

© Кудрявцева О.М., Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Кожевников В.А., Шуковская Т.Н., Каштанова Т.Н., Агапов Б.Л., Каляева Т.Б., 2020

УДК 616.98:579.842.23

## Анализ факторов, влияющих на иммунологическую реактивность лиц, вакцинированных живой чумной вакциной

О.М. Кудрявцева<sup>1</sup>, А.Ю. Гончарова<sup>1</sup>, С.А. Бугоркова<sup>1</sup>, В.А. Кожевников<sup>1</sup>, Т.Н. Шуковская<sup>1</sup>, Т.Н. Каштанова<sup>1</sup>, Б.Л. Агапов<sup>2</sup>, Т.Б. Каляева<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, ул. Университетская 46, г. Саратов, 410005, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФКУЗ «Астраханская противочумная станция» Роспотребнадзора, ул. Кубанская, 3, г. Астрахань, 414000, Российская Федерация

<sup>3</sup>ФКУЗ «Элистинская противочумная станция» Роспотребнадзора, Главпочтамт, а/я 28, г. Элиста, 358000 Республика Калмыкия, Российская Федерация

**Резюме:** *Введение.* В последние годы в ряде очагов чумы на территории Российской Федерации отмечается рост эпизоотической активности. В рамках обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, проживающего на территории природных очагов заболевания, была проведена массовая иммунизация вакциной живой чумной (ВЧЖ) на основе вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. *Цель исследования* – оценить влияние комплекса факторов (возраст, пол, состояние здоровья, количество предыдущих вакцинаций против чумы, группа крови, полиморфизм генов HLA) на состояние клеточного и гуморального иммунитета у лиц, привитых ВЧЖ. *Материалы и методы.* Анализ венозной крови 347 добровольцев включал определение концентрации специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба, спонтанной и индуцированной продукции маркерных цитокинов (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-4) методом ИФА; генов HLA II класса методом real-time ПЦР. Анализ медицинской документации (форма № 025/у) и результатов анкетирования вакцинированных лиц проводился по разработанной форме-опроснику. *Результаты и обсуждение.* Изучено влияние различных, в том числе генетических, факторов на маркерные показатели гуморального и клеточного иммунного ответа у лиц, привитых ВЧЖ. У привитых добровольцев охарактеризована связь уровня продукции специфических антител к F1 чумного микроба и ряда маркерных цитокинов с их возрастом и количеством предыдущих вакцинаций. В обследованной когорте лиц выявлены наиболее часто встречающиеся варианты генов человеческого лейкоцитарного антигена II класса (HLA-DQA1, HLA-DQB1 и HLA-DRB1) и определены возможные взаимосвязи между продукцией IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4 и аллельным полиморфизмом генов HLA II класса. *Выводы.* Иммунологическая реактивность у лиц, привитых вакциной чумной живой, во многом обусловлена возрастом, количеством предыдущих вакцинаций против этой инфекции и индивидуальными особенностями генетического полиморфизма генов HLA.

**Ключевые слова:** иммунологический мониторинг, специфическая профилактика чумы, цитокины, полиморфизм генов HLA.

**Для цитирования:** Кудрявцева О.М., Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Кожевников В.А., Шуковская Т.Н., Каштанова Т.Н., Агапов Б.Л., Каляева Т.Б. Анализ факторов, влияющих на иммунологическую реактивность лиц, вакцинированных живой чумной вакциной // Здоровье населения и среда обитания. 2020. № 6 (327). С. 17–24 DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-327-6-17-24>

## The Analysis of Factors Influencing Immunologic Reactivity in People Vaccinated with a Live Plague Vaccine

O.M. Kudryavtseva<sup>1</sup>, A.Yu. Goncharova<sup>1</sup>, S.A. Bugorkova<sup>1</sup>, V.A. Kozhevnikov<sup>1</sup>, T.N. Shchukovskaya<sup>1</sup>, T.N. Kashtanova<sup>1</sup>, B.L. Agapov<sup>2</sup>, T.B. Kalyaeva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya Street, Saratov, 410005, Russian Federation

<sup>2</sup>Astrakhan Plague Control Station, 3 Kubanskaya Street, Astrakhan, 414000, Russian Federation

<sup>3</sup>Elista Plague Control Station, 28 Pushkin Street, Elista, Republic of Kalmykia, 358000, Russian Federation

**Abstract.** *Introduction:* An increase in epizootic activity has been registered in a number of plague foci in the Russian Federation over the past few years. As part of securing sanitary and epidemiologic wellbeing of the population living in the natural foci of the disease, a mass immunization with a live plague vaccine based of the *Yersinia pestis* EV line NIEG vaccine strain was carried out. *Objectives:* The purpose of the study was to assess the influence of a complex of factors including age, gender, health status, the number of previous vaccinations against plague, blood groups, and HLA gene polymorphism on the state of the cellular and humoral immune response in people vaccinated with the live plague vaccine. *Materials and methods:* The analysis of venous blood of 347 volunteers included determination of the concentration of specific antibodies to the capsular antigen (F1) of plague microbe, spontaneous and induced production of marker cytokines (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , and IL-4) by ELISA, and genes of the main histocompatibility complex (HLA) class II by real-time PCR. We also analyzed medical documentation (Form 025/u) and the results of a questionnaire-based survey of the vaccinated people. *Results and discussion:* We established the influence of various factors, including genetic ones, on marker indicators of the humoral and cellular immune response in persons vaccinated with the live plague vaccine. We also characterized the relationship between the level of specific antibodies to plague microbe F1 production and some cytokines and the age and the number of previous vaccinations in our volunteers. The most common gene variants of the main histocompatibility complex of class II (HLA-DQA1, HLA-DQB1 and HLA-DRB1) in the cohort were identified and possible relationships between the production of IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4 and allelic polymorphism of HLA class II genes were determined. *Conclusions:* Immunologic reactivity in people vaccinated with the live plague vaccine is mainly determined by age, the number of previous vaccinations against this infection, and individual characteristics of HLA gene polymorphism.

**Key words:** immunologic monitoring, specific plague prevention, cytokines, HLA gene polymorphism.

**For citation:** Kudryavtseva OM, Goncharova AYu, Bugorkova SA, Kozhevnikov VA, Shchukovskaya TN, Kashtanova TN, Agapov BL, Kalyaeva TB. The analysis of factors influencing immunologic reactivity in people vaccinated with a live plague vaccine. *Zdorov'e Naseeleniya i Sreda Obitaniya*. 2020; (6(327)):17–24. (In Russian) DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-327-6-17-24>

**Author information:** Kudryavtseva O.M., <https://orcid.org/0000-0002-9894-3394>; Goncharova A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-9994-7936>; Bugorkova S.A., <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>; Kozhevnikov V.A., <https://orcid.org/0000-0001-7267-7027>; Shchukovskaya T.N., <https://orcid.org/0000-0001-8995-0895>; Kashtanova T.N., <https://orcid.org/0000-0004-3306-7183>; Agapov B.L., <https://orcid.org/0000-0002-9496-2264>; Kalyaeva T.B., <https://orcid.org/0000-0002-8945-920X>.

**Введение.** Существование 11 природных очагов чумы на территории Российской Федерации, большая часть которых носит трансграничный характер, обуславливает особое внимание к проблеме специфической профилактики данной инфекции. В последнее десятилетие на территории Российской Федерации отмечен неуклонный рост эпизоотической активности в ряде очагов Сибири (Горно-Алтайский высокогорный, Тувинский горный природные очаги чумы). Очередной подъем эпизоотической активности зарегистрирован в 2013–2015 гг. в Прикаспийском песчаном природном очаге чумы [1]. С учетом данных текущего оперативного обследования и рисков развития эпидемических осложнений была усилена организационная работа по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия, включающая массовую профилактическую иммунизацию населения, проживающего на территории указанных очагов, вакциной чумной живой (ВЧЖ) на основе вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. Вакцинация проводилась согласно Федеральному закону № 157-ФЗ и Приказу Минздрава Российской Федерации от № 125н<sup>1,2</sup>.

В соответствии с инструкцией по применению ВЧЖ, при обострении эпизоотической ситуации прививкам подлежат население с двухлетнего возраста, проживающее на энзоотических по чуме территориях, а также лица, работающие с живыми культурами возбудителя чумы. Препарат обеспечивает напряженный иммунитет продолжительностью 6–12 месяцев, однако вопрос относительно длительности сохранения напряженного иммунитета после вакцинации ВЧЖ остается открытым. Качество мероприятий по специфической профилактике традиционно оценивается по иммунологической и эпидемиологической (полевой) эффективности вакцинации [2].

Для большинства вакциноуправляемых инфекций основным методом, определяющим эффективность поствакцинального иммунитета, остается серологический мониторинг. Однако при оценке эффективности специфической профилактики чумы такой подход мало информативен, так как в формировании противочумного ответа участвует в основном клеточная система защиты: макрофаги, Т- и В-лимфоциты [3].

Проведение комплексного иммунологического мониторинга, направленного на оценку клеточного и гуморального ответа на ВЧЖ, позволяет оценить эффективность формирования защиты от чумы в динамике. При этом степень выраженности иммунного ответа у каждого конкретного человека на прививку может зависеть от влияния целого ряда неспецифических факторов (пол, возраст, состояние соматического здоровья, антигенные

детерминанты групп крови и другие факторы). Так, установлена связь между антигенными детерминантами групп крови и индивидуальным уровнем адаптивной реакции организма при некоторых инфекциях [4, 5]. В то же время известно, что слабый иммунный ответ или его отсутствие при вакцинации регулярно наблюдаются у 5–15 % практически здоровых лиц [6], что, вероятно, обусловлено существованием высоко- и низкорезагирующих генотипов. Полагают, что генетические детерминанты, контролирующие функционирование иммунной системы, так или иначе связаны с генами человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) [7], принимающими участие в презентации антигенов и в значительной степени определяющими иммунный ответ, обуславливая за счет своего полиморфизма широкую вариабельность иммунного ответа на вакцинацию [8].

**Цель исследования** — оценить влияние комплекса факторов (возраст, пол, состояние здоровья, количество предыдущих вакцинаций против чумы, группа крови, полиморфизм генов HLA) на состояние клеточного и гуморального иммунитета у лиц, привитых вакциной чумной живой (ВЧЖ).

**Материалы и методы.** Работа выполнялась в рамках проведения иммунологического мониторинга за вакцинированными против чумы лицами (2016–2019 гг.) на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы и была одобрена этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета (регистрационный номер IRB00005197 <https://ohrp.cit.nih.gov/search/irbsearch.aspx>). Анализ медицинской документации проводился по форме № 025/у<sup>3</sup>.

**Индикаторные группы.** Анализу был подвергнут материал от 347 добровольцев: 217 человек индикаторной группы (119 женщин, 98 мужчин) и 130 человек группы сравнения, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы. Административно очаг располагается на территории Республики Калмыкия, Республики Дагестан, Чеченской Республики, Ставропольского края и Астраханской области.

Индикаторная группа включала в себя: сотрудников противочумных учреждений г. Астрахань (85 человек, среди них 53 мужчины и 32 женщины) и г. Элиста (40 человек, среди них 18 мужчин и 22 женщины); жителей Республики Калмыкия из категории риска по заболеванию чумой (92 человека), включая представителей г. Лагань Лаганского района (10 человек, среди них 9 женщин и 1 мужчина), п. Артезиан Черноземельского района (70 человек, среди них 20 мужчин и 50 женщин) и г. Элиста (12 человек, среди них 6 мужчин и 6 женщин). Возраст волонтеров варьировал от 22 до 69 лет (Me 41 (34;49)). Критерием включения добровольцев в исследование было отсутствие

<sup>1</sup> Федеральный закон от 17 сентября 1998 г. № 157-ФЗ «Об иммунопрофилактике инфекционных болезней» (с изменениями и дополнениями)

<sup>2</sup> Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 31 января 2011 г. № 51н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям».

<sup>3</sup> Приказ Министерства здравоохранения РФ от 15 декабря 2014 г. № 834н «Об утверждении унифицированных форм медицинской документации, используемых в медицинских организациях, оказывающих медицинскую помощь в амбулаторных условиях, и порядков по их заполнению» (с изменениями и дополнениями). Приложение № 1. Форма № 025/у «Медицинская карта пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях».

противопоказаний к вакцинации ВЧЖ, возраст не моложе 18 лет. От каждого волонтера было получено письменное добровольное согласие на участие в исследовании, и до предстоящей вакцинации проведено анкетирование. Группа сравнения состояла из жителей Лаганского (50 человек) и Юстинского (50 человек) районов Республики Калмыкия, а также жителей г. Элиста (30 человек), ранее не вакцинированных ВЧЖ, из числа лиц, не входящих в группу риска по контакту с возбудителем или переносчиком чумной инфекцией. Для адекватного анализа полученных результатов по данным изучения амбулаторных карт (форма № 025/у) лиц, планируемых на прививку ВЧЖ, группировали: 1-я группа – впервые привитые ВЧЖ лица из числа добровольцев, ранее не вакцинированных против чумы, (20 человек); 2-я группа – добровольцы, вакцинированные ВЧЖ через год после первой прививки, так называемая ревакцинация (94 человека); 3-я группа – люди, в прививочном анамнезе которых было 3 и более иммунизаций против чумы, (103 человека).

**Иммунизация вакциной живой чумной.** Для вакцинации использовали ВЧЖ производства ФКУЗ «Ставропольский НИПЧИ» (серии 5-14, 1-15, 3-15 и 2-16). Вакцинацию проводили накожным способом, в соответствии с инструкцией по применению препарата, специалисты медицинских организаций.

**Забор крови** из локтевой вены осуществляли в пробирки с антикоагулянтном – гепарином или ЭДТА (в зависимости от задач исследования) – и активатором свертывания. В соответствии с протоколом исследования кровь забирали до вакцинации, а также через 1, 6 и 12 месяцев после прививки.

**Количественное определение биомаркерных цитокинов** – IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , и IL-4 проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) с использованием тест-систем фирмы ЗАО «Вектор-Бест». Учет результатов осуществляли на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Lazurite» или на иммуноферментном анализаторе Stat Fax-3200.

**Имунофенотипирование Т-лимфоцитов хелперов (Th)-CD4+** и цитотоксических Т-лимфоцитов (Tcyt)-CD8+ осуществляли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител Cyto-Stat CD45/CD4/CD8/CD3 FITS/PE/ECD/PC5 (BACKMAN COULTER, США). Для каждого обследуемого вычисляли иммунорегуляторный индекс (ИРИ) по отношению Th к Tcyt (Th/Tcyt)

**Титры специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба** определяли с помощью тест-системы «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS», используя иммуноферментный анализатор Stat Fax-3200.

**Типирование генов HLA II класса** проводили методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе ДТ-Прайм с использованием комплектов реагентов HLA-DNK-TEX для детекции аллелей локусов DQA1, DQB1 и DRB1.

**Статистическую обработку данных** выполняли с использованием редактора Microsoft Office Excel 2007 и стандартного пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc.). Полученные данные выражали в виде медианы

(Me) и диапазона квартильных отклонений (Q25 %–Q75 %). При оценке достоверности различий сравниваемых величин использовали дисперсионный анализ. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ , однако  $p$ -значения от 0,05 до 0,1 также учитывались в исследовании.

**Результаты.** Иммунологическое обследование привитых против чумы добровольцев, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы, проводили в течение трех лет по разработанному ранее алгоритму [9], оценивая динамику изменения показателей клеточного и гуморального иммунного ответа на ВЧЖ.

Среди 10–15 % привитых добровольцев с высоким уровнем гуморального ответа были лица в возрасте до 25 лет и лица, привитые неоднократно. Значимой зависимости выраженности специфического гуморального ответа от пола или других учитываемых факторов не наблюдали. Несколько чаще среди лиц с исходно низким значением ИРИ регистрировали отсутствие специфического антителного ответа.

При оценке динамики титров специфических антител к белку F1 *Y. pestis* у обследуемых лиц были выявлены следующие закономерности: в 1-й группе только у 30 % привитых через месяц после иммунизации специфические антитела к белку F1 регистрировали на уровне или выше диагностического титра (1 : 80) (табл. 1). Дальнейший плавный рост титра специфических антител к F1 чумного микроба в этой группе отмечали к 6-му месяцу; но и к 12-му месяцу после прививки доля лиц с выраженным гуморальным ответом (титр специфических антител к F1 чумного микроба 1 : 160 и выше) не превышала 53 %.

Во 2-й группе доля лиц с титром специфических антител до очередной вакцинации была на уровне 58 % (диапазон значений показателя 1 : 80–1 : 640). Через месяц после прививки значимых изменений в формировании гуморального ответа у обследуемых добровольцев не отмечали, но к 6-му месяцу наблюдали повышение доли лиц с ростом продукции антител на 5,5 %. К 12-му месяцу доля лиц с титром 1 : 80 и выше достигала 71 %.

В 3-й группе диагностические титры антител к белку F1 (1 : 80) до очередной вакцинации регистрировали в 81 % случаев. Отличительной динамики в продукции антител через 6 и 12 месяцев в этой группе привитых не наблюдали. Значимое увеличение антителопродукции отмечали после второй и последующих вакцинаций. Уровень детекции антител в результате многократной (более десяти раз) вакцинации стабильно сохранялся на исходно высоком уровне, независимо от срока забора крови. В контрольной группе специфические антитела к белку F1 отсутствовали.

При анализе влияния дополнительных факторов на функциональную активность предикторов клеточного ответа было выявлено, что индуцированная продукция биологически активных регуляторов – цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-4, – рекомендованных в качестве показателей оценки уровня противочумного иммунитета у людей [10], как у мужчин, так и у женщин, достоверно не отличается от аналогичных

Таблица 1. Характеристика специфического антительного ответа к капсульному антигену (F1)

*Y. pestis* у людей, привитых ВЧЖTable 1. Characteristics of the specific antibody response to *Y. pestis* capsular F1 antigen in the volunteers vaccinated with the live plague vaccine

Факторы / Factors		Общая группа / General group (347)	Срок забора крови после вакцинации (по месяцам) / Time of blood testing after vaccination (month)	Реципрокные значения титров антител к капсульному антигену (F1) <i>Y. pestis</i> / Reciprocal values of antibody titers to <i>Y. pestis</i> capsular F1 antigen				
				80	160	320	640	1280
		Количество людей с зарегистрированными значениями титров (% от общего числа в группе) / The number of people with registered titer values (% of the group total)						
Пол / Gender	мужской / male	98	6	29 (29,5 %)	10 (10,2 %)	7 (7,1 %)	6 (6,1 %)	3 (3 %)
	женский / female	119	6	40 (33,6 %)	19 (15,9 %)	6 (5 %)	8 (6,7 %)	1 (0,8 %)
Возраст / Age	≤ 25	9	6	–	1 (11,1 %)	3 (33,3 %)	3 (33,3 %)	2 (22,2 %)
	26–55	175	6	36 (20,5 %)	22 (12,5 %)	26 (15,1 %)	19 (10,2 %)	7 (4 %)
	≥ 55	20	6	6 (30 %)	3 (15 %)	2 (10 %)	1 (5 %)	–
Группы людей по числу вакцинаций / Groups of people by the number of inoculations	1-я группа / Group 1	20	1	4 (20 %)	2 (10 %)	–	–	–
		19	6	4 (21 %)	4 (21 %)	–	–	–
		19	12	3 (15,7 %)	3 (15,7 %)	4 (21 %)	–	–
	2-я группа / Group 2	94	До ревакцинации / Before revaccination	15 (15,9 %)	12 (15,7 %)	17 (18,1 %)	8 (8,5 %)	–
		91	1	14 (15,3 %)	16 (17,5 %)	15 (16,4 %)	8 (8,7 %)	–
		88	6	17 (19,3 %)	15 (17 %)	11 (12,5 %)	10 (11,3 %)	3(3,4 %)
		94	12	18 (19,1 %)	17 (18 %)	16 (17 %)	14 (14,8 %)	2 (2,1 %)
	3-я группа / Group 3	103	До ревакцинации / Before revaccination	16 (15,5 %)	21 (20,3 %)	18 (17,4 %)	23 (22,3 %)	6 (5,8 %)
		97	1	15 (15,4 %)	15 (15,4 %)	20 (20,6 %)	18 (18,55 %)	10 (10,3 %)
		91	6	15 (16,4 %)	20 (21,9 %)	16 (17,5 %)	15 (16,4 %)	8 (8,7 %)
103		12	15 (14,5 %)	20 (19,4 %)	22 (21,3 %)	14 (13,5 %)	11 (10,6 %)	
Группа сравнения (невакцинированные) / Comparison group (unvaccinated)		130	–	–	–	–	–	–

Таблица 2. Зависимость продукции маркерных цитокинов и ИРИ у вакцинированных ВЧЖ добровольцев от пола, возраста, групп крови и количества предыдущих вакцинаций (через месяц после иммунизации)

Table 2. The dependence of marker cytokine and IRI production on gender, age, blood groups, and the number of previous inoculations in the volunteers vaccinated with the live plague vaccine (a month after immunization)

Факторы / Factors		Общая группа / Total group (217)	Маркеры / Th1-Th2 markers (Me(Q25-75))			ИРИ / IRI
			IFN-γ (пг/мл) / (pg/mL)	TNF-α (пг/мл) / (pg/mL)	IL-4 (пг/мл) / (pg/mL)	
Пол / Gender (N=209)	мужской / male	98	115,5(13,3-452,4)	33(5,7-117,3)	4,5(1,2-9,8)	1,4(1,1-1,9)
	женский / female	119	132,45(9,9-319,6)	32,6(2,7-83,8)	2,5(0,9-6,3)	1,5(1,2-2)
Возраст / Age (N=204)	≤ 25	9	328(73,7-688,1) <sup>a</sup>	84,3(21,5-229) <sup>a</sup>	3,2(0,4-8,2)	1,4(0,9-1,5)
	26–55	175	92,4(9,9-353,2)	23,1(2,9-97,6)	3,2(1,1-8,8)	1,5(1,2-2,0)
	≥ 55	20	202,8(105,2-342) <sup>a</sup>	45,6(26,5-102)	2,1(1-6,6)	1,4(0,9-2,3)
Группы крови / Blood groups (N=147)	I(O)	49	192,7(15,8-399)	47,2(6,3-129)	3,8(1-8,6)	1,6(1,3-2,1)
	II(A)	39	150(13,2-342)	50,6(2,7-139,5)	4(1,7-9,8)	1,7(1,2-2)
	III(B)	37	171,1(13,5-518,7)	38,1(3,6-185,4)	3,1(1,2-7,3)	1,3(1,2-1,8)
	IV(AB)	22	117,3(7,9-311)	18(1,4-88)	3,4(1,2-8)	1,9(1,2-2,6) <sup>a</sup>
Количество вакцинаций ВЧЖ / The number of inoculations with the live plague vaccine	1	17	159,1(14,6-319,6)	47,2(6,2-97,6)	2,8(2,3-5,3)	1,4(1,2-2,2)
	2	78	17,4(8-224,5) <sup>a</sup>	5,9(2,4-78,1) <sup>a</sup>	3,5(1,1-9,4)	1,5(1,2-1,9)
	≥ 3	97	197,3(14,6-407)	47,7(5,9-127,3)	2,8(1,1-7,8)	1,5(1,25-2,3)
Общее значение медианных показателей маркеров / Total for the medians of markers		217	127,2(10,5-356,5)	32,7(3,2-102,9)	3,05(1,1-8,1)	1,5(1,2-2)

Примечание: <sup>a</sup> – достоверность ( $p \leq 0,1$ ) по сравнению с общим значением медианных показателей у привитых людей.Note: <sup>a</sup> – statistically significant ( $p \leq 0.1$ ) compared to the total for the median indicators in the vaccinated volunteers.

медианных значений в группах. В то же время было отмечено, что продукция указанных цитокинов зависит от возраста: у лиц младше 25 лет значения IFN-γ и TNF-α были выше медианных показателей в группах ( $p = 0,08$ ). Для лиц старше 55 лет было характерным повышение продукции IFN-γ ( $p = 0,05$ ) (табл. 2).

Оценивая влияние антигенных детерминант групп крови на цитокиновый профиль вакцинированных ВЧЖ добровольцев, достоверных различий в значениях митоген-индуцированной продукции цитокинов через месяц после прививки не наблюдали. Тем не менее, более высокий уровень продукции IFN-γ и TNF-α

регистрировали у носителей антигенов I и III групп крови, а у лиц с IV группой значения указанных цитокинов были ниже медианных показателей в группах.

Помимо анализа зависимости профиля маркерных цитокинов от пола, возраста, антигенных детерминант групп крови и количества предыдущих вакцинаций ВЧЖ, искали взаимосвязь и с изменением показателя иммунорегуляторного индекса (ИРИ), отражающего соотношение Т-лимфоцитов хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов у привитых. Анализ данных ИРИ у вакцинированных ВЧЖ добровольцев выявил достоверно более высокие значения ИРИ у лиц с IV группой крови ( $p = 0,03$ ).

Статистически значимое снижение митоген-индуцированной продукции  $IFN-\gamma$  ( $p = 0,01$ ) и  $TNF-\alpha$  ( $p = 0,1$ ) через месяц после применения ВЧЖ отмечали только после повторного применения, при этом первое, как и многократное (3 и более раз), применение ВЧЖ достоверного снижения продукции тестируемых цитокинов  $IFN-\gamma$ ,  $TNF-\alpha$  и  $IL-4$  через месяц после прививки не вызывало.

Нами было проведено типирование генов главного комплекса гистосовместимости II класса HLA-DQA1, HLA-DQB1 и HLA-DRB1 у обследуемых лиц. Была определена частота распространения аллелей генов: HLA-DQA1, HLA-DQB1 и HLA-DRB1 среди добровольцев (рисунок).

Установлено, что у носителей аллелей генов DQB1\*05:01 продукция  $IFN-\gamma$  была выше медианных показателей в группах ( $p = 0,09$ ) (табл. 3), а у лиц с аллельными вариантами HLA-DQA1 \*02:01 и HLA-DQB1 \*03:02 отмечали снижение продукции как  $IFN-\gamma$ , так и  $TNF-\alpha$  ( $p \leq 0,05$ ). Кроме того, аллель HLA-DQB1 \*03:02 была ассоциирована с повышенной продукцией  $IL-4$  ( $p = 0,02$ ), а вариант HLA-DQA1 \*05:01 с низкими показателями указанного цитокина

( $p \leq 0,05$ ). Взаимосвязи между ИРИ и полиморфизмом аллелей HLA выявлено не было.

Не установлено влияния на продукцию маркерных цитокинов и ИРИ у привитых ВЧЖ добровольцев других анализируемых параметров, таких как: вакцинация против других инфекций (в частности, против гриппа) не менее чем за 6 месяцев до вакцинации против чумы; наличие в анамнезе перенесенных инфекционных заболеваний (гепатит А, эпидемический паротит, корь, ветряная оспа, краснуха); наличие хронических соматических заболеваний (сахарный диабет, диффузный зоб) (табл. 4).

**Обсуждение.** Одним из этапов многофакторного анализа в оценке клеточного и гуморального иммунитета у привитых против чумы людей было выявление индивидуальных особенностей реакции людей на прививку ВЧЖ. Опираясь на комплексный анализ иммунологических параметров, с учетом ряда косвенных показателей, влияющих на защитный потенциал организма, можно выделять группы лиц с высокой и низкой иммунной реактивностью на антигены чумного микроба и отбирать лиц, нуждающихся в индивидуальном подходе к вакцинации против чумы. Это позволит снизить возможный риск необоснованного применения вакцины на фоне остаточных реактивных процессов в иммунной системе добровольцев с повышенной реактивностью на ВЧЖ или, применяя схемы иммунокоррекции, повысить эффективность защиты от чумы лиц с низкой иммунной реактивностью.

Для многих инфекций определен защитный титр антител, обеспечивающий устойчивость к заражению привитых, но для ВЧЖ защитный титр до настоящего времени не установлен. Анализ влияния дополнительных факторов на реципрокное значение титров антител к F1 у привитых ВЧЖ лиц показал зависимость уровня продукции специфических антител от

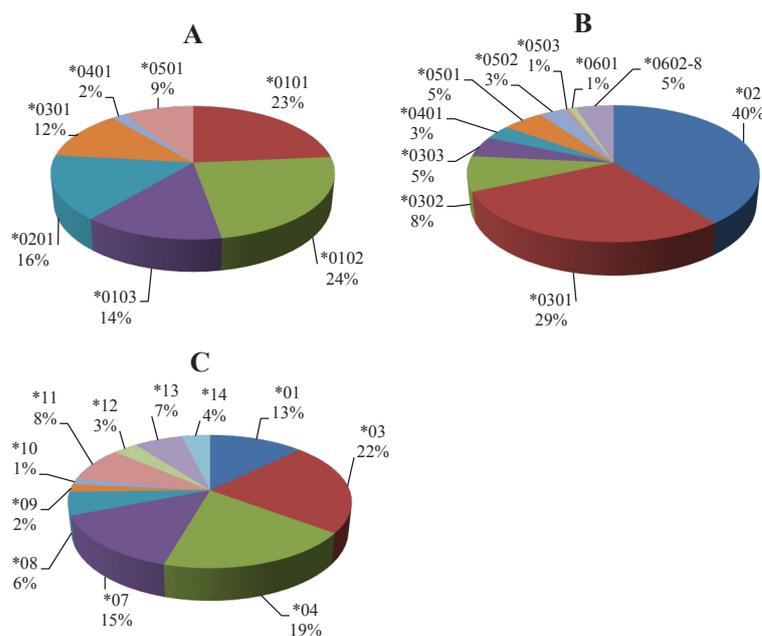


Рисунок. Соотношение аллелей локусов HLA-DQA1 (А), HLA-DQB1(Б) и HLA-DRB1(В) у вакцинированных ВЧЖ людей, %

Figure. The ratio of alleles of HLA-DQA1 (A), HLA-DQB1(B) and HLA-DRB1(C) loci in the volunteers vaccinated with the live plague vaccine, %



так как ген TNF локализован в пределах локуса главного комплекса гистосовместимости, расположенного на 6-й хромосоме [19], а цитокин IFN- $\gamma$  является не только мощным активатором макрофагов, гранулоцитов, клеток эндотелия, но и индуктором экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости.

Отсутствие значимого влияния таких факторов, как пол, группа крови, наличие в анамнезе перенесенных инфекционных или хронических заболеваний, а также иммунизация против других инфекций, на иммунологическую реактивность привитых ВЧЖ добровольцев позволяет более точно определить эффективность специфической профилактики чумы в общей популяции контингента риска, проживающего на территории природных очагов чумы.

**Заключение.** Проведен анализ влияния различных, в том числе генетических, факторов на маркерные показатели гуморального и клеточного ответа у лиц, привитых ВЧЖ. Установлена связь между динамикой накопления специфических антител к F1 чумного микроба, митоген-индуцированной продукцией маркерных цитокинов у привитых против чумы добровольцев с их возрастом и количеством предыдущих вакцинаций. Определены аллельные варианты генов главного комплекса гистосовместимости II класса HLA-DQA1, HLA-DQB1 и HLA-DRB1 у обследованных добровольцев, и установлена связь между наиболее часто встречающимися вариантами генов HLA-DQA1 и HLA-DQB1 и уровнем продукции цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-4 в ответ на ВЧЖ.

Дальнейшее изучение связи полиморфизма генов HLA с продукцией основных маркерных показателей иммунологической эффективности ВЧЖ у вакцинированных против чумы людей будет способствовать расширению понимания механизмов, лежащих в основе варибельности показателей иммунного ответа на вакцинацию. Комплексный анализ факторов, влияющих на иммунологическую реактивность лиц, привитых ВЧЖ, позволяет рассматривать возможность применения персонализированного подхода к специфической профилактике чумы на территории природных очагов этой инфекции.

**Благодарности.** Выражаем благодарность руководству и сотрудникам территориального Управления Роспотребнадзора по Республике Калмыкия, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Калмыкия» за помощь в организации сбора клинического материала.

#### Информация о вкладе авторов:

Концептуализация: С.А. Бугоркова, О.М. Кудрявцева, Т.Н. Шуковская, Б.Л. Агапов, Т.Б. Каляева.  
Подготовка материала: О.М. Кудрявцева, А.Ю. Гончарова, В.А. Кожевников, Т.Н. Каштанова.  
Кураторы данных: О.М. Кудрявцева, А.Ю. Гончарова, В.А. Кожевников, Б.Л. Агапов, Т.Б. Каляева.  
Методология: О.М. Кудрявцева, А.Ю. Гончарова, С.А. Бугоркова, Т.Н. Шуковская.  
Анализ данных: О.М. Кудрявцева, В.А. Кожевников, А.Ю. Гончарова.  
Валидация: С.А. Бугоркова, О.М. Кудрявцева, В.А. Кожевников, А.Ю. Гончарова, Т.Н. Шуковская.  
Написание статьи: О.М. Кудрявцева, А.Ю. Гончарова.  
Редактирование статьи: С.А. Бугоркова, Т.Н. Шуковская.

#### Список литературы

(пп. 3–5, 7, 8, 11–15, 19 см. References)

1. Попов Н.В., Карнаухова И.Г., Пакскина Н.Д. и др. Оценка современной эпидемиологической обстановки в природных очагах чумы мира. Повышение эффективности эпидемиологического надзора в природных очагах чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2019 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2019. № 1. С. 81–88.
2. Брико Н.И., Лобзин Ю.В., Баранов А.А. и др. Оценка эффективности вакцинации: основные подходы и спорные вопросы // Педиатрическая фармакология. 2014. Т. 11. № 4. С. 8–15.
6. Медуницын Н.В., Миронов А.Н. Вакцины. Новые способы повышения эффективности и безопасности вакцинации // Вопросы вирусологии. 2012. № S1. С. 43–51.
9. Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н., Микшис Н.И. и др. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчанного очага чумы в Республике Калмыкия // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17, № 3 (100). С. 38–49
10. Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н., Микшис Н.И. и др. Научно-методическое обеспечение мероприятий по проведению иммунологического мониторинга вакцинированных против чумы лиц, проживающих на территориях природных очагов инфекции // Проблемы особо опасных инфекций. 2018. № 2. С. 6–13.
16. Дятлов И.И., Фирстова В.В., Бондаренко Н.Л. и др. Стратегия оценки поствакцинального иммунитета против туляремии и чумы // Аллергология и иммунология. 2016. Т. 17. № 2. С. 112–114.
17. Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И. и др. Оценка иммунологической эффективности вакцинации населения против чумы в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17. № 6. С. 87–97.
18. Кудрявцева О.М., Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н. и др. Ассоциация показателей функциональной активности маркеров Th1 и Th2 иммунитета с полиморфизмом генов HLA у лиц, вакцинированных против чумы // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 2. С. 315–324.

#### References

1. Popov NV, Karnaukhov IG, Pakskina ND, *et al.* Analysis of the current epidemiological situation in natural plague foci around the world. Enhancement of the effectiveness of epidemiological surveillance in natural plague foci of the Russian Federation and forecast of their epizootic activity for 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*. 2019; (1):81–88. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-1-81-88>
2. Briko NI, Lobzin YV, Baranov AA, *et al.* Vaccination effectiveness analysis: main approaches and controversial issues. *Pediatricheskaya Farmakologiya*. 2014; 11(4):8–15. (In Russian).
3. Philipovskiy AV, Smiley ST. Vaccination with live *Yersinia pestis* primes CD4 and CD8 T cells that synergistically protect against lethal pulmonary *Y. pestis* infection. *Infect Immun*. 2007; 75(2):878–85. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.01529-06>
4. Cooling L. Blood groups in infection and host susceptibility. *Clin Microbiol Rev*. 2015; 28(3):801–70. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-14>
5. Heggelund JE, Varrot A, Imbert A, *et al.* Histo-blood group antigens as mediators of infections. *Curr Opin Struct Biol*. 2017; 44:190–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2017.04.001>
6. Medunitsyn NV, Mironov AN. Vaccines. New approaches for the enhancement of vaccination efficiency and safety. *Voprosy Virusologii*. 2012; (S1):43–51. (In Russian).

7. Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB, *et al.* Vaccinomics and a new paradigm for the development of preventive vaccines against viral infections. *OMICS*. 2011; 15(9):625–36. DOI: <https://doi.org/10.1089/omi.2011.0032>
8. Neeffjes J, Jongasma ML, Paul P, *et al.* Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11(12):823–36. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri3084>
9. Bugorkova SA, Shchukovskaya TN, Mikishis NI, *et al.* Comprehensive immunological study of persons vaccinated with live plague vaccine living on the territory of the pre-Caspian sand foci of the plague in the Republic of Kalmykia. *Epidemiologiya i Vaksinoprofilaktika*. 2018; 17(3): 38–50. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50>
10. Bugorkova SA, Shchukovskaya TN, Mikishis NI, *et al.* Scientific and methodological support of activities on carrying out immunological monitoring of vaccinated against plague persons residing in the territories of natural foci of the infection. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*. 2018; (2):6–13. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-2-6-13>
11. Sagiyev Z, Berdibekov A, Bolger T, *et al.* Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014–2015. *PLoS ONE*. 2019; 14(6):e0218366.
12. Wiegeling V, Eylich M, Wunder C, *et al.* Age-related changes in intracellular cytokine expression in healthy children. *Eur Cytokine Netw*. 2009; 20(2):75–80. DOI: <https://doi.org/10.1684/ecn.2009.0149>
13. Fisman DN, Agrawal D, Leder K. Effect of age on immunologic response to recombinant hepatitis B vaccine: A meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2002; 35(11):1368–75. DOI: <https://doi.org/10.1086/344271>
14. Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Vierkant RA, *et al.* Consistency of HLA associations between two independent measles vaccine cohorts: A replication study. *Vaccine*. 2012; 30(12):2146–52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.01.038>
15. Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Vierkant RA, *et al.* Human leukocyte antigens and cellular immune responses to anthrax vaccine adsorbed. *Infect Immun*. 2013; 81(7):2584–91. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00269-13>
16. Dyatlov II, Firstova VV, Bondarenko NL, *et al.* Evaluation strategy of postvaccination immunity against plague and tularemia. *Allergologiya i Immunologiya*. 2016; 17(2):112–14. (In Russian).
17. Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, *et al.* Immunological efficiency of human plague vaccination in the Gorno-Altai high-mountain natural plague focus. *Epidemiologiya i Vaksinoprofilaktika*. 2018; 17(6):87–97. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-6-87-97>
18. Kudryavtseva OM, Bugorkova SA, Shchukovskaya TN, *et al.* An association between parameters of Th1 and Th2 cell-related functional activity and HLA gene polymorphism in individuals after anti-plague vaccination. *Infektsiya i Immunitet*. 2019; 9(2):315–324. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-2-315-324>
19. Campbell RD, Trowsdale J. Map of the human MHC. *Immunol Today*. 1993; 14(7):349–52. DOI: [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(93\)90234-C](https://doi.org/10.1016/0167-5699(93)90234-C)

**Контактная информация:**

Кудрявцева Ольга Михайловна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»  
e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)

**Corresponding author:**

Olga M. Kudryavtseva, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”  
e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)

Статья получена: 21.04.2020  
Принята в печать: 08.06.2020

