of Russia

Address: 24 b, 2 Kashirskoye highway, Moscow, 115478, Russian Federation

The article was received 30.10.2024, accepted for publication 25.12.2024

Сепсис остается одной из ведущих причин смертности в клинической практике. Всемирная организация здравоохранения дает следующее определение сепсиса: «Сепсис – это опасное состояние, которое развивается на фоне чрезмерного ответа иммунной системы организма на инфекцию. Ответная реакция организма приводит к повреждению собственных тканей и органов». Септический шок представляет собой разновидность сепсиса, при котором лежащие в основе нарушения кровообращения и клеточного метаболизма являются достаточно глубокими, что существенно увеличивают смертность [1]. Этиологическими агентами, приводящими к развитию сепсиса, являются грамположительные, грамотрицательные бактерии, анаэробные микроорганизмы и грибы, а наиболее частыми местами поражения инфекцией – легкие, брюшная полость и мочевыводящие пути [2].

Грамотрицательные бактерии (семейства *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp., *Shigella* sp.) – распространенная причина развития сепсиса у людей. Особенностью строения этих бактерий является наличие внешней мембраны клетки, основным структурным и антигенным компонентом которой является липополисахарид (ЛПС). ЛПС – сильный иммуностимулятор у млекопитающих, особенно у человека. Даже введение низких доз ЛПС человеку стимулирует развитие иммунного ответа и одновременно симптомы сеп-

тического состояния [3]. Поэтому превентивная вакцинация против грамотрицательной бактериальной инфекции в группах риска может значительно сократить количество случаев развития сепсиса и вызванных им осложнений, в т.ч. эндотоксического шока. Можно выделить следующие целевые группы для вакцин против эндотоксического шока:

- профессии, связанные с высоким риском получения травм;
- пациенты с «протекающим» кишечником (ВИЧ, операция шунтирования, лучевое поражение, химиотерапия);
- пациенты, перенесшие плановую операцию на желудочно-кишечном и генитально-уринальном трактах;
- пациенты, проходящие курс иммуносупрессии (Patients undergoing immunosuppression);
- пациенты с острыми травмами или ожогами; пациенты отделения интенсивной терапии.

Клиническое течение септических состояний, вызванных грамотрицательными бактериями, в ряде случаев может быть существенно отягощено значительной продукцией эндотоксина, эндотоксикозом, что способствует развитию септического шока.

Перспективной стратегией является противошоковая иммунизация различными структурными вариантами молекул ЛПС грамотрицательных бактерий. Данный обзор посвящен профилактике септического и эндотоксического шока.

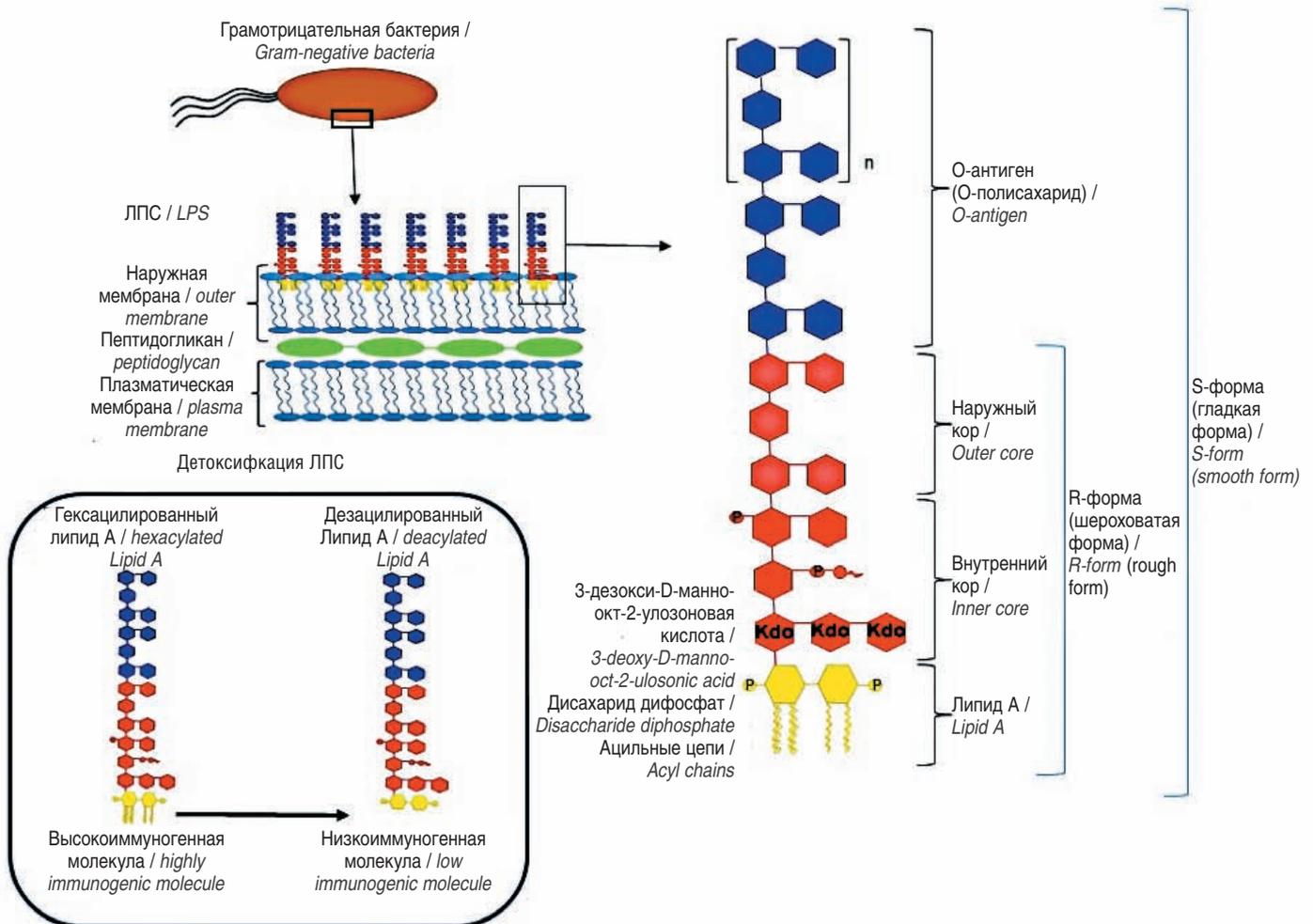


Рис. 1. Строение молекулы ЛПС.
 Fig. 1. LPS molecule structure.

Строение молекулы ЛПС

В 1890 г. Ричардом Пфайфером были введены понятия «эндотоксин» и «экзотоксин». Эндотоксинами он назвал вещества, которые образуются при распаде бактериальной клетки (ее лизисе) и являются ее структурной частью, как, например, ЛПС, который представляет собой часть клеточной мембраны. Экзотоксины – вещества, которые образуются в результате жизнедеятельности клетки [4].

Молекула ЛПС включает в себя три компонента: полисахаридная цепь (О-антиген), олигосахарид кора (центральный олигосахарид) и липид А. Структура полисахаридной цепи крайне вариабельна среди разных видов грамотрицательных бактерий, в отличие от липида А, который является консервативной молекулой (рис. 1).

О-антиген состоит из повторяющихся звеньев сахаров в форме цепи, которые являются гидрофильными. Поскольку это самая внешняя часть молекулы ЛПС, она более доступна для связывания антител, чем центральные участки молекулы ЛПС. У *Enterobacteriaceae* (например, *Escherichia coli*) полисахарид варьируется по длине и составу в зависимости от штамма бактерий и придает штамму специфичность к О-антигену. Некоторые роды бактерий обладают менее совершенной структурой ЛПС. Например, О-специфическая антигенная цепь отсутствует у патогенов слизистой оболочки, таких как *Neisseria*, *Bordetella* и *Haemophilus*, а ЛПС этих родов содержат только коровый олигосахарид.

Коровый полисахарид представляет собой неповторяющуюся цепочку моносахаридных остатков в составе ЛПС. Основные компоненты включают остатки 3-дезоксидманно-окт-2-улозоновой кислоты, гептозы и различные гексозы, и коровый олигосахарид может подвергаться модификации с помощью фосфатов и фосфоэтанолламиновых групп. В нем так же выделяют внутренние и внешние области. У рода *Chlamydia* отсутствует внешняя область, а есть только внутренняя [5].

Липид А – гидрофобный компонент ЛПС, представляющий собой дисахарид, построенный из двух остатков глюкозамина, ацилированный цепями жирных кислот. Липид А состоит из диглюкозамина, двух фосфатов и шести ацильных цепей (жирных кислот). У «симметрично» ацелированного липида А каждый глюкозаминоый фрагмент содержит одинаковое количество ацильных цепей, у «асимметрично» ацелированного – разное, например липид А *E. coli*, 4 из 6 ацильных цепей которого переносятся первым глюкозамином. Две 3-гидроксимиристат (жирные кислоты) цепи присоединяются непосредственно к каждому из двух глюкозаминов (первичные цепи). К первичным цепям, через сложные эфирные связи с гидроксильными группами первичных цепей, присоединены вторичные («ответвляющиеся») цепи. Первичные (связанные с глюкозамином) ацильные цепи обычно содержат 12 атомов углерода. Жирными кислотами могут быть лаурат (C12), мирилат (C14), иногда пальмитат (C16), встречающиеся в качестве вторичной ацильной цепи. Эти ацильные цепи придают липиду А гидрофобные свойства, что делает его наиболее иммуногенной частью ЛПС [6].

Липид А встроен во внешнюю оболочку бактериальной мембраны посредством электростатических и, главным образом, гидрофобных взаимодействий. Здесь диглюкозами-

новая часть липида А направлена на внешнюю среду, в то время как ацильные цепи липида А – на гидрофильную внутреннюю часть мембраны [7].

Однако бактериальные патогены выработали сложные механизмы избегания, которые позволяют успешно преодолевать защитные реакции организма хозяина, предотвращая распознавание их липида А. Внутриклеточные патогены должны минимизировать распознавание для выживания во внутриклеточной нише, чтобы защитить бактерии от лизиса антимикробными соединениями [8]. Поэтому молекула ЛПС грамотрицательных бактерий, отличных от кишечной палочки, может содержать больше или меньше ацильных цепей, более длинные ацильные цепи, разветвленные ацильные цепи, ненасыщенные ацильные цепи, только один фосфат или другие модификации. Бактерии используют способы модификации липида А путем добавления остатков 4-аминоарабинозы (Ara4N) или этаноламина к фосфатным группам, удаления ацильных цепей или фосфатных групп [9] или удлинения или укорочения ацильных цепей, присутствующих в липиде А. Известно, что *Yersinia pestis* продуцирует иммунологически активный гексаацилированный липид А в организме промежуточного хозяина, блохи, и при температуре 21°C. Но при попадании бактерии в организм человека и повышении температуры тела до 37°C преобладает слабоиммуногенный тетраацилированный липид А. *Francisella tularensis* при температуре 37°C присоединяет более длинные ацильные цепи, чем при более низких температурах, что является существенной модификацией для повышения вирулентности [10]. Известно, что *Brucella abortus* дополняет остатки глюкозамина пиродифосфорилэтанолламином [11], а *Salmonella* может добавлять остатки Ara4N или этаноламин, удалять или добавлять ацильные цепи, а также гидроксिलировать их [12]. Общей чертой успешных грамотрицательных внутриклеточных патогенов является то, что они модифицируют липид А, и эта модификация может приводить к полной авирулентности.

Структура мономера липида А также определяет его молекулярную форму. Эти формы могут быть коническими или цилиндрическими в зависимости от соотношения между гидрофобными и гидрофильными участками. Наиболее эндотоксически активный мономер липида А имеет коническую структуру, в то время как менее активный мономер липида А – цилиндрическую. Активность эндотоксина может быть повышена с помощью обработки ультразвуком [13]. Биологическая значимость этих супрамолекулярных структур и относительная важность агрегатов ЛПС по сравнению с мономерами ЛПС для распознавания хозяина остаются неясными. При концентрациях, превышающих критическую концентрацию мицелл, мономеры липида А агрегируют в надмолекулярные структуры, определяемые молекулярной формой липида А. Эти надмолекулярные структуры иногда достаточно велики, и их можно рассмотреть под электронным микроскопом.

Выделяют также две формы ЛПС: гладкая (S-форма) и шероховатая (R-форма). Гладкая форма – наиболее распространенная форма ЛПС, состоящая из трех компонентов: гидрофобного липида А, корового антигена и гидрофильного О-специфического полисахарида (О-ПС). Шероховатая форма отличается от гладкой отсутствием О-ПС [14].

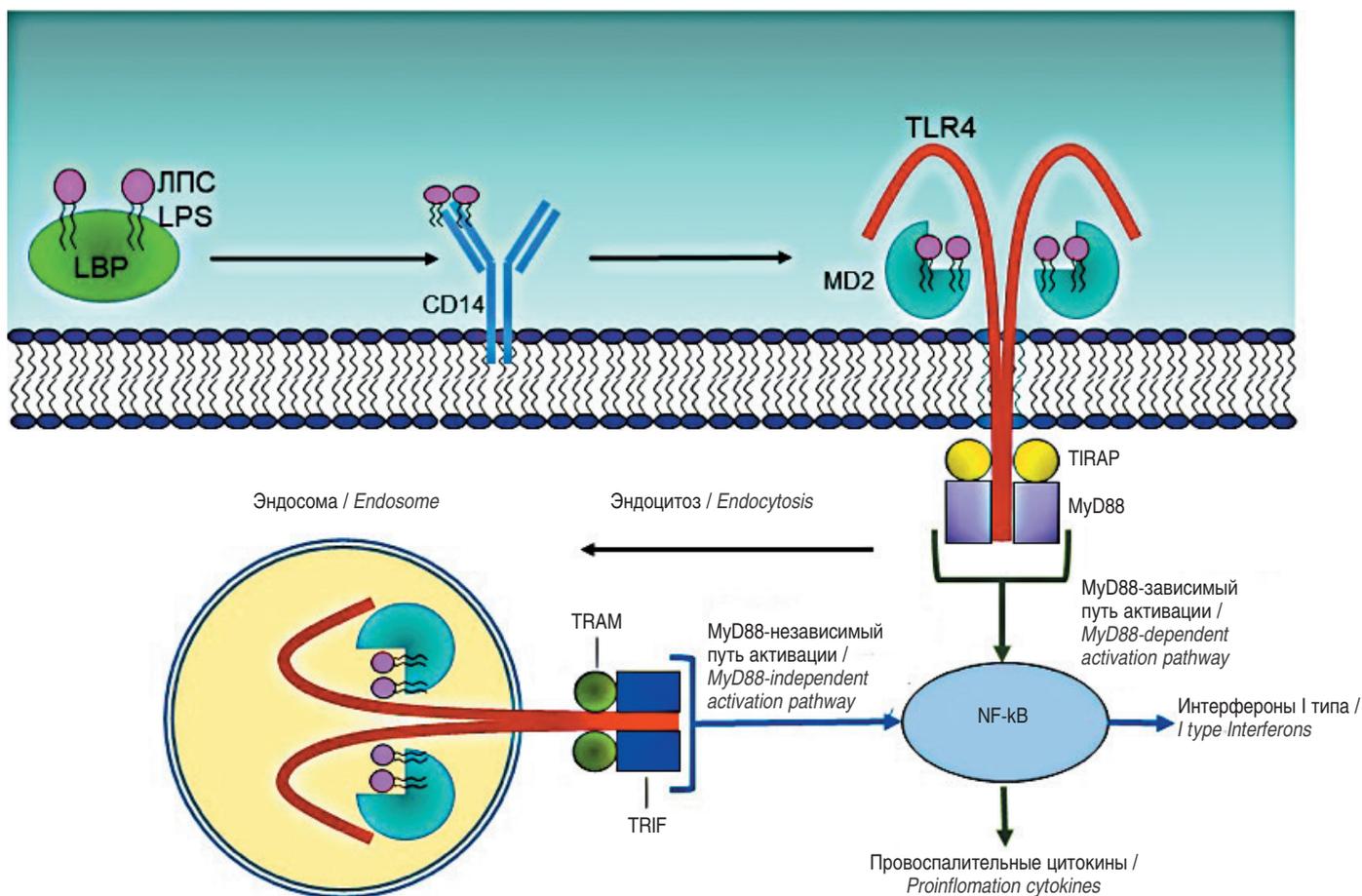


Рис. 2. Схематическое изображение сигнального пути ЛПС/Toll-подобного рецептора 4 (TLR4) и механизма действия липида А: ЛПС-связывающий белок (LBP), ассоциированный с ЛПС (или липидом А), сначала переносится на CD14, а затем доставляется к миелоидному фактору дифференцировки 2 (MD2), обеспечивая образование ЛПС–MD2–TLR4, что приводит к димеризации рецепторов TLR4. Передача сигналов ЛПС/TLR4 включает внутриклеточное вовлечение адаптерного белка, содержащего домен рецептора Toll/IL-1 (TIRAP), адаптерную молекулу, связанную с TRIF (TRAM), миелоидный фактор дифференцировки 88 (MyD88) и домен рецептора Toll/IL-1, содержащий адаптерные домены, индуцирующие интерферон-β (TRIF). MyD88-зависимый путь способствует экспрессии провоспалительных цитокинов, MyD88-независимый путь опосредует индукцию интерферонов I типа [22].

Fig. 2. Scheme of the LPS/Toll-like receptor 4 (TLR4) signaling pathway and the lipid A mechanism of action: LPS-binding protein (LBP) associated with LPS (or lipid A) is first translocated to CD14 and then delivered to myeloid differentiation factor 2 (MD2), mediating the formation of LPS–MD2–TLR4, which leads to dimerization of TLR4 receptors. LPS/TLR4 signaling involves the intracellular recruitment of Toll/interleukin-1 (IL-1) receptor domain-containing adaptor protein (TIRAP), TRIF-related adaptor molecule (TRAM), myeloid differentiation factor 88 (MyD88), and Toll/IL-1 receptor domain containing adaptor domains inducing interferon-β (TRIF). The MyD88-dependent pathway promotes the expression of proinflammatory cytokines, while the MyD88-independent pathway mediates the induction of type I interferons [22].

Врожденный иммунитет и эндотоксическая толерантность на ЛПС

ЛПС участвует в процессах иммунопатогенеза при бактериальных инфекциях и как фактор вирулентности инициирует целый ряд защитных для клетки механизмов. Во-первых, ЛПС на поверхности бактерий образует непроницаемый для жидких сред барьер, который блокирует проникновение определенных антимикробных молекул [15]. Во-вторых, длинная и выступающая наружу часть О-ПС предотвращает связывание комплемента на поверхности S-форм бактерий, препятствуя распознаванию иммунной системой [16].

В то же время при попадании ЛПС в организм активируется как врожденный, так и адаптивный иммунитет.

Врожденный иммунитет на ЛПС является важной частью защитного механизма против грамотрицательных бактерий. Существует несколько путей его активации.

Наиболее изученным является TLR4-MD-2-путь активации. TLR4 и MD2 – рецепторы на клеточной мембране цело-

го ряда клеток иммунной системы и тканей по всему организму. С помощью по меньшей мере двух белков – ЛПС-связывающего белка (LBP) и кластера дифференцировки 14 (CD14) – TLR4 и MD-2 могут связываться с ЛПС, который находится вне клетки-хозяина (внеклеточный). Это связывание запускает серию молекулярных событий внутри клетки-хозяина, приводящих к транскрипции тысяч генов и продукции клеткой цитокинов и хемокинов. Ассоциированный с ЛПС-связывающим белком (LBP) ЛПС (с его липидом А) сначала доставляется на CD14. CD14 переносит ЛПС к эктодомену рецепторного комплекса миелоидного фактора дифференцировки 2 (MD2) и TLR4, обеспечивая образование тройного комплекса ЛПС-MD2-TLR4 [17]. Ацильные цепи липида А специфически взаимодействуют с гидрофобной областью MD2, в то время как дисахаридфосфатные группы электростатически и по водородным связям взаимодействуют с заряженными остатками в MD2 и TLR4, способствуя димеризации комплекса ЛПС-MD2-TLR4 [18]. Это, в свою

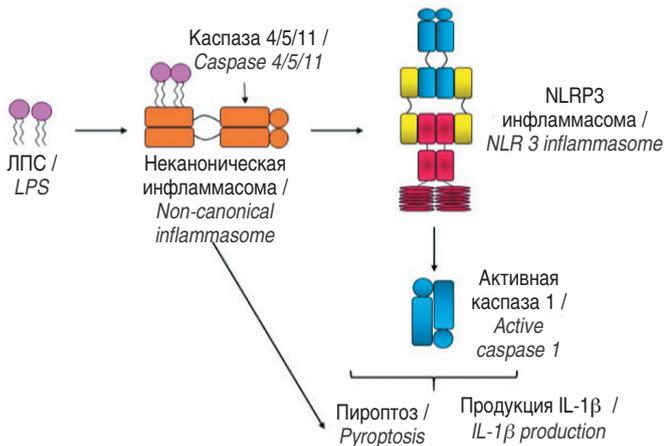


Рис. 3. Цитозольно-каспазный путь обнаружения ЛПС.

ЛПС, достигший цитозоля, связывается с каспазой 4/5/11, инициируя образование неканонической инфламмосомы и, в свою очередь, пироптоз. Активность каспазы 4/5/11 также стимулирует образование NLRP3 инфламмосомы, которая активирует процессинг и высвобождение интерлейкина-1β (IL-1β).

Fig. 3. Cytosolic-caspase pathway of LPS detection.

Reached cytosol LPS binds to caspase 4/5/11, initiating the formation of a non-canonical inflammasome and, in turn, pyroptosis. The activity of caspase 4/5/11 also stimulates the formation of NLRP3 inflammasome, which activates the processing and release of interleukin-1β (IL-1β).

очередь, приводит к димеризации внутриклеточных TIR-доменов TLR4 (TIR – Toll-интерлейкина-1 рецептор), запуская сигнальный путь ЛПС/TLR4 через два различных внутриклеточных каскада путем привлечения четырех адаптерных белков: MyD88; содержащий TIR-домен адаптерный белок (TIRAP; также известный как Mal); связанная с TRIF адаптерная молекула (TRAM) и Toll/IL-1 рецептор домен-содержащий адаптер, индуцирующий интерферон-β (IFN-β) (TRIF) [19]. MyD88-зависимый путь включает вовлечение TIRAP и MyD88 в домен TIR, что приводит к ранней активации NF-κB, продукции провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли (ФНО) и интерлейкин-1β (IL-1β), и Th1-ответу. TRIF/TRAM-зависимый путь включает CD14-опосредованную интернализацию TLR4/MD2 в эндосомы [20], что вызывает позднюю стадию активации NF-κB с более низким уровнем провоспалительных цитокинов. Он также активирует транскрипционный фактор IRF3, который приводит к экспрессии IFN-β и IFN-индуцируемых генов и продукцией интерферонов I типа [21] (рис. 2).

Наряду с LBP и CD14 такие белки, как белок, связывающий липопротеины высокой плотности, и бактерицидный / повышающий проницаемость белок, свободно циркулирующие в крови млекопитающих, связывают ЛПС и могут доставлять его к рецепторному комплексу TLR4-MD-2 [23].

Существует также внутриклеточный путь обнаружения ЛПС – цитозольный каспазный путь. Цистеинпротеаза каспаза 4/5/11 является цитозольным рецептором для ЛПС. Попадая в клетку, ЛПС напрямую связывается с каспазой 4/5/11 через липид А, что приводит к ее олигомеризации, вызывая неканоническую активацию инфламмосомы. Активная неканоническая инфламмосома каспаза-4/5/11 активирует каноническую инфламмосому NLRP3, что индуцирует протеолиз и созревание прокаспазы-1 [24]. Это приводит к опосредованному каспазой 1 созреванию провос-

палительных цитокинов семейства IL-1 (IL-1β и IL-18) [25], а также вызывает пироптоз и каспаза 1-зависимую гибель клеток [26] (рис. 3).

Активация врожденного иммунитета может как способствовать привлечению к патогену иммунных клеток или его разрушению, так и, за счет продукции провоспалительных цитокинов, вызывать негативные изменения на клеточном и организменном уровне (рис. 4).

Для регуляции активации в организме млекопитающих есть множество иммунных факторов, которые обнаруживают и ограничивают ЛПС. Система комплемента, состоящая из белков, и фермент ацилоксиацилгидролаза циркулируют в сыворотке крови и быстро связываются с молекулой ЛПС, а также расщепляют и/или изолируют ее соответственно [27].

Лактоферрин, экспрессируемый белыми кровяными клетками – нейтрофилами, связывает и модифицирует структуру ЛПС, нейтрализуя его и делая неиммуностимулирующим [28]. Эти факторы очень эффективны, и млекопитающие, как правило, способны очень быстро деградировать ЛПС, выводя сублетальные дозы ЛПС из крови в течение 30 мин [29]. Адаптация млекопитающих к ЛПС также включает сложную стратегию, известную как «толерантность к эндотоксинам». В условиях, когда организм постоянно подвергается воздействию низких доз ЛПС, существует риск его постоянного саморазрушения. Это повреждение может быть уменьшено путем изменения чувствительности иммунных клеток к ЛПС после первого воздействия. Низкие дозы ЛПС легко индуцируют у некоторых белых кровяных телец млекопитающих временную активацию или, реже, потенцирование реакции на последующие более высокие дозы молекулы [30].

О первых достоверных наблюдениях эндотоксической толерантности (ЭТ) сообщил Пол Бенсон в 1947 г., когда он индуцировал толерантность кроликов к ЛПС путем многократного введения им этого эндотоксина [31]. По его словам, «у животных, которые получали ежедневные инъекции пирогенов [ЛПС] в течение нескольких недель, не наблюдалось признаков ухудшения общего состояния здоровья. Они имели тенденцию к увеличению веса, их шерсть оставалась гладкой, и не было особой склонности к развитию интеркуррентных инфекций». Этот феномен также обнаруживался у людей, выздоравливающих после малярии, у которых наблюдалась ослабленная лихорадочная реакция при повторном введении эндотоксина [32]. В 1969 г. было продемонстрировано, что предварительное заражение живой сальмонеллой ослабляет воспалительную реакцию, вызванную эндотоксином или убитыми бактериями [33]. Однако до этого исследования были зафиксированы некоторые клинические примеры ЭТ у пациентов с пиелонефритом [34] и у тех, кто выздоравливал после брюшного тифа или паратифа [35]. Это подтверждало широкое распространение ЭТ среди людей. Исследования на мышах показали, что сублетальные дозы ЛПС обеспечивают защиту от последующих летальных исходов от ЛПС [36]. Показана определяющая роль моноцитов/макрофагов при ЭТ. Фактически как мышиные, так и человеческие моноциты/макрофаги демонстрируют сниженную воспалительную реакцию на воздействие эндотоксина, если они ранее подвергались воздействию эндотоксина [37].

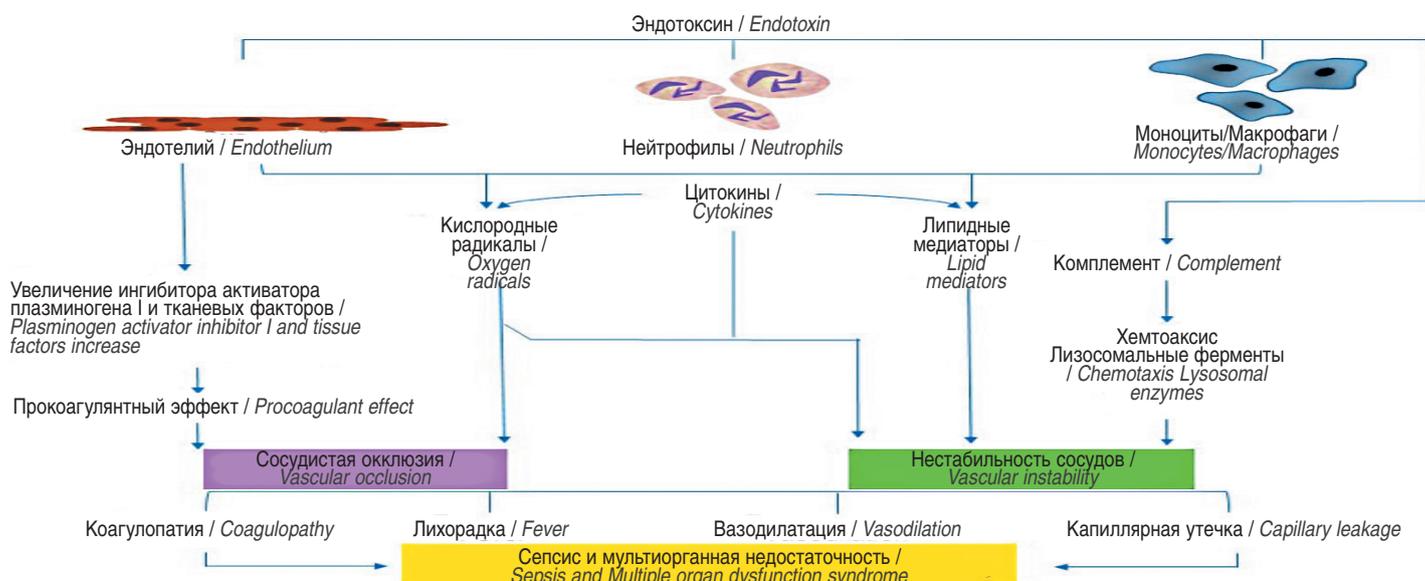


Рис. 4. Патогенез сепсиса.

Fig. 4. Sepsis pathogenesis.

В основе ЭТ лежат различные молекулярные механизмы. Мета-анализ наборов данных о лейкоцитах при сепсисе выявил строгую корреляцию между повышенными уровнями HIF1 α (фактор, индуцируемый гипоксией 1- α) и IRAK-M (киназа, ассоциированная с рецептором IL-1) в независимых группах пациентов с сепсисом, у которых наблюдались признаки ЭТ [38]. IRAK-M экспрессируется в ряде типов иммунных и эпителиальных клеток и, благодаря ингибированию выработки провоспалительных цитокинов, может регулировать иммунный гомеостаз и толерантность к ЛПС за счет ингибирования нисходящего сигнального пути TLR4 [39]. HIF1 α при ЭТ не только усиливает экспрессию IRAK-M в моноцитах, но и одновременно снижает выработку провоспалительных цитокинов и перепрограммирование моноцитов [40], что приводит к иммуносупрессивному фенотипу и усилению защитных функций, характерных для ЭТ, таких как фагоцитоз, антимикробная активность, и ремоделирование тканей [41]. Первоначально активация HIF1 α запускает провоспалительную программу, вызывающую мощный иммунный ответ. Однако хроническая активация приводит к переключению, вызывая действие негативных регуляторов, таких как IRAK-M, которые в конечном итоге ослабляют воспалительные реакции и приводят к иммуносупрессивному фенотипу. Этот сдвиг в сторону фенотипа иммуносупрессии имеет решающее значение для ЭТ. Кроме того, была описана экспрессия лиганда программируемой клеточной гибели-1 (PD-L1) во время ЭТ у пациентов с сепсисом [42]. HIF1 α перемещается в ядро и стимулирует экспрессию PD-L1 во время ЭТ в моноцитах человека [43]. Показано, что повторное воздействие эндотоксина перепрограммировало моноциты на уровне хроматина и 80% доступных участков стали более открытыми. Это приводило к изменению экспрессии генов, в первую очередь участвующих в детоксикации и реагирующих на повреждение клеток. Также путь NF- κ B/I κ B играет роль в регуляции экспрессии генов при ЭТ [44]. Наконец, микроРНК, короткие некодирующие молекулы РНК (~22 нуклеотида), являются важнейшими регуляторами

воспалительных реакций во время ЭТ. Многочисленные исследования показали, что в развитии ЭТ участвуют несколько микроРНК, включая miR-98, miR-125b, miR-132, miR-146a, miR-155, miR-221, miR-222, miR-579 и семейство let-7 [45].

ЛПС-индуцированный адаптивный иммунитет

Гуморальный ответ (антитела) против ЛПС играет важную протективную роль в защите от грамотрицательной инфекции. ЛПС-специфические антитела являются ключевыми звеньями различных механизмов специфического иммунного ответа: инактивация эндотоксина, опсонизация, антителозависимая клеточная цитотоксичность, комплемент-опосредованный лизис и т.п. Например, у бактерий *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Neisseria meningitidis* и *Salmonella enterica* защита обеспечивается за счет опсонофагоцитоза, комплемент-опосредованного лизиса и агглютинации [46]. Анти-ЛПС-IgG в слое слизи слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта могут сшиваться с муцином для захвата *Salmonella Typhimurium* на муциновой сетке, подавляя таким образом подвижность бактерий на основе жгутиков [47].

Значение ЛПС в развитии протективного иммунного ответа было показано еще в 1960-х гг. в опытах Braude. Он проводил заражение кроликов бактерией *E. coli*, вводя ее в коленный сустав. После чего животные развивали лихорадку и лейкоцитоз в отсутствие циркулирующих бактерий. Далее он вводил животным антитела против O-антигена ЛПС, что приводило к исчезновению лихорадки и лейкоцитоза. Braude заключил, что ЛПС из кишечной палочки в суставе попадает в кровоток, вызывая общие симптомы, и что антитела, направленные против эндотоксина, могут защитить животное [48]. Протективная роль ЛПС-специфических антител как у людей, так и у животных также продемонстрирована в ряде исследований. Иммунизация беременных коров вакциной, состоящей из детоксифицированного липоолигосахарида (ЛОС) из мутанта *E. coli* O111 R κ (J5), нековалентно связанного с белком внешней мембраны менингококка группы B (J5дЛОС/OMP), приводила к образованию

высокого уровня анти-J5-ЛОС-антител в молозиве. При пероральном введении полученного молозива крысам с нейтропенией, зараженным синегнойной палочкой, увеличивалась выживаемость по сравнению с неиммунными животными [49]. В эксперименте на мышах было выявлено, что предварительное введение моноклональных антител (МКА) против О-антигена *K. pneumoniae* ST258 защищало их от развития эндотоксического шока и заражения после последующего введения немодифицированного ЛПС и живых бактерий соответственно [50]. Введение пациентам с бактериемией сыворотки, полученной в результате иммунизации здоровых добровольцев мутантным штаммом *E. coli* J5, приводило к снижению смертности [51].

В настоящее время в клинической практике широко используются иммуноглобулины для внутривенного введения для адьювантной терапии сепсиса у человека [52]. Отмечено, что наибольшую эффективность имеют антитела класса IgM. Содержание специфических анти-ЛПС-IgM-антител в Пентаглобине – иммунобиологическом препарате, который успешно используется для лечения сепсиса, в несколько раз превышает содержание IgG [53]. Отмечено, что вероятность прогрессирования сепсиса в септический шок выше у тех пациентов, у которых меньше IgM-антител [54].

О-полисахарид является одним из основных антигенов на который развивается протективный иммунный ответ. Введение мышам МКА против О-антигена *S. Typhimurium*, защищало их заражения вирулентными штаммами этой бактерии [55]. Липид А и коровий антиген представляют собой консервативные участки ЛПС и не сильно отличаются между различными клинически значимыми видами бактерий, что могло бы быть перспективной альтернативой для нейтрализации ЛПС независимо от серотипа. Кроме того, структурное сходство молекул липида А почти у всех грамотрицательных бактерий [56] побудило исследователей к созданию и изучению перекрестных реакций и защитных эффектов антител к липиду А [57]. Эти попытки потерпели неудачу, поскольку эпитопы, которые связываются этими антителами, недоступны в ЛПС бактерий дикого типа из-за их маскировки коровым полисахаридом и О-полисахаридом [58].

Нейтрализующий эффект специфичных к О-антигену антител слабее у инкапсулированных бактерий, таких как некоторые серотипы *K. pneumoniae*, т.к. капсула снижает доступность антител к ЛПС [59].

Доклинические и клинические исследования вакцин против септического шока

Вакцины на основе детоксицированного бактериального ЛПС широко используются в клинической практике для предотвращения распространения бактериальных инфекций [60], что дает основание для создания вакцин против септического шока. В ряде исследований показана возможность профилактики развития септического шока на лабораторных животных с помощью ЛПС патогенных бактерий. Была разработана крысиная модель с нейтропенией для изучения активной инфекции, вызванной синегнойной палочкой. Животным внутривенно вводили нейтральные МКА (группа 1); анти-ФНО-МКА (группа 2); МКА против ЛПС *Pseudomonas aeruginosa* (группа 3) или комбинацию анти-ФНО- и анти-ЛПС-МКА (группа 4), далее заражали живот-

ных синегнойной палочкой. Ни одно из контрольных животных в группе 1 не пережило 7-дневный период нейтропении (0/16). Напротив, выживаемость составила 44% во 2-й группе ($p < 0,02$), 37% – в 3-й ($p < 0,05$) и 75% – в 4-й ($p < 0,0002$). Комбинация МКА обеспечивала большую защиту, чем любое из МКА, вводимых по отдельности ($p < 0,05$). Эти результаты указывают на то, что комбинация МКА к ЛПС и ФНО обладает дополнительным преимуществом при экспериментальном синегнойном сепсисе [61]. В другом эксперименте пассивное введение антител, полученных у кроликов на ковалентно-связанный детоксицированный ЛПС *E. coli* J5 с белковым комплексом внешней мембраны менингококка группы В, защищала крыс с нейтропенией от гетерологичной летальной грамотрицательной бактериальной инфекции (синегнойная палочка и *K. pneumoniae*). Эта вакцина вызвала более чем 200-кратное увеличение уровня антител к ЛПС *E. coli* J5, который оставался повышенным на протяжении всей нейтропении, вызванной циклофосфамидом, и в течение <3 мес. Выживаемость среди иммунизированных животных была выше, чем у контрольных: 48% (13/28) против 7% (2/29) у крыс, зараженных синегнойной палочкой; 61% (11/18) против 0% (0/10) у крыс, получавших синегнойную палочку и цефтазидим; 64% (9/14) против 13% (2/15) у крыс, зараженных клебсиеллой. У иммунизированных животных было более низкое содержание бактерий в органах и более низкий уровень циркулирующего эндотоксина в начале лихорадки. Кроме того, активная иммунизация антиэндотоксиновой вакциной улучшила выживаемость животных с ослабленным иммунитетом после заражения более чем 2 гетерологичными клинически значимыми видами бактерий [62]. Далее было изучено протективное действие комбинации антител – МКА к ЛПС *P. aeruginosa* (синегнойная палочка), поликлональная антисыворотка к ЛПС *E. coli* J5 и МКА, направленные против ФНО- α . Комбинация всех трех иммунотерапевтических средств привела к 77%-й выживаемости (33 из 43 животных). Этот уровень защиты был выше, чем при любой комбинации лечения двумя МКА (выживаемость 50–60%; $p = 0,029$) или при лечении одним МКА (выживаемость 25–43%; $p < 0,001$) и по сравнению с контрольной группой (0/25 выживших; $p < 0,0001$) [63].

В наших исследованиях из энтеробактерии *Shigella sonnei* был получен новый природный вариант цвиттерионного полисахарида – экзополисахарид (ЭПС), в состав которого входит липидный компонент, представляющий собой диацилглицерофосфат, а повторяющееся звено идентично с таковым О-специфичного полисахарида *S. sonnei*. Препарат ЭПС отличался высокой степенью безопасности: не вызывал пирогенной реакции у крыс и гибели мышей при введении в сверхвысокой дозе (1 г/кг животного). При профилактической иммунизации ЭПС отмечены замедление развития экспериментального перитонита и продление времени выживаемости мышей (СВА \times С57В1/6)F1 при развитии септического процесса. При предварительном введении препарат также эффективно обеспечивал выживаемость мышей от эндотоксического шока и подавлял продукцию ФНО- α при нагрузке бактериальным эндотоксином *E. coli* O:55 в дозе 150 мг/кг [64].

Также нами было показано, что ЛПС *S. sonnei* при профилактическом введении обеспечивал задержку развития

экспериментального перитонита, индуцированного методом прокола и перевязки слепой кишки (CLP-модель), защищая мышей от гибели на ранних стадиях после CLP (до 5 дней после CLP) [65].

Несомненный интерес представляют клинические исследования некоторых поливалентных кандидатных вакцинных препаратов. Пациенты с тупыми и проникающими травмами были иммунизированы против *K. pneumoniae* и *Pseudomonas* через 72 ч после ранения. Использовались 24-валентная вакцина против *K. pneumoniae* на основе капсульного полисахарида и 8-валентная вакцина против *Pseudomonas*, представляющая собой конъюгат О-антигена бактерии с токсином А. На 14-й и 28-й дни после иммунизации у всех пациентов наблюдался более чем четырехкратный ответ по меньшей мере на 6 из 9 антигенов вакцины против *P. aeruginosa*: половина пациентов ответила на 8 из 9 антигенов. 9 пациентов реагировали по меньшей мере на 18 из 24 антигенов клебсиеллы, а 7 пациентов – на 22 из 24 антигенов [66].

Для профилактики сепсиса с помощью активной или пассивной иммунопрофилактики были разработаны вакцина против клебсиеллы, состоящая из 24 капсульных полисахаридных антигенов, и вакцина против синегнойной палочки *P. aeruginosa*, состоящая из 8 О-полисахаридных антигенов, конъюгированных с токсином А синегнойной палочки. Обе вакцины были введены одновременно в разные руки (20 добровольцев) или с интервалом в 14 дней (21 доброволец). Вакцины одинаково хорошо переносились обеими группами добровольцев. Средние геометрические концентрации антител и среднее кратное повышение уровня антител к 33 вакцинным антигенам (включая токсин А) были одинаковыми в обеих группах через 2 мес., снижение уровня антител, измеренное через 18 мес., также было сходным [67].

Исследована вакцина, состоящая из детоксифицированного ЛПС *E. coli* O111:B4 (мутант J5), нековалентно связанного с белком внешней мембраны менингококка группы В (OMP). 20 здоровых взрослых пациентов через 0, 29 и 59 дней получили 3 дозы антигена (10 мкг дЛПС) с СРГ 7909 (250 или 500 мкг) или без него. Все вакцинные препараты хорошо переносились без каких-либо местных или системных осложнений, превышающих среднюю степень тяжести. Только в группе, получавшей вакцину, был достигнут более чем 4-кратный «ответный» уровень антител IgG и IgM у одного из 6 пациентов. В отличие от этого в группах, получавших вакцину плюс СРГ 7909, наблюдались более ранние и устойчивые (до 180 дней) реакции, более значительное увеличение среднего показателя и более высокая доля «ответивших», достигших увеличения более чем в 4 раза по сравнению с исходным уровнем; вакцина J5dLPS/OMP, с адьювантом СРГ или без него, была безопасной и хорошо переносилась. Введение СРГ увеличило число пациентов с более чем 4-кратным повышением уровня антител [68].

Таким образом, к настоящему времени хорошо изучено и охарактеризовано строение молекулы ЛПС грамотрицательных бактерий. Исследованы патогенетические механизмы ЛПС при его попадании в организм млекопитающих. Созданы биотехнологические платформы получения вакцин против различных бактериальных инфекций на основе ЛПС. Такого типа вакцины широко применяются в клинической практике. Доклинические исследования кандидатных антигенов на ла-

бораторных животных показали их способность предотвращать развитие сепсиса. Все это дает предпосылки для создания эффективных вакцин против септического шока.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература / References

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):801-10. DOI: 10.1001/jama.2016.0287
2. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B; CUB-Réa Network. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Réa Network. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Jul 15;168(2):165-72. DOI: 10.1164/rccm.2201087
3. Opal SM. Endotoxins and other sepsis triggers. *Contrib Nephrol*. 2010;167:14-24. DOI: 10.1159/000315915
4. Hitchcock PJ, Leive L, Mäkelä PH, Rietschel ET, Strittmatter W, Morrison DC. Lipopolysaccharide nomenclature – past, present, and future. *J Bacteriol*. 1986 Jun;166(3):699-705. DOI: 10.1128/jb.166.3.699-705.1986
5. Raetz CR. Bacterial endotoxins: extraordinary lipids that activate eucaryotic signal transduction. *J Bacteriol*. 1993 Sep;175(18):5745-53. DOI: 10.1128/jb.175.18.5745-5753.1993
6. Bertani B, Ruiz N. Function and Biogenesis of Lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*. 2018 Aug;8(1):10.1128/ecosalplus. ESP-0001-2018. DOI: 10.1128/ecosalplus. ESP-0001-2018
7. Raetz CR, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem*. 2002;71:635-700. DOI: 10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414
8. Band VI, Weiss DS. Mechanisms of Antimicrobial Peptide Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics (Basel)*. 2015 Mar;4(1):18-41. DOI: 10.3390/antibiotics4010018
9. MacArthur I, Jones JW, Goodlett DR, Ernst RK, Preston A. Role of pagL and lpxO in *Bordetella bronchiseptica* lipid A biosynthesis. *J Bacteriol*. 2011 Sep;193(18):4726-35. DOI: 10.1128/JB.01502-10
10. Montminy SW, Khan N, McGrath S, Walkowicz MJ, Sharp F, Conlon JE, et al. Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat Immunol*. 2006 Oct;7(10):1066-73. DOI: 10.1038/ni1386
11. Casabuono AC, Czibener C, Del Giudice MG, Valguarnera E, Ugalde JE, Couto AS. New Features in the Lipid A Structure of *Brucella suis* and *Brucella abortus* Lipopolysaccharide. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2017 Dec;28(12):2716-2723. DOI: 10.1007/s13361-017-1805-x
12. Kawasaki K, Manabe T. Latency of the lipid A deacylase PagL is involved in producing a robust permeation barrier in the outer membrane of *Salmonella enterica*. *J Bacteriol*. 2010 Nov;192(21):5837-40. DOI: 10.1128/JB.00758-10
13. Komuro T, Murai T, Kawasaki H. Effect of sonication on the dispersion state of lipopolysaccharide and its pyrogenicity in rabbits. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1987 Dec;35(12):4946-52. DOI: 10.1248/cpb.35.4946
14. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010 May;2(5):a000414. DOI: 10.1101/cshperspect.a000414
15. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2003 Dec;67(4):593-656. DOI: 10.1128/MMBR.67.4.593-656.2003

16. Goebel EM, Wolfe DN, Elder K, Stibitz S, Harvill ET. O antigen protects *Bordetella parapertussis* from complement. *Infect Immun*. 2008 Apr;76(4):1774-80. DOI: 10.1128/IAI.01629-07
17. Park BS, Lee JO. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Exp Mol Med*. 2013 Dec 6;45(12):e66. DOI: 10.1038/emmm.2013.97
18. Park BS, Song DH, Kim HM, Choi BS, Lee H, Lee JO. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature*. 2009 Apr 30;458(7242):1191-5. DOI: 10.1038/nature07830
19. Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*. 2011 May 27;34(5):637-50. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.05.006
20. Kagan JC, Su T, Horng T, Chow A, Akira S, Medzhitov R. TRAM couples endocytosis of Toll-like receptor 4 to the induction of interferon-beta. *Nat Immunol*. 2008 Apr;9(4):361-8. DOI: 10.1038/ni1569
21. Karaghiosoff M, Steinborn R, Kovarik P, Kriegshäuser G, Baccarini M, Donabauer B, et al. Central role for type I interferons and Tyk2 in lipopolysaccharide-induced endotoxin shock. *Nat Immunol*. 2003 May;4(5):471-7. DOI: 10.1038/ni910
22. Pifferi C, Fuentes R, Fernández-Tejada A. Natural and synthetic carbohydrate-based vaccine adjuvants and their mechanisms of action. *Nat Rev Chem*. 2021;5(3):197-216. DOI: 10.1038/s41570-020-00244-3
23. Elsbach P. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in antibacterial host defense. *J Leukoc Biol*. 1998 Jul;64(1):14-8. DOI: 10.1002/jlb.64.1.14
24. Shi J, Zhao Y, Wang Y, Gao W, Ding J, Li P, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature*. 2014 Oct 9;514(7521):187-92. DOI: 10.1038/nature13683
25. Kieser KJ, Kagan JC. Multi-receptor detection of individual bacterial products by the innate immune system. *Nat Rev Immunol*. 2017 Jun;17(6):376-390. DOI: 10.1038/nri.2017.25
26. Gurung P, Malireddi RK, Anand PK, Demon D, Vande Walle L, Liu Z, et al. Toll or interleukin-1 receptor (TIR) domain-containing adaptor inducing interferon- β (TRIF)-mediated caspase-11 protease production integrates Toll-like receptor 4 (TLR4) protein- and Nlrp3 inflammasome-mediated host defense against enteropathogens. *J Biol Chem*. 2012 Oct 5;287(41):34474-83. DOI: 10.1074/jbc.M112.401406
27. Staab JF, Fosmire S, Zhang M, et al. Distinctive structural features are shared by human, lapine, and murine acyloxyacyl hydrolases. *J Endotoxin Res*. 1999;5:205-208. <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/09680519990050040701>
28. André J, Lohner K, Blondelle SE, Jerala R, Moriyon I, Koch MH, et al. Enhancement of endotoxin neutralization by coupling of a C12-alkyl chain to a lactoferricin-derived peptide. *Biochem J*. 2005 Jan 1;385(Pt 1):135-43. DOI: 10.1042/BJ20041270
29. Shi Q, Cox LA, Glenn J, Tejero ME, Hondara V, Vandeberg JL, et al. Molecular pathways mediating differential responses to lipopolysaccharide between human and baboon arterial endothelial cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2010 Feb;37(2):178-84. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05260.x
30. Escoll P, del Fresno C, García L, Vall s G, Lend nez MJ, Arnalich F, et al. Rapid up-regulation of IRAK-M expression following a second endotoxin challenge in human monocytes and in monocytes isolated from septic patients. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Nov 14;311(2):465-72. DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.10.019
31. Beeson PB; Technical Assistance of Elizabeth Roberts. Tolerance to bacterial pyrogens: I. Factors influencing its development. *J Exp Med*. 1947 Jun 30;86(1):29-38. DOI: 10.1084/jem.86.1.29
32. Perry JA, Olver CS, Burnett RC, Avery AC. Cutting edge: the acquisition of TLR tolerance during malaria infection impacts T cell activation. *J Immunol*. 2005 May 15;174(10):5921-5. DOI: 10.4049/jimmunol.174.10.5921
33. Greisman SE, Hornick RB, Wagner HN Jr, Woodward WE, Woodward TE. The role of endotoxin during typhoid fever and tularemia in man. IV. The integrity of the endotoxin tolerance mechanisms during infection. *J Clin Invest*. 1969 Apr;48(4):613-29. DOI: 10.1172/JCI106020
34. McCabe WR. Endotoxin tolerance. II. Its occurrence in patients with pyelonephritis. *J Clin Invest*. 1963 May;42(5):618-25. DOI: 10.1172/JCI104752
35. Neva FA, Morgan HR. Tolerance to the action of endotoxins of enteric bacilli in patients convalescent from typhoid and paratyphoid fevers. *J Lab Clin Med*. 1950 Jun;35(6):911-22.
36. Rojas A, Padr n J, Caveda L, Palacios M, Moncada S. Role of nitric oxide pathway in the protection against lethal endotoxemia afforded by low doses of lipopolysaccharide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993 Mar 15;191(2):441-6. DOI: 10.1006/bbrc.1993.1237
37. Cavaillon JM, Adib-Conquy M. Bench-to-bedside review: endotoxin tolerance as a model of leukocyte reprogramming in sepsis. *Crit Care*. 2006;10(5):233. DOI: 10.1186/cc5055
38. Shalova IN, Lim JY, Chittezhath M, Zinkernagel AS, Beasley F, Hernández-Jiménez E, et al. Human monocytes undergo functional re-programming during sepsis mediated by hypoxia-inducible factor-1 α . *Immunity*. 2015 Mar 17;42(3):484-98. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.02.001
39. Mendoza-Barber  E, Corral-Rodríguez MA, Soares-Schanoski A, Velarde M, Macieira S, Messerschmidt A, et al. Contribution of globular death domains and unstructured linkers to MyD88-IRAK-4 heterodimer formation: an explanation for the antagonistic activity of MyD88s. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Feb 27;380(1):183-7. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.01.069
40. Kim HG, Kim NR, Gim MG, Lee JM, Lee SY, Ko MY, et al. Lipoteichoic acid isolated from *Lactobacillus plantarum* inhibits lipopolysaccharide-induced TNF-alpha production in THP-1 cells and endotoxin shock in mice. *J Immunol*. 2008 Feb 15;180(4):2553-61. DOI: 10.4049/jimmunol.180.4.2553
41. Avendaño-Ortiz J, Lozano-Rodríguez R, Martín-Quir s A, Maroun-Eid C, Terr n-Arcos V, Montalb n-Hernández K, et al. SARS-CoV-2 Proteins Induce Endotoxin Tolerance Hallmarks: A Demonstration in Patients with COVID-19. *J Immunol*. 2021 Jul 1;207(1):162-174. DOI: 10.4049/jimmunol.2001449
42. Avendaño-Ortiz J, Maroun-Eid C, Martín-Quir s A, Toledano V, Cubillos-Zapata C, G mez-Campelo P, et al. PD-L1 Overexpression During Endotoxin Tolerance Impairs the Adaptive Immune Response in Septic Patients via HIF1 α . *J Infect Dis*. 2018 Jan 17;217(3):393-404. DOI: 10.1093/infdis/jix279
43. Kox M, de Kleijn S, Pompe JC, Ramakers BP, Netea MG, van der Hoeven JG, et al. Differential *ex vivo* and *in vivo* endotoxin tolerance kinetics following human endotoxemia. *Crit Care Med*. 2011 Aug;39(8):1866-70. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182190d5d
44. Chen X, Yoza BK, El Gazzar M, Hu JY, Cousart SL, McCall CE. RelB sustains IkappaBalpha expression during endotoxin tolerance. *Clin Vaccine Immunol*. 2009 Jan;16(1):104-10. DOI: 10.1128/CI.00320-08
45. Tongaonkar P, Trinh KK, Ouellette AJ, Selsted ME. Inhibition of miR-146a Expression and Regulation of Endotoxin Tolerance by Rhesus Theta-Defensin-1. *Mediators Inflamm*. 2023 Apr 17;2023:8387330. DOI: 10.1155/2023/8387330
46. Plested JS, Ferry BL, Coull PA, Makepeace K, Lehmann AK, MacKinnon FG, et al. Functional opsonic activity of human serum antibodies to inner core lipopolysaccharide (galE) of serogroup B meningococci measured by flow cytometry. *Infect Immun*. 2001 May;69(5):3203-13. DOI: 10.1128/IAI.69.5.3203-3213.2001
47. Schroeder HA, Newby J, Schaefer A, Subramani B, Tubbs A, Gregory Forest M, et al. LPS-binding IgG arrests actively motile *Salmonella Typhimurium* in gastrointestinal mucus. *Mucosal Immunol*. 2020 Sep;13(5):814-823. DOI: 10.1038/s41385-020-0267-9
48. Braude AI, Jones JL, Douglas H. The behavior of *Escherichia coli* endotoxin (somatic antigen) during infectious arthritis. *J Immunol*. 1963 Feb;90:297-311.
49. Cross AS, Opal SM, Palardy JE, Shridhar S, Baliban SM, Scott AJ, et al. A pilot study of an anti-endotoxin Ig-enriched bovine colostrum to prevent experimental sepsis. *Innate Immun*. 2021 Apr;27(3):266-274. DOI: 10.1177/17534259211007538
50. Szi jart  V, Guachalla LM, Hartl K, Varga C, Badarau A, Mirkina I, et al. Endotoxin neutralization by an O-antigen specific monoclonal antibody: A potential novel

- therapeutic approach against *Klebsiella pneumoniae* ST258. Virulence. 2017 Oct 3;8(7):1203-1215. DOI: 10.1080/21505594.2017.1279778
51. Ziegler EJ, McCutchan JA, Fierer J, Glauser MP, Sadoff JC, Douglas H, et al. Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant *Escherichia coli*. N Engl J Med. 1982 Nov 11;307(20):1225-30. DOI: 10.1056/NEJM198211113072001
52. Шуматов ВБ, Лазанович ВА, Павлов ВА, Ермакова НД, Просокова ЕВ. Внутривенные иммуноглобулины в адьювантной терапии сепсиса. Тихоокеанский медицинский журнал. 2017;2:42-45. / Shumatov VB, Lazanovich VA, Pavlov VA, Ermakova ND, Proseceva EV. Intravenous immunoglobulins as adjuvant therapy in patients with sepsis. Pacific Medical Journal. 2017;2:42-45. DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.2.42-45 (In Russian).
53. Trautmann M, Held TK, Susa M, Karajan MA, Wulf A, Cross AS, et al. Bacterial lipopolysaccharide (LPS)-specific antibodies in commercial human immunoglobulin preparations: superior antibody content of an IgM-enriched product. Clin Exp Immunol. 1998 Jan;111(1):81-90. DOI: 10.1046/j.1365-2249.1998.00445.x
54. Giamarellos-Bourboulis EJ, Apostolidou E, Lada M, Perdios I, Gatselis NK, Tsangaris I, et al. Hellenic Sepsis Study Group. Kinetics of circulating immunoglobulin M in sepsis: relationship with final outcome. Crit Care. 2013 Oct 21;17(5):R247. DOI: 10.1186/cc13073
55. Colwell DE, Michalek SM, Briles DE, Jirillo E, McGhee JR. Monoclonal antibodies to *Salmonella* lipopolysaccharide: anti-O-polysaccharide antibodies protect C3H mice against challenge with virulent *Salmonella Typhimurium*. J Immunol. 1984 Aug;133(2):950-7.
56. Zähringer U, Lindner B, Rietschel ET. Molecular structure of lipid A, the endotoxic center of bacterial lipopolysaccharides. Adv Carbohydr Chem Biochem. 1994;50:211-76.
57. Olsthoorn MM, Petersen BO, Schlecht S, Haverkamp J, Bock K, Thomas-Oates JE, et al. Identification of a novel core type in *Salmonella* lipopolysaccharide. Complete structural analysis of the core region of the lipopolysaccharide from *Salmonella enterica* sv. Arizonae O62. J Biol Chem. 1998 Feb 13;273(7):3817-29. DOI: 10.1074/jbc.273.7.3817
58. Brade L, Engel R, Christ WJ, Rietschel ET. A nonsubstituted primary hydroxyl group in position 6' of free lipid A is required for binding of lipid A monoclonal antibodies. Infect Immun. 1997 Sep;65(9):3961-5. DOI: 10.1128/iai.65.9.3961-3965.1997
59. Clements A, Jenney AW, Farn JL, Brown LE, Deliyannis G, Hartland EL, et al. Targeting subcapsular antigens for prevention of *Klebsiella pneumoniae* infections. Vaccine. 2008 Oct 16;26(44):5649-53. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.07.100
60. Абрамцева МВ, Неманова ЕО, Алехина НС. Перспективные направления разработки вакцинных препаратов для профилактики шигеллеза. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2022;22(3):249-265. / Abramtseva MV, Nemanova EO, Alekhina NS. Promising directions for vaccine development to prevent shigellosis. Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment. 2022;22(3):249-265. DOI: 10.30895/2221-996X-2022-22-3-249-265 (In Russian).
61. Opal SM, Cross AS, Sadoff JC, Collins HH, Kelly NM, Victor GH, et al. Efficacy of antilipopolysaccharide and anti-tumor necrosis factor monoclonal antibodies in a neutropenic rat model of *Pseudomonas* sepsis. J Clin Invest. 1991 Sep;88(3):885-90. DOI: 10.1172/JCI115390
62. Cross AS, Opal SM, Warren HS, Palardy JE, Glaser K, Parejo NA, et al. Active immunization with a detoxified *Escherichia coli* J5 lipopolysaccharide group B meningococcal outer membrane protein complex vaccine protects animals from experimental sepsis. J Infect Dis. 2001 Apr 1;183(7):1079-86. DOI: 10.1086/319297
63. Cross AS, Opal SM, Palardy JE, Bodmer MW, Sadoff JC. The efficacy of combination immunotherapy in experimental *Pseudomonas* sepsis. J Infect Dis. 1993 Jan;167(1):112-8. DOI: 10.1093/infdis/167.1.112
64. Маркина АА, Львов ВЛ, Апарин ПГ. Коррекция септического и эндотоксического шока при иммунизации цвиттерионным экзополисахаридом *Shigella sonnei*, фаза 1. Иммунология, 2013;34(1):39-42. / Markina AA, Lvov VL, Aparin PG. Correction of septic and endotoxic shock when immunization zwitterionic exopolysaccharides *Shigella sonnei*, phase 1. 2013;34(1):39-42. (In Russian).
65. Маркина АА, Апарин ПГ. Современные подходы к терапии и профилактике эндотоксического и септического шока. Физиология и патология иммунной системы. 2015;19(8):3-14. / Markina AA, Aparin PG. Modern approaches to therapy and prevention of endotoxic and septic shock. Physiology and Pathology of the Immune System. 2015;19(8):3-14. (In Russian).
66. Campbell WN, Hendrix E, Cryz S Jr, Cross AS. Immunogenicity of a 24-valent *Klebsiella* capsular polysaccharide vaccine and an eight-valent *Pseudomonas* O-polysaccharide conjugate vaccine administered to victims of acute trauma. Clin Infect Dis. 1996 Jul;23(1):179-81. DOI: 10.1093/clinids/23.1.179
67. Edelman R, Taylor DN, Wasserman SS, McClain JB, Cross AS, Sadoff JC, et al. Phase 1 trial of a 24-valent *Klebsiella* capsular polysaccharide vaccine and an eight-valent *Pseudomonas* O-polysaccharide conjugate vaccine administered simultaneously. Vaccine. 1994 Nov;12(14):1288-94. DOI: 10.1016/s0264-410x(94)80054-4
68. Cross AS, Greenberg N, Billington M, Zhang L, DeFilippi C, May RC, et al. Phase 1 testing of detoxified LPS/group B meningococcal outer membrane protein vaccine with and without synthetic CPG 7909 adjuvant for the prevention and treatment of sepsis. Vaccine. 2015 Nov 27;33(48):6719-26. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.10.072

Информация о соавторах:

Науменко Олеся Игоревна, кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории углеводов и бицидов им. академика Н.К.Кочеткова Института органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН

Алхазова Биана Игоревна, младший научный сотрудник лаборатории полисахаридных вакцин ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России

Стряхнин Пётр Алексеевич, лаборант лаборатории полисахаридных вакцин отдела иммунной биотехнологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России

Кожинова Елена Вадимовна, научный сотрудник лаборатории полисахаридных вакцин отдела иммунной биотехнологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России

Головина Марина Эдуардовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории полисахаридных вакцин отдела иммунной биотехнологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России

Апарин Пётр Геннадьевич, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией полисахаридных вакцин отдела иммунной биотехнологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России

Information about co-authors:

Olesya I. Naumenko, PhD in Chemical Sciences, laboratory of carbohydrates and biocides academician N.K.Kochetkov, N.D.Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Science

Biana I. Alkhazova, junior scientist of polysaccharide vaccines laboratory, SRC Institute of Immunology FMBA of Russia

Petr A. Stryakhnin, technician of polysaccharide vaccines laboratory, SRC Institute of Immunology FMBA of Russia

Elena V. Kozhinova, scientific researcher of polysaccharide vaccines laboratory, SRC Institute of Immunology FMBA of Russia

Marina E. Golovina, PhD in Biological Sciences, of polysaccharide vaccines laboratory, SRC Institute of Immunology FMBA of Russia

Petr G. Aparin, MD, PhD, DSc, head of polysaccharide vaccines laboratory, SRC Institute of Immunology FMBA of Russia