

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ  
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

Федеральное казенное учреждение здравоохранения  
«Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский  
противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»

*На правах рукописи*

**КОРЫТОВ Константин Михайлович**

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ  
ИММУНИТЕТА У ЛИЦ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЧУМЫ**

3.3.3. Патологическая физиология

**Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук  
Дубровина В.И.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА ОЦЕНКИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К ЧУМЕ.....	16
1.1 Специфическая профилактика чумы.....	16
1.2 Роль клеточных и гуморальных маркеров в прогностической оценке поствакцинального иммунитета.....	25
1.3 Взаимосвязь ассоциаций генов главного комплекса гистосовместимости (HLA) II класса с особенностями иммунного ответа....	33
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	39
2.1 Характеристика группы добровольцев, проживающих на территории природных очагов чумы Сибири.....	39
2.1.1 Характеристика групп добровольцев, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы.....	41
2.1.2 Характеристика групп добровольцев, проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы.....	41
2.2 Этическая экспертиза.....	42
2.3 Вакцина живая чумная.....	42
2.4 Забор и транспортировка крови для исследования.....	43
2.5 Получение сыворотки крови и ее транспортировка.....	44
2.6 Подготовка проб для определения спонтанной и индуцированной продукции цитокинов клетками крови, их хранение и транспортировка.....	45
2.7 Количественное определение спонтанной и индуцированной продукции цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-4, IFN- $\gamma$ ) клетками крови.....	46
2.8 Иммуноферментный метод количественного определения IgG, IgM,	

IgA в сыворотке крови.....	47
2.9 Количественное определение IgE в сыворотке крови.....	48
2.10 Выявление антител к F1 <i>Yersinia pestis</i> иммуноферментным методом..	49
2.11 Иммунофенотипирование лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19) с применением проточной цитофлуориметрии.....	51
2.12 Типирование генов гистосовместимости человека (HLA) II класса методом амплификации ДНК.....	52
2.12.1 <i>Выделение ДНК</i> .....	52
2.12.2 <i>Типирование генов DQA1, DQB1 и DRB1 методом амплификации ДНК в режиме реального времени</i> .....	53
2.13 Статистические методы .....	56
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	57
3.1 Показатели гуморального иммунитета у вакцинированных против чумы людей.....	57
3.1.1 <i>Содержание основных классов иммуноглобулинов M, G, A и E</i> .....	57
3.1.2 <i>Показатели специфического иммунитета у вакцинированных против чумы людей</i> .....	63
3.2 Цитокиновый профиль у вакцинированных против чумы людей.....	67
3.3 Показатели клеточного звена иммунитета у вакцинированных против чумы людей.....	78
3.4 Взаимосвязь полиморфизма генов HLA II и показателей иммунного статуса у вакцинированных против чумы людей.....	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	106
ВЫВОДЫ .....	118
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	120
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	122

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень её разработанности**

Наличие активных природных очагов чумы на территории Российской Федерации (РФ), вероятность завоза особо опасных инфекционных заболеваний из стран ближнего и дальнего зарубежья вследствие активизации миграционных процессов обуславливает высокую актуальность проблемы специфической профилактики чумы [Балахонов С.В. и др., 2016 а, б; Попова А.Ю. и др., 2016, 2021].

В РФ в последнее десятилетие наблюдается выраженная тенденция к росту объемов противочумной вакцинации – с 4,3 тыс. в 2013 г. до 37 тыс. – в 2022 г. [Афони娜 Н.М., Михеева И.В., 2022]. Для специфической профилактики чумы применяется вакцина чумная живая сухая (ВЧЖ, Россия), вызывающая развитие иммунитета длительностью до года [Вакцины и вакцинация: национальное руководство, 2011; Куница Т.Н., 2021].

В формировании противочумного иммунитета ведущая роль принадлежит клеточным факторам иммунитета [Дубровина В.И., 2016; Попова А.Ю. и др., 2021; Philipovsky A.V., 2007; Levy Y., 2011], а наличие специфических антител не всегда коррелируют с защитой организма от чумной инфекции [Бывалов А.А. и др., 2007; Бугоркова С.А. и др., 2018; Попова А.Ю. и др., 2021]. В связи с тем, что процент положительной сероконверсии у лиц, вакцинированных ВЧЖ, не достигает 100 % и варьирует в пределах от 35 % до 80 % [Бугоркова С.А. и др., 2018; Кравцов А.Л. и др., 2020; Попова А.Ю. и др., 2021], серологическая оценка иммунологической эффективности не отражает в полной мере истинный уровень иммунобиологической перестройки организма в ответ на введение ВЧЖ и функциональную активность клеток врожденного и адаптивного иммунитета.

Для большинства инфекций, в том числе чумы, защитные уровни клеточных реакций у людей не определены [Фирстова В.В., 2016; Бугоркова С.А. и др., 2018; Williamson E.D., 2013; Feodorova, V.A. et al., 2018]. В связи с этим поиск биомаркеров, свидетельствующих о наличии напряженного противочумного иммунитета, а также разработка критериев оценки иммунологической эффективности вакцинации против чумы является актуальным направлением исследований.

Как известно, клеточно-опосредованный противочумный иммунный ответ развивается по доминирующему Th1 пути (Т-хелперы 1 типа, Th1), который характеризуется появлением патоген-специфических Т-лимфоцитов, синтезирующих IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  [Бугоркова С.А. и др., 2018; Du Y., 2002; Philipovskiyy A.V., 2007]. IFN- $\gamma$  регулирует иммунный ответ и выраженность воспалительных реакций, является активатором фагоцитов и индуктором экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости [Хаитов Р.М. и др., 2011; Хаитов Р.М. и др., 2017].

Экспериментально на моделях бубонной и легочной формы чумы доказано, что наличие высоких титров антител к антигенам *Y. pestis* на фоне низкой активности синтеза цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-17 у лабораторных животных не защищает их от гибели при чумной инфекции [Elvin S.J., 2004; Parent M.A., 2005].

В этой связи важным критерием эффективности, отражающим клеточное звено противочумного иммунитета, является перераспределение в соотношении Т- и В-лимфоцитов, а также регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, имеющих маркеры CD3, CD4, CD8, CD45, CD19, маркер ранней активации клеток CD69, спонтанная и индуцированная продукция маркерных Th1- и Th2-цитокинов [Фирстова В.В. и др., 2016; Бугоркова С.А. и др., 2018].

Основным источником образования IFN- $\gamma$  служат активированные Т-лимфоциты (Th1) и натуральные киллерные клетки (NK-клетки). Цитокин IL-4 индуцирует селективное переключение В-клеток на синтез IgG1 и IgE. Он также влияет на Т-клетки как фактор роста, способствуя дифференцировке Th2-

лимфоцитов и усиливая тем самым антителообразование [Бельский Ю.П. и др., 2009; Богомолов С.В., 2009; Anderson D.M. et al., 2009]. Исследования уровней цитокинов в культурах клеток крови наиболее адекватно отражают ситуацию *in vivo*, сохраняя условия микроокружения [Дмитриева Л.А. и др., 2005; Кетлинский С.А., 2009], и позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, о соотношении процессов активации клеток Th1- и Th2-типов.

Имеются сведения о том, что одной из причин низкой эффективности вакцинации являются генетические и фенотипические особенности формирования иммунного ответа в популяции, что определяет актуальность разработки персонализированного подхода к вакцинации [Брико Н.И., 2012; Бугоркова С.А. и др., 2018]. Генетический контроль системы иммунокомпетентных клеток, растворимых факторов и антител осуществляется генами иммунного ответа (Immune response, Ir), которые локализуются в главном комплексе гистосовместимости. Продуктами Ir-генов являются антигены классов I и II, которые принимают участие практически во всех иммунологических реакциях [Медуницын Н.В., 2010; Дубровина В.И. и др., 2016]. Сейчас хорошо известно, что гены HLA (human leucocyte antigens, лейкоцитарные антигены человека), играют главную роль в развитии адаптивного иммунного ответа на возбудителя инфекционных заболеваний [Хаитов Р.М. и др., 2017; Dendrou C.A. et al., 2018].

В настоящее время достаточно интенсивно ведутся исследования по поиску ассоциаций между особенностями HLA-фенотипа и состоянием защитных систем макроорганизма [Кудрявцева О.М. и др. 2017, 2019]. Имеются сведения о взаимосвязи между наличием в гаплотипе европеоидов генов HLA-A1 и HLA-B8, а также HLA-DR3 и особенностями иммунного статуса, позволяющими более эффективно осуществлять противoinфекционную защиту независимо от природы возбудителя. Исследование генетических маркеров существенно повышает прогностическую ценность иммунологических исследований [Зверев В.В. и др.,

2011]. Вместе с тем, сведения о генотипировании системы HLA II класса у вакцинированных против чумы лиц незначительны [Кудрявцева О.М. и др. 2017, 2019]. В связи с чем, оценка иммунологической эффективности противочумной вакцинации людей, проживающих на территории природных очагов чумы, разработка и внедрение в практику современных технологий, основанных на применении антигенспецифических клеточных тестов *in vitro* и молекулярно-генетических методов типирования генов HLA, будут способствовать пониманию патогенетических механизмов вариаций иммунного ответа после вакцинации и применению персонализированного подхода при проведении мероприятий по специфической профилактике чумы.

**Цель исследования** – выявить патогенетические механизмы формирования иммунитета у людей, вакцинированных против чумы, на основании оценки состояния клеточного и гуморального звеньев и профиля HLA II для обоснования персонализированного подхода к специфической профилактике.

Для реализации поставленной цели последовательно решались следующие **задачи**:

1. Установить патофизиологические особенности состояния гуморального звена иммунитета у вакцинированных добровольцев по показателям содержания основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA и IgE) и наличию антител класса G к капсульному антигену F1 чумного микроба.

2. Выявить патофизиологические особенности клеточного иммунитета у людей, вакцинированных против чумы по уровню продукции цитокинов Th1- (провоспалительные IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ ) и Th2-клеток (противовоспалительный IL-4) и субпопуляционному составу лимфоцитов крови.

3. Определить взаимосвязь генетических полиморфизмов генов HLA II и показателей иммунологической реактивности организма при вакцинации против чумы.

4. Установить наиболее значимые показатели гуморального, клеточного иммунного ответа и вклад генов HLA II к персонализированному подходу специфической профилактики чумы.

#### **Научная новизна работы**

Впервые в рамках проекта по оценке эффективности специфической профилактики чумы проведен иммунологический мониторинг населения, проживающего на территориях активных природных очагов чумы Сибири (Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного).

Получены новые данные, свидетельствующие о том, что противочумная вакцина (ВЧЖ) способствует формированию иммунитета, достаточного для своевременной активации Т- и В-клеток памяти и поддержания иммунологической эффективности.

Новыми являются данные об антиген-индуцированной продукции провоспалительных цитокинов (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), ассоциированной с Th1-ответом, которые подтверждают положение о клеточно-опосредованном противочумном иммунном ответе. У вакцинированных (ревакцинированных) против чумы лиц реакция иммунной системы направлена преимущественно по доминирующему Th1-пути.

Разработаны иммунологические критерии оценки *in vitro* напряженности противочумного иммунитета, имеющие прогностическое значение для оценки иммунологической эффективности вакцинации ВЧЖ населения и оптимизации мероприятий по специфической профилактике чумы на территории природных очагов.

Приоритетными являются данные об особенностях распределения аллелей генов HLA II класса (DRB1, DQA1 и DQB1) на молекулярно-генетическом уровне среди населения, проживающего на территории Тувинского горного и Горно-Алтайского высокогорного природных очагов чумы и вакцинированного живой чумной вакциной. Выявлена взаимосвязь аллельных групп \*02, \*03:01, \*03:02,

\*03:03, \*05:02/\*05:04, \*06:01, \*06:02-8 гена *HLA-DQB1* с уровнем секреции цитокинов при формировании противочумного иммунитета. В качестве предиктора высокой реактивности иммунной системы организма может рассматриваться аллель *DRB1\*16* и *DQB1\*03:05*.

Новыми являются данные о наиболее значимых показателях гуморального, клеточного иммунного ответа и патофизиологическом вкладе генов HLA II в разработку дифференцированного подхода к специфической профилактике чумы. Анализ ассоциации генов HLA II с уровнем IgG к F1 чумного микроба установил потенциальную значимость аллелей гена *DRB1\*09*, \*13, \*14 и \*15 при формировании поствакцинального иммунитета к чуме. Аллельные варианты генов *DRB1\*13* и \*15, а также *DQB1\*02*, \*03:01, \*03:02, \*03:05 и \*06:02-8 являются потенциальными генетическими маркерами направленности и интенсивности иммунного ответа для таргетированного подхода к специфической профилактике в природных очагах чумы.

Предложен патогенетически обоснованный дифференцированный подход к изучению механизмов формирования поствакцинального иммунитета к чуме. Получены новые данные, позволяющие оценить безопасность противочумной вакцинации на эндемичных территориях, а также ее иммунологическую и профилактическую эффективность.

### **Теоретическое и практическое значение работы**

Показана диагностическая значимость методов антигенспецифической активации Т-лимфоцитов *in vitro* для оценки эффективности противочумного иммунитета в динамике вакцинального процесса. Научно обоснованы предложения по использованию базового набора доступных и информативных иммунологических тестов для оценки эффективности вакцинации против чумы, позволяющие оптимизировать мероприятия по специфической профилактике на территории природных очагов («ИФА-АТ-Ф1 *Yersinia pestis*», показатели IFN- $\gamma$ /IL-4, ИРИ). Определены аллельные варианты генов HLA II класса (*DRB1*, *DQA1* и *DQB1*) у

людей, проживающих на территории Тувинского и Горно-Алтайского природных очагов чумы. Выявлена ассоциация аллельных групп данных генов с показателями клеточного и гуморального звеньев опосредованного иммунного ответа на вакцинацию ВЧЖ. Полученные результаты показывают, что полиморфизм генов HLA-DRB1, HLA-DQA1 и HLA-DQB1 имеет значимые взаимосвязи с показателями секреции цитокинов, иммуноглобулинов и содержания основных популяций лимфоцитов крови. Выявление ассоциаций аллельного полиморфизма генов HLA с маркерами клеточного и гуморального звеньев иммунитета будет способствовать подбору иммунодоминантных Т-клеточных эпитопов для усовершенствования существующих или создания новых вакцинных препаратов.

Результаты исследований послужили основой для разработки и модификации методов изучения бактерицидных механизмов фагоцитоза и иммунной перестройки организма, которые отражены в методических рекомендациях – «Обеззараживание образцов крови, содержащих *Yersinia pestis*, для проведения цитофлуориметрических исследований» (Иркутск, 2015) и учебном пособии «Цитологические исследования методом флуоресцентной сортировки клеток (FACS-АНАЛИЗ) на проточном цитофлуориметре BD FACSCANTO™ II» (Иркутск, 2018). Полученные результаты многолетнего иммунологического мониторинга за лицами, привитыми ВЧЖ, проведенного в рамках 3-х комплексных тем НИР института, выполненных в рамках 2-х распоряжений Правительства РФ обобщены в монографии «Специфическая профилактика чумы: состояние и перспективы» и внесены в пополняемую Базу данных «Показатели иммунологического мониторинга вакцинированных против чумы людей, проживающих на территории Горно-Алтайского и Тувинского природных очагов чумы» (Свидетельство о регистрации № 2002622944 от 17.11.2022 г.). Получен патент на изобретение «Способ оценки противочумного иммунитета в клеточных тестах *in vitro*» (Патент RU 2852124 С 1 от 03.12.2025 г. Заявка № 2024136116/10(080199) от 21.04.2025 г.).

Разработаны методические рекомендации «Антигенспецифические тесты *in vitro* для оценки эффективности иммунопрофилактики чумы у людей» (одобрены ученым советом и утверждены руководством института). В настоящее время на рассмотрении и утверждении в Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ находятся методические рекомендации федерального уровня «Дифференцированный подход к применению вакцины чумной живой при вакцинации контингентов риска на фоне обострения эпизоотической активности в природном очаге чумы», подготовленные нами на основе прогнозно-ориентированного подхода по организации и проведению мероприятий по специфической профилактике чумы на территориях ее природных очагов.

Материалы исследований внедрены в практику научно-исследовательской работы ФКУЗ Иркутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора, ФКУЗ «Тувинская противочумная станция» Роспотребнадзора и ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора, а также включены в лекционные курсы при подготовке кадров для учреждений Роспотребнадзора и других ведомств по программам дополнительного профессионального образования при ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

### **Методология и методы исследования**

В работе использованы классические и современные методы исследования (иммунологические, иммуногенетические, иммуноцитометрические, молекулярно-генетические и статистические). Иммунологические методы (ИФА) использованы при оценке содержания специфических антител к F1 чумного микроба, основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA, общего IgE), спонтанной и антигениндуцированной продукции в культуре клеток крови биомаркерных цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-4. Посредством проточной цитофлуориметрии определены показатели субпопуляционного состава лимфоцитов (CD3, CD4, CD8,

CD16, CD19 и др.). Молекулярно-генетические (ПЦР) методы применены для определения HLA-типа у вакцинированных против чумы лиц.

Все полученные материалы статистически обработаны стандартными методами.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Патолофизиологические особенности состояния гуморального звена иммунитета у людей, вакцинированных против чумы, характеризуются фазностью продукции основных классов иммуноглобулинов: снижение показателей IgG и IgM после вакцинации ВЧЖ и их повышение после ревакцинации. Уровень специфических антител к F1 чумного микроба зависит от сроков и кратности вакцинации.

2. У вакцинированных против чумы людей реакция иммунной системы направлена преимущественно по доминирующему Th1-пути, которая характеризуется индуцированной продукцией провоспалительных цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , ассоциированных с Th1-ответом, что указывает на ведущую роль клеточного звена иммунной системы в динамике формирования и реализации противочумного иммунитета.

3. Вакцинация против чумы способствует формированию защитного иммунного ответа, достаточного для своевременной активации Т- и В-клеток памяти и поддержания иммунологической эффективности. Отсутствие патологических изменений в субпопуляционном составе клеток крови, цитотоксических Т-лимфоцитов, а также увеличение иммунорегуляторного индекса в пределах референсных значений и возрастание процентного содержания Т-хелперов свидетельствуют о формировании адаптивного клеточного иммунитета.

4. Предикторами иммунологической реактивности клеточного и гуморального звеньев иммунитета у лиц, вакцинированных против чумы, являются аллельные группы \*13 и \*15 гена *HLA-DRB1* и \*02, \*03:01, \*03:02 и \*06:02-8 гена *HLA-DQB1*.

## **Степень достоверности результатов и апробация работы**

О достоверности результатов работы свидетельствует достаточный объем исследований с применением как классических, так и современных, высокочувствительных методов с автоматизированной оценкой и учетом результатов, адекватных методов статистической обработки полученных данных.

Материалы, изложенные в диссертации, обсуждены и представлены на:

- Международных научных конференциях «Молекулярные основы эпидемиологии, диагностики, профилактики и лечения актуальных инфекций» (СПб, 2018); «Современные проблемы зоонозных болезней» (Улан-Батор, 2019);
- Международном симпозиуме по иерсиниям «Yersinia 14» (г. Санкт-Петербург, 2022);
- XV Межгосударственной научно-практической конференции «Актуальные вопросы обеспечения эпидемиологического благополучия в трансграничных природных очагах чумы и других опасных инфекционных болезней» (Иркутск, 2021);
- XI съезде ВНПОЭМП «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения» (Москва, 2017);
- Всероссийских Конгрессах по инфекционным болезням (Москва, 2017-2023); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных» (Ставрополь, 2017); IX Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (Иркутск, 2017); XI Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (Уфа, 2019); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию академика И.Н. Блохиной «Эпидемиологический надзор за актуальными инфекциями: новые угрозы и вызовы» (Нижний Новгород, 2021); XIII

Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (Екатеринбург, 2021); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (Москва, 2023); XVII Межгосударственной научно-практической конференции государств-участников СНГ «Актуальные вопросы санитарной охраны территории и снижения рисков распространения чумы и других опасных инфекционных болезней» (Иркутск, 2024), XVII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора (Ставрополь, 2025);

- научных конференциях ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (Иркутск, 2017-2025 гг.).

В основу диссертационной работы положены исследования, проведенные в рамках трёх тем НИР института: «Оценка иммунологической эффективности вакцинопрофилактики в природных очагах чумы» (№ ГР АААА-А16-1161128100060-3, 2016-2017 гг.); «Иммунологический мониторинг в природных очагах чумы Российской Федерации как основа для совершенствования тактики применения мероприятий по специфической профилактике» (№ ГР АААА-А19-11901090023-5, 2018-2019 гг.); «Интеграция иммунологического мониторинга в систему организации и проведения эпидемиологического надзора за чумой» с № ГР АААА-А20-120012090032-0 (2020-2022 гг.) и результатов исследований, выполненных в рамках Отраслевых научно-исследовательских программ «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями» (2016-2020 гг.) и «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней» (2021-2025 гг.).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 22 научные работы, из которых 9 публикаций в ведущих научных рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ, в том числе в отечественных и зарубежных рецензируемых журналах, индексируемых в базах Russian Science Citation Index, Web of Science и Scopus, одна коллективная монография, патент на изобретение, база данных, учебное пособие и две методические рекомендации.

### **Личный вклад соискателя**

Автор участвовал в проведении экспериментов, получении биологического материала, обобщении и анализе полученных результатов. В работах, выполненных в соавторстве, вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от постановки задач, их экспериментально-теоретической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

### **Объем и структура работы**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, заключения, выводов и списка литературных источников. Работа изложена на 141 страницах машинописного текста, иллюстрирована 14 таблицами и 15 рисунками. Список литературных источников содержит 153 наименования, в том числе 92 – зарубежных.

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА ОЦЕНКИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРОТИВ ЧУМЫ

#### 1.1 Специфическая профилактика чумы

Чума остается одной из самых опасных инфекционных болезней. Природные очаги этого тяжелейшего инфекционного заболевания встречаются в Евразии, на Африканском и Американском континентах. Современный период характеризует повышение эпизоотической активности в ряде природных очагов чумы [Попов Н.В. и др., 2018; Aikimbayev A.M., Bekenov J.Y. et al., 2010; Sagiyeu Z. et al., 2019], возрастание вероятности распространения инфекции как на энзоотичной территории, так и риск диссеминации чумы за ее пределы, а также возможность применения возбудителя чумы в качестве агента биотерроризма [Li B., Yang R., 2008; Hammamieh R., Muhie S., et al., 2016]. Все это обуславливает особое внимание к вопросам противодействия распространению и профилактики болезни.

На территории Российской Федерации расположены 11 природных очагов чумы, большинство из которых имеют трансграничный характер. В России для предотвращения угрозы распространения чумы на территории природных очагов инфекции разработан комплекс мер, включающий применение мероприятий по специфической и неспецифической профилактике этой опасной болезни. Стратегия специфической профилактики чумы обоснована практическим опытом работы противочумных учреждений страны по предупреждению заболевания чумой людей. Вакцинацию применяют в случае риска заражения в природных очагах этой инфекции, в период регистрации локальных и разлитых эпизоотий и при проведении мероприятий по локализации и ликвидации эпидемических очагов. Для

специфической профилактики чумы в России и в ряде стран СНГ используют вакцину чумную живую (ВЧЖ) на основе аттенуированного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, выпускаемую ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Штамм *Y. pestis* EV линии НИИЭГ является субкультурой аттенуированного штамма *Y. pestis* EV 76 (с наличием в нем протяженной делеции *pgm*-области), полученного путем длительных пассажей из вирулентного штамма чумного микроба, выделенного в 1926 году на острове Мадагаскар Ж. Жираром и Д. Робиком (1963) от больного бубонной формой чумы человека и переданного в 1936 году из института Пастера (Франция) в Россию (Саратовский государственный институт «Микроб») [Попова А.Ю. и др., 2021].

ВЧЖ направлена против множества антигенов-мишеней и генерирует как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ, обеспечивая высокую степень защиты без использования адъювантов. Доказательством эффективности ВЧЖ является опыт применения иммуногенных линий аттенуированного штамма *Y. pestis* EV (EV76, EV Сайгон, EV Мадагаскар, EV НИИЭГ) для вакцинации людей в регионах с высоким уровнем заболевания чумой, когда было отмечено, что массовая вакцинация против чумы значительно уменьшает число случаев заболевания бубонной формой инфекции и снижает риск развития легочной чумы [Butler T., 2009, 2014; Hinnebusch V.J., 2016; Baril L. et al., 2019; Rascovan N., 2019].

Кроме ВЧЖ в Российской Федерации лицензирована вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (ВЧММ), предназначенная для военнослужащих спецподразделений радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных сил РФ и лиц старше 18 лет [Дятлов И.А. и др., 2018; Дятлов И.А. и др., 2025]. Для широкого применения среди гражданского населения данный препарат не используется.

Вакцинопрофилактика является также одним из важнейших аспектов медицинского обеспечения биологической безопасности лиц, работающих с микроорганизмами I-II групп патогенности, что закреплено действующими

санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и приказом Минздравсоцразвития Российской Федерации от 31.01.2011 г. № 51н и от 06.12.2021 г. № 1122 н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок», согласно которым все лица, проводящие работы с объектами и материалами, содержащими и подозрительными на содержание микроорганизмов I-II групп патогенности (чумы, туляремии, бруцеллеза, сибирской язвы), подлежат вакцинопрофилактике.

В первую очередь к ним относятся персонал противочумных учреждений и специализированных противоэпидемических формирований.

В России для специфической профилактики чумы применяется живая сухая чумная вакцина отечественного производства (ВЧЖ), имеющая государственную регистрацию и вызывающая развитие иммунитета длительностью до года [Зверев В.В. и др., 2011; Попова А.Ю. и др., 2021]. В этой связи, работников противочумных учреждений вакцинируют ежегодно, ревакцинацию осуществляют по мере угасания иммунного ответа (через один год) или по эпидемическим показаниям (через шесть месяцев), что обуславливает высокий уровень антигенной нагрузки на их организм [Богачева Н.В., 2013; Попова А.Ю. и др., 2021].

Согласно Международным медико-санитарным правилам (2005 г.), чума относится к группе инфекций, требующих незамедлительного уведомления ВОЗ в случаях, обусловленных потенциальным риском глобального (межгосударственного) распространения инфекции [Demeure С.Е., Dussurget О., 2019].

Риски возникновения вспышек чумной инфекции в мире подтверждаются эпидемией чумы в 2017 г. на Мадагаскаре, когда было зарегистрировано 2348 случаев чумы, в том числе 202 (8,6 %) со смертельным исходом. В 70 % случаев выявлена легочная форма болезни. Кроме того, угроза использования

высоковирулентных штаммов *Y. pestis* в качестве агентов биотерроризма продолжает оставаться актуальной [Микшис Н.И., Кутырев В.В, 2019; Mead P., 2018; Sun W., Singh A.K., 2019].

Из соображений безопасности ВОЗ не рекомендует для специфической профилактики чумы использование убитых корпускулярных и живых аттенуированных вакцин первого поколения. Следуя рекомендациям ВОЗ, власти Республики Мадагаскар не стали применять предоставленную Российской Федерацией в качестве гуманитарной помощи живую чумную вакцину на основе штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ для ликвидации крупной вспышки легочной чумы в 2017 г. [Kopylov P.Kh., Vakhteeva I.V. et al., 2012]. Однако известно, что вакцинный штамм *Y. pestis* EV длительно использовался на Мадагаскаре, что способствовало многократному снижению заболеваемости чумой и смертности в республике [Sun W., Singh A.K., 2019].

По данным ВОЗ, в последнее время не было лицензировано на международном уровне ни одного препарата противочумных вакцин [Efficacy trials of Plague Vaccines, 2018].

В Париже в апреле 2018 г. под эгидой ВОЗ проведен международный семинар, на котором ведущими специалистами разных стран рассмотрены актуальные вопросы вакцинопрофилактики чумы. Согласно отчетным материалам семинара, актуальная позиция ВОЗ в отношении специфической профилактики чумы определяет необходимость иммунизации населения как на эндемичной по чуме территории, так и в районах, где не может быть обеспечено своевременное проведение диагностических и лечебно-профилактических мероприятий (территориально удаленные и труднодоступные районы, зоны конфликтов, где разрушены инфраструктуры жизнеобеспечения и медицинских учреждений) [Efficacy trials of Plague Vaccines, 2018].

ВОЗ рассматривает необходимость разработки и использования средств специфической профилактики как для плановой вакцинации, так и в случаях, когда

необходима экстренная иммунизация (вспышки чумы, акты биотерроризма). Превентивное использование вакцины против чумы направлено на защиту населения, проживающего на территориях природных очагов этой инфекционной болезни, или сотрудников организации здравоохранения, научно-исследовательских учреждений, занятых в работе по эпизоотологическому мониторингу очаговой территории, диагностике и изучению чумного микроба. Экстренное использование вакцин против чумы направлено на защиту людей в районах вспышек (прерывание механизма антропонозной передачи возбудителя). Иммунобиологические препараты, предназначенные для экстренной специфической профилактики чумы, должны обеспечивать быстрое формирование протективного иммунитета после первой дозы. Рассматривается необходимость экстренной иммунизации на фоне проведения постконтактной этиотропной химиопрофилактики, особенно среди лиц с подозрением на легочную форму чумы [ВОЗ: разработка вакцин-кандидатов против чумы; Efficacy trials of Plague Vaccines, 2018; Sun W., Singh A.K., 2019].

Экспертной группой ВОЗ предложен протокол испытания целевого продукта вакцины для борьбы с чумой, который должен быть ориентиром для разработки вакцин [Efficacy trials of Plague Vaccines, 2018].

Наиболее коммерчески доступные живые вакцины против чумы в мире изготовлены на основе штамма *Y. pestis* EV Argm. Такие препараты инициируют формирование комплексного иммунного ответа, однако вакцины также способны вызывать местные и системные побочные реакции различной степени тяжести у 5-29 % привитых [Efficacy trials of Plague Vaccines, 2018; Sun W., Singh A.K., 2019].

T. Jefferson с соавторами провел большую аналитическую работу по имеющимся научным данным, касающимся изучению оценки эффективности различных противочумных вакцин. Косвенные данные, полученные в ходе обсервационных исследований, позволили авторам предположить, что инактивированные вакцины могут быть более эффективными и вызывать меньше побочных эффектов, чем аттенуированные. Вместе с тем, долгосрочные последствия

применения какой-либо противочумной вакцины не изучены [Jefferson T. et al., 2000].

Генетическая модификация бактерий позволяет осуществлять конструирование аттенуированных, высокоиммуногенных штаммов со стабильными свойствами. Направленный сайт-специфический мутагенез микроорганизма при отсутствии условий горизонтального переноса генов патогенности позволяет исключить риск реверсии к вирулентному варианту и тем самым обеспечить безопасность вакцины [Cote C.K. et al., 2021; Hartley L. et al., 2023; Anisimov A.P. et al., 2025].

В 2018 г. Минздравом России зарегистрирована химическая вакцина для специфической профилактики чумы – вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (регистрационный номер – ЛП004808). Препарат разработан специалистами ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора и представляет собой лиофилизат для подкожного введения, состоит из рекомбинантных антигенов F1 и V, заключенных в микрокапсулы [Дятлов И.А. и др. 2018]. Продуцент V-антигена (G113) – рекомбинантный штамм *E. coli* BL21 (DE3)/pETV-I-3455. Вследствие спонтанной точечной мутации в позиции 113 аминокислотной последовательности LcrV произошла замена триптофана на глицин, что привело к изменению физических свойств белковой молекулы и повышению иммуногенности [Корулов Р.К., Вакхтеева I.V. et al., 2012]. Продуцент капсульного антигена – рекомбинантный штамм *Y. pseudotuberculosis* EV11M/ pFSK3/9, содержащей плазмиду pFSK3 с включенным в её состав локусом *cafI* оперона *Y. pestis*. В экспериментальных исследованиях вакцина защищала не менее 70 % мышей и морских свинок от заражения дозой 10-30 LD<sub>50</sub> вирулентного штамма *Y. pestis* 231 [Дятлов И.А., Анисимов А.П., и др., 2018; Anisimov A.P. et al., 2025].

Отечественный препарат позиционируется, прежде всего, как средство специфической профилактики чумы среди личного состава войск Министерства

обороны Российской Федерации и МЧС, действующих в чрезвычайных ситуациях и зонах конфликтов. Первичная иммунизация проводится двукратно по 0,5 мл с интервалом в 21 сут. Вакцина может быть использована для ревакцинации после первичной вакцинации ВЧЖ. Одна доза для подкожного введения содержит очищенные рекомбинантные антигены (F1-антиген 75-90 мкг и V-антиген 75-90 мкг), а также гидроокись алюминия, стабилизаторы и консерванты [Дятлов И.А., Анисимов А.П., и др., 2018; Anisimov A.P. et al., 2025].

В последние десятилетия в мире интенсивно ведутся исследования по разработке средств для специфической профилактики чумы. На сегодняшний день в мире III фазы клинических испытаний вакцины против чумы не проводилось. Исследователями предложено не менее 17 прототипов препаратов чумных вакцин. Ряд других кандидатов находится в стадии исследования. ВОЗ недавно представила руководство по проведению III фазы клинических испытаний [Попова А.Ю. и др., 2021; ВОЗ, 2023; Kopylov P.Kh., Bakhteeva I.V. et al., 2012; Sun W., Singh A.K., 2019].

Механизмы индуцирования защитного противочумного иммунитета сложны и различаются в зависимости от дизайна вакцины и путей введения, в дополнение к вариациям иммунного ответа. Наиболее перспективные разработки направлены на конструирование субъединичных препаратов на основе рекомбинантных антигенов *Y. pestis*, генетически модифицированных штаммов, а также на использование бактерий и вирусов в качестве векторов для доставки иммунодоминантных антигенов возбудителя чумы [Feodorova, V.A. et al., 2014; Feodorova, V.A. et al., 2018].

В последние годы усилия по разработке подходящей вакцины против чумы для человека были сосредоточены на субъединицах антигенов F1 и V.

Кандидатные препараты на основе рекомбинантных антигенов достигли наибольшего прогресса в плане проведения доклинических исследований. Ряд прототипов испытан на приматах. Отдельные импортных субъединичных вакцин на основе rF1V и SV1 успешно прошли II фазу испытаний. Разработана и

зарегистрирована в установленном порядке в Российской Федерации отечественная молекулярная микроинкапсулированная вакцина против чумы (ВЧММ) [Дятлов И.А., Анисимов А.П. и др., 2018; Anisimov A.P. et al., 2025].

По мнению исследователей, большинство из предложенных субъединичных вакцин на основе F1, LcrV и других антигенов в основном индуцируют гуморальный иммунный ответ, который наиболее эффективно нейтрализуют бактерии при их внеклеточной локализации. Такие препараты, как правило, требуют бустеризации или введения мощных адъювантов. Однако использование адъювантов часто вызывает побочные тканевые реакции, а для устойчивого иммунного ответа требуются многократные дозы. Кроме того, вакцины на основе F1-LcrV могут быть неэффективны при инфицировании безфракционными штаммами *Y. pestis* или теми, которые содержат варианты LcrV с измененными аминокислотными последовательностями (наличие полиморфизмов LcrV у подвидов *Y. pestis*) [Li B., Du C., Zhou L. et al., 2012]. Эти недостатки являются основными препятствиями на пути к повышению эффективности противочумной вакцины.

В статье S.K. Verma и U. Tuteja рассмотрены научные достижения в разработке субъединичных вакцин, роль молекулярных адъювантов, ДНК-вакцин, платформ для доставки живых микроорганизмов и аттенуированных вакцин, разработанных для борьбы с вирулентными штаммами *Y. pestis* [Verma S.K., Tuteja U., 2016].

В качестве вакцинных векторов наибольшую перспективу для создания противочумных векторных вакцин имеют модифицированные вирусы, не способные к репликации. Активно внедряются гибридные векторы, которые позволяют увеличить потенциал вектора – повысить нагрузочную способность, иммуногенность, долгосрочную трансгенную экспрессию и безопасность (минимизация риска генотоксичности) [Дятлов И.А. и др., 2025; Zietz V.P., Dunkelberg H., 2004; Anisimov A.P. et al., 2025].

В 2023 г. ВОЗ представил обзор потенциальных вакцин против чумы [ВОЗ: разработка вакцин-кандидатов против чумы, 2023].

Продолжаются работы по созданию живых аттенуированных вакцинных штаммов *Y. pestis* со специально определенными мутациями, обуславливающими баланс безопасности и защитной эффективности [Попова А.Ю. и др., 2021; Дятлов И.А. и др., 2025; Anisimov A.P. et al., 2025]. Рациональное изменение живого аттенуированного *Y. pestis* для индукции как гуморальных, так и клеточно-опосредованных иммунных ответов на несколько антигенов возбудителя чумы, вероятно, будут обеспечивать более сильную защиту, чем вакцины, основанные на комбинации нескольких антигенов. Вместе с тем известно, что наиболее эффективная направленная аттенуация путем таргетного нарушения регуляции генов, обеспечивающих реализацию патогенного потенциала микроба чумы, может способствовать снижению приживаемости бактерий в организме хозяина. Ранняя элиминация штамма-мутанта может привести к формированию слабого, транзиторного иммунного ответа макроорганизма. Соответственно, авирулентные штаммы чумы, полученные путем делеции генов, кодирующих механизмы вирулентности, требуют более широкого изучения и, возможно, дополнительной модификации с целью повышения потенциала для персистенции и иммуногенности.

Очевидно, что исследование живых аттенуированных вакцин против чумы в настоящее время представляет собой недостаточно активно используемую платформу для создания эффективного средства для специфической профилактики. Живые аттенуированные штаммы имеют преимущества перед субъединичными препаратами, поскольку их можно адаптировать к наиболее удобному пероральному применению, при этом они могут индуцировать выраженный специфический мукозальный и стойкий системный иммунитет. К преимуществам живых вакцинных штаммов можно также отнести их способность стимулировать комплексный иммунный ответ гуморального и клеточного звена при одновременном премиривании иммунной системы хозяина многими иммуноактивными антигенами.

Накопленный положительный опыт, достигнутый в последние годы существенный прогресс развития иммунобиологии и интенсивная интеграция

методов генной инженерии в биотехнологию средств специфической профилактики позволяют с оптимизмом рассматривать перспективы создания в недалеком будущем эпидемиологически эффективных препаратов чумных вакцин.

## **1.2 Роль клеточных и гуморальных маркеров в прогностической оценке поствакцинального иммунитета**

Вакцинация людей против чумы на территории Российской Федерации, согласно Календарю прививок по эпидемическим показаниям [Приказ Министерства здравоохранения РФ № 125н ..., 2014], проводится накожным введением вакцины чумной живой (лиофилизированная живая культура вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ), которая, согласно инструкции по применению препарата, формирует напряженный иммунитет продолжительностью 6-12 месяцев и предусматривает необходимость ежегодной ревакцинации людей. Накожный способ введения живой чумной вакцины охарактеризован как слабо реактогенный. По экспериментальным данным положительная сероконверсия при противочумной вакцинации напрямую зависит от наличия местной и общей реакции у вакцинируемого [Девдариани З.Л., 1977; Дубровина В.И. и др., 2016; Бугоркова С.А. и др., 2018; Попова А.Ю. и др., 2021]. В настоящее время, одной из причин низкой эффективности вакцинации рассматриваются генетические и фенотипические особенности формирования иммунного ответа в популяции, что определяет актуальность выработки персонализированного подхода [Зверев В.В., 2011; Брико Н.И., 2012]. В связи с этим совершенствование стратегии проведения мероприятий по специфической и неспецифической профилактики и тактики применения вакцины чумной живой на территориях природных очагов этой инфекции, в том числе, с учетом конкретных условий сложившейся эпидемиологической ситуации, тесно связано с формированием методологии иммуноэпидемиологического наблюдения за населением на территории природных очагов инфекции.

В период с 2000 по 2019 гг. эпизоотии чумы регистрировали в 5 из 11 природных очагов Российской Федерации [Попов Н.В., Карнаузов, 2020]. В 2014 и 2016 гг. после длительного эпидемического благополучия были отмечены единичные случаи заболевания людей бубонной формой чумы. Заражения произошли на фоне эпизоотии в популяции серого сурка на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага [Балахонов С.В. и др., 2013, 2014; Кутырев В.В., Попова А.Ю. 2014; Попова А.Ю., Кутырев В.В., 2016]. Экстраординарный случай заражения людей чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай послужил основанием для инициации масштабного исследования продолжительности и выраженности иммунологической перестройки в организме вакцинированных против чумы лиц, с уточнением временных особенностей формирования реакций клеточного и гуморального ответов, получением объективных данных о безопасности использования вакцины, в том числе, в условиях ежегодной вакцинации. Представившаяся возможность провести обследование лиц, вакцинированных ВЧЖ, по определенному алгоритму позволит получить объективные данные об эффективности и безопасности препарата, но по косвенным показателям иммунологической реактивности.

В многочисленных исследованиях отечественных и зарубежных ученых продемонстрирована высокая эффективность применения методов антигенной активации лейкоцитов *in vitro* для диагностики различных инфекций и оценки напряженности специфического адаптивного клеточного иммунитета [Шмелькова Т.П. и др., 2006; Щуковская Т.Н., Фирстова В.В., Кравцов А.Л. и др. 2007; Фирстова В.В. и др., 2016; Половинкина В.С. и др., 2019; Попова А.Ю. и др., 2021; Almajid F.M., 2011; Daenthanasanmak A., Salguero G. et al., 2012; Raue H.P., Beadling C., 2013]. Существующие проблемы оценки специфического иммунитета при чуме обусловлены: отсутствием коммерческих антигенных препаратов и/или тест-систем, информативных тестов для *in vitro* оценки специфического иммунитета; сложностью

и трудоемкостью применяемого для иммунологического мониторинга алгоритма исследования.

Разрозненные научные изыскания, направленные на решение этих проблем, проводятся в разных научно-исследовательских учреждениях Роспотребнадзора [Фирстова В.В. и др., 2016; Куличенко А.Н., Абзаева Н.В. и др., 2017; Дятлов И.И. и др., 2019; Кравцов А.Л., Бугоркова С.А. и др., 2020], но единого подхода к оценке напряженности специфического иммунитета до сих пор не выработано. В этих исследованиях для индукции специфического ответа используют разные антигены, а учет характера реакции клеток крови идет по оценке экспрессии различных рецепторов на них. Ряд рецепторов CD25, CD69 и CD71 рассматривают как ранние активационные маркеры иммунного ответа, а HLA-DR и CD95 – как поздние активационные маркеры [Dentovskaya S.V. et al., 2016].

В настоящий момент в мире разрабатываются и проходят испытание 17 прототипов противочумных вакцин, ВОЗ пересмотрела свое отношение к специфической профилактике чумы и указала на острую необходимость разработки и применения вакцин для профилактики чумы на территориях, где не гарантирована своевременная диагностика и лечение этого опасного инфекционного заболевания [Kolodziejek A.M. et al., 2012]. Это повлечет за собой необходимость разработки соответствующего инструментария и методологии оценки эффективности создаваемых вакцин, а следовательно, сравнения с имеющимся лицензированным в России препаратом – ВЧЖ.

Адаптивный иммунный ответ представляет собой специфическую реакцию Т- и В-лимфоцитов, направленную на уничтожение патогенного агента. В развитии иммунного ответа можно выделить две последовательно сменяющиеся стадии [Ярилин А.А., 2010]: индуктивную, в основе которой лежит отбор и клональная пролиферация иммунных клеток (Т- и В-лимфоцитов), а главную роль в защите макроорганизма от патогена играют элементы врожденного иммунитета; эффекторную, во время которой созревшие факторы адаптивного иммунитета

опосредуют элиминацию чужеродного агента посредством клеточных и гуморальных механизмов. Основным событием инициации адаптивного иммунитета лежит распознавание CD4<sup>+</sup> или CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитами с помощью специфических клеточных рецепторов (TCR) чужеродных пептидов (антигенов), экспрессируемых на поверхности антигенпрезентирующих клеток (АПК) в составе молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) [Ковальчук Л.В., Банковская Л.В., Мешкова Р.Я., 2012; Amedei A. et al., 2011]. В содействии с костимулирующими сигналами АПК такая активация ведет к отбору и клональной пролиферации субпопуляций лимфоцитов, специфичных к этому антигену. В свою очередь активированные CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты значительно расширяют список клеток, вовлекаемых в иммунный ответ [Ярилин А.А., 2010], оказывая цитокиноопосредованное и костимулирующее воздействие на эффекторные клетки (В-лимфоциты, макрофаги и цитотоксические Т-лимфоциты).

Важным звеном системы адаптивного иммунитета являются В-клетки, активность которых лежит в основе гуморального иммунного ответа, преимущественно направленного на поражение внеклеточных патогенов. В-лимфоциты распознают антигены в нативной форме при помощи В-клеточного рецептора, имеющего иммуноглобулиновую природу [Ковальчук Л.В. и др., 2012]. Распознавание антигена сопровождается поглощением комплекса антиген-рецептор, его внутриклеточным перевариванием и экспрессией антигенного пептида в составе МНС-II клеточной мембраны. Последующая презентация антигена Th2-лимфоцитам приводит к получению от них активационных сигналов (посредством костимулирующей молекулы CD40 и ростового фактора IL-4), что вызывает пролиферацию клонов активированных В-лимфоцитов и их последующую дифференцировку в плазматические клетки, синтезирующие антитела заданной специфичности, а также В-клетки памяти [Ярилин А.А., 2010; Nothelfer K., Sansonetti P.J., Phalipon A., 2015]. Антитела выступают в качестве основных эффекторных молекул гуморального адаптивного иммунитета. Многие компоненты чумного

микроба способны индуцировать синтез специфических антител. Так, использование белкового микрочипа, содержащего 144 белка, ассоциированных с вирулентностью *Y. pestis*, для обнаружения антител у пациентов с чумой позволило выявить 14 антигенов, антитела к которым присутствовали у всех обследованных, в число которых вошли F1, YopD, YopE, рН6, а также 10 ранее неустановленных факторов, отмечено, что антитела к LcrV отсутствовали у пяти пациентов [Li B., Zhou D., Wang Z. et al., 2008; Li D. et al., 2020]. Антитела могут в течение нескольких лет сохраняться в организме, кроме того, при вторичной инфекции В-клетки памяти способны быстро рекрутироваться и дифференцироваться в плазмодциты. Анализ образцов сыворотки крови 65 человек, переболевших чумой в период с 1990 по 2005 год, проведенный с помощью ИХА, показал, что 78,5 % обследованных имели антитела к F1-антигену, при этом распространенность антител у лиц, перенесших заболевание за более чем 10 лет от начала исследования, составила 69,5 % [Li B., Du C., Zhou L. et al., 2012]. Отмечено, что наличие антител к F1 не зависело от пола, возраста и времени, прошедшего с момента инфицирования, но коррелировало с уровнем антител на момент заражения.

Выработка специфических антител при заражении *Y. pestis* вносит существенный вклад в защиту макроорганизма от патогена. Тем не менее показано, что выживаемость приматов при аэрозольном инфицировании не всегда коррелировала с уровнем специфических антител и часть животных погибала при наличии высоких титров Ig к LcrV [Bashaw J., Norris S., Weeks S. et al., 2007; Feng J. et al., 2020]. Таким образом, продукции антител к отдельным факторам патогена может быть недостаточно для адекватной защиты против чумного микроба.

В ряде исследований показано, что для формирования полноценного иммунного ответа при чуме необходимо развитие специфических клеточных факторов. Установлено, что Th1-зависимый иммунный ответ оказывает наибольшее влияние на исход инфекции, провоцируемой возбудителем чумы [Elvin S.J., Williamson E.D., 2004].

Показано, что продуцируемые Т-клетками  $\text{TNF}\alpha$  и  $\text{INF}\gamma$ , а также NO-синтаза играют ключевое значение в клеточном иммунном ответе при легочной чуме [Parent M.A., Wilhelm L.B., Kummer L.W. et al., 2006]. В этой работе удалось выяснить, что введение мышам линии  $\mu\text{MT}$  моноклональных антител к  $\text{TNF}\alpha$  и  $\text{INF}\gamma$  отменяет защиту животных от интраназального заражения патогеном, которая была ранее индуцирована вакцинацией мышей живыми бактериями *Y. pestis* [Parent M.A., Berggren K.N., Kummer L.W. et al., 2005].

В экспериментах на  $\text{TNF}\alpha$ - и  $\text{INF}\gamma$ -дефицитных мышах продемонстрировали, что именно цитокины вносят решающий вклад в клеточный иммунитет при чуме [Szaba F.M. et al., 2014].

В формировании противочумного иммунитета ведущая роль принадлежит клеточным факторам иммунитета [Philipovsky A.V., 2007; Levy Y., 2011; Feodorova V.A. et al., 2018], а наличие специфических антител не всегда коррелируют с защитой организма от чумной инфекции [Дальвадянц С.М. и др., 2003; Бывалов А.А. и др., 2011; Wang X. et al., 2011; Wang X. et al., 2013; Wang X. et al., 2020]. Процент положительной сероконверсии у лиц, вакцинированных ВЧЖ, не достигает 100 % и варьирует в пределах от 35 % до 80 % [Ляпина А.М. и др., 2012]. В связи с чем серологическая оценка иммунологической эффективности не отражает в полной мере истинный уровень иммунобиологической перестройки организма в ответ на введение ВЧЖ и функциональную активность клеток врожденного и адаптивного иммунитета (как гуморальных, так и клеточных звеньев).

Для большинства инфекций, в том числе и чумы, где основную роль играет клеточный иммунитет, защитные уровни клеточных реакций у людей не определены, что обуславливает продолжающийся поиск биомаркеров, свидетельствующих о наличии напряженного противочумного иммунитета.

Клеточно-опосредованный противочумный иммунный ответ развивается по доминирующему Th1 пути, который характеризуется появлением патоген-специфических Т-лимфоцитов, синтезирующих  $\text{INF}\gamma$ ,  $\text{TNF}\alpha$  [Anisimov A.P. et al.,

2004; Philipovskiy A.V., Smiley S.T., 2007; Do Y. et al., 2012; Feodorova, V.A. et al., 2018; Anisimov A.P. et al., 2025]. IFN- $\gamma$  регулирует иммунный ответ и выраженность воспалительных реакций, является мощным активатором макрофагов, гранулоцитов, клеток эндотелия и индуктором экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости [Кетлинский С.А. и др., 2009].

Большая роль в усилении бактерицидной активности макрофагов кроме IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  [Lukaszewski R.A. et al., 2005] принадлежит IL-17, имеющего также особо важное значение при формировании мукозального противочумного иммунитета [Lin J.S. et al., 2011]. Экспериментально на моделях бубонной и легочной формы чумы доказано, что наличие высоких титров антител к антигенам *Y. pestis* при низкой активности синтеза цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-17 у биомодельных животных (инбредные мыши, человекообразные и нечеловекообразные приматы) не защищает их от гибели от чумной инфекции [Elvin S.J., Williamson E.D., 2004; Parent M.A., 2005; Shattock R.J. et al., 2023].

В этой связи важным критерием эффективности, отражающим клеточное звено противочумного иммунитета, является перераспределение в соотношении Т- и В-лимфоцитов и регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, имеющих маркеры: CD3 (общий для всех Т-лимфоцитов), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-киллеры), CD45 (Т-клетки памяти), CD19 (В-лимфоциты) [Богачева Н.В., Дармов И.В. и др., 2013; Богачева Н.В., Крючков А.В. и др., 2013], маркер ранней активации клеток CD69 [Фирстова В.В. и др., 2016], спонтанная и индуцированная продукция маркерных Th1- и Th2-цитокинов [Щуковская Т.Н. и др., 2011; Feodorova V.A. et al., 2014; Zhang S.S. et al., 2008; Feodorova V.A. et al., 2018].

Основным источником образования IFN- $\gamma$  служат активированные Т-лимфоциты (Т-хелперы 1 типа) и натуральные киллерные клетки (NK-клетки). Цитокин IL-4 (первоначально известный как фактор 1 В-клеточной активации или дифференцировки) индуцирует селективное переключение В-клеток на синтез IgG1 и IgE. Он также влияет на Т-клетки как фактор роста, способствуя дифференцировке

Th2-лимфоцитов и усиливая тем самым антителообразование [Бельский Ю.П. и др., 2009; Богомолов С.В., 2009; Anderson D.M. et al., 2009]. Исследование уровней цитокинов в культурах клеток цельной крови наиболее адекватно отражает ситуацию *in vivo*, сохраняя условия микроокружения [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2002; Дмитриева Л.А. и др., 2005], и позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, о соотношении процессов активации Т-хелперов 1-го и 2-го типов.

Таким образом, комплекс иммунологических на основе проточно-цитометрических технологий и иммуносерологических тестов, характеризующих состояние клеточного звена (фенотипирование лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19), антиген-индуцированная продукция в культуре клеток крови биомаркерных цитокинов Th1 (IFN- $\gamma$ , IL-17) и Th2 (IL-4) субпопуляций лимфоцитов, маркера апоптоза CD95 – клеточного рецептора Fas лиганда), гуморального звена (определение антител к капсульному антигену F1 чумного микроба, концентраций основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA и IgE) позволит объективно оценить иммунологическую эффективность (фактическую привитость), а также иммунологическую безопасность проведенной вакцинации (ревакцинации) ВЧЖ вышеуказанного контингента лиц.

Учитывая все вышеизложенное, разработка и внедрение в практику новых подходов к оценке эффективности иммунопрофилактики чумы, основанных на применении антигенспецифических клеточных тестов *in vitro* с использованием современного высокоточного аналитического оборудования и широкая интеграция этих подходов в систему организации и проведения эпидемиологического надзора за чумой является актуальным направлением научных исследований. Реально существующая вероятность завоза особо опасных инфекционных заболеваний из стран ближнего и дальнего зарубежья вследствие расширения транспортных связей и активизации миграционных процессов, угроза применения биологических агентов в террористических актах, а также наличие активных природных очагов чумы на

территории России, способных привести к эпидемическим осложнениям чрезвычайного характера, обуславливает высокую актуальность проблемы специфической профилактики чумы.

В настоящее время отсутствуют утвержденные стандарты для оценки уровня противочумного иммунитета у людей. При ряде инфекционных заболеваний (таких как корь, столбняк, дифтерия, полиомиелит, гепатит В и др.) определены так называемые защитные титры, то есть минимальное содержание в крови антител, обеспечивающих защиту от инфекции, детекцию которых осуществляют сертифицированными тест-системами, зарегистрированными для практического применения [Медуницын Н.В., 2010; МУ 3.1.2943-11 «Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В)].

### **1.3 Взаимосвязь ассоциаций генов главного комплекса гистосовместимости (HLA) II класса с особенностями иммунного ответа**

История становления и развития таких направлений иммунологии как вакцинология, иммуногенетика, иммунопатология, иммунодиагностика и иммунопрофилактика инфекционных заболеваний насчитывает много веков, на протяжении которых исследователей не переставали волновать механизмы формирования невосприимчивости к тому или иному возбудителю. Особую актуальность проблема антигенной индивидуальности и генетического контроля иммунного ответа приобрела с развитием трансплантологии, основополагающим открытием которой стало обнаружение генов иммунного ответа, а именно главного комплекса генов тканевой специфичности (МНС – Major Histocompatibility Complex). Гены МНС у человека имеют персонализированное обозначение – система HLA (Human Leucocyte Antigens) [Хаитов Р.М. и др., 2011; Хаитов Р.М. и др. 2017]. Гены HLA-системы локализованы на 6-ой хромосоме и организованы в 3 основных класса.

В настоящее время насчитывается около 11 000 аллельных вариантов HLA-генов. В иммунологическом распознавании чужеродных антигенов играют HLA-гены класса I (A, B, C) и II (DR, DQ, DP). В локусе HLA-DR полиморфными генами являются DRB1-DRB9, а в DQ-локусе – DQA и DQB. Из данных генов экспрессируются DRB1, DQA1 и DQB1 [Хаитов Р.М. и др., 2011; Хаитов Р.М. и др. 2017].

Белковые продукты HLA-генов выполняют широкий спектр биологических функций, которые в целом сводятся к поддержанию гомеостаза человека, защите организма от неблагоприятных факторов окружающей среды и в конечном счете к обеспечению выживания человека как вида, обеспечивая межклеточное взаимодействие ядродержащих клеток человека, распознавание генетически чужеродных или поврежденных клеток, формирование и поддержание толерантности к клеткам собственного организма. В настоящее время хорошо известно, что МНС-молекулы I и II классов представляют пептиды чужеродных антигенов Т-клеткам, инициируя тем самым иммунное распознавание антигенов и обеспечивая межклеточные взаимодействия в процессе иммунного ответа. В связи с этим очень важное значение имеет наличие в HLA-генотипе и, следовательно, в антигенсвязывающей области HLA-молекул специфических для чужеродных антигенов сайтов связывания. Данное обстоятельство объясняет высокий уровень полиморфизма данной системы, который обеспечивает генетическое и популяционное разнообразие, что определяет и поддерживает биологическую индивидуальность человека и является основой иммуногенетической защиты от различных патогенов. Появление новых аллельных вариантов генов иммунного ответа происходит в результате SNP-мутаций, которые со временем закрепляются в популяции в силу той или иной биологической целесообразности [Пальцев М.А., Хаитов Р.М., Алексеев Л.П., 2007]. Следует отметить, что возникающие аллельные варианты HLA-генов обеспечивают возможность реагировать на определенный набор пептидов. Таким образом, высокий полиморфизм системы HLA служит мощным механизмом вариабельности и естественного отбора человека как вида и

позволяет ему противостоять постоянно эволюционирующему множеству патогенов. Система HLA обеспечивает и контролирует почти все этапы развития иммунного ответа человека кроме передачи сигналов запуска иммунного ответа от этапа его инициации к эффекторному этапу, иммуногенетический контроль которого осуществляет группа генов, контролирующих цитокины (по современной номенклатуре относят к «не-HLA-генам иммунного ответа») [Пальцев М.А., Хаитов Р.М., Алексеев Л.П., 2007].

Мысль о том, что генетические различия индивидуумов в локусе, кодирующем MHC-белки, могут влиять на интенсивность и эффективность ответа хозяина на инфекцию была высказана Р.М. Цинкернагелем и П. Доэрти еще в 1974 году. В настоящее время достаточно интенсивно ведутся исследования по поиску ассоциаций между особенностями HLA-фенотипа и состоянием защитных систем макроорганизма (компонентов комплемента, интерферонов, цитокинов, иммуноглобулинов и т.д.). Так установлено, что специфичность HLA-DRB1\*01 ассоциирована с устойчивостью к HIV-1 [Motta P. et al., 2002], HLA-DRB1\*04, DRB1\*01 и \*03 – к гепатиту С [Mc Kiernan S.M., Hagan R., Curry M. et al., 2004], а аллель DRB1\*01 ассоциирована с развитием менее тяжелых форм малярии [Hill A.V., 1996]. В тоже время генетическим маркером предрасположенности к развитию легочного туберкулеза является специфичность DRB1\*07 [Сароянц Л.В. и др., 1992], к HIV-1 – ген DRB1\*13 [McDonald K.S. et al., 2000]. Имеются данные о том, что пептид вируса герпеса связывается с гаплотипом HLA-DQA1\*05:01-DQB1\*20:01 [Koller B.H. et al., 1989].

Подобные данные имеются в литературе и в отношении ассоциаций вариантов гена DRB1 с эффективным или неэффективным ответом на вакцинацию [Caillat-Zucman S. et al., 1998]. Связь между ответной реакцией организма на вакцинацию и фенотипом HLA была обнаружена при иммунизации против оспы, гриппа, кори, краснухи и эпидемического паротита [Lambkin R. et al., 2004; Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M. et al., 2008; Ovsyannikova I.G., Pankratz V.S. et al., 2012; Lambert N.D.,

et al., 2015]. Опубликованы данные по ассоциации между различными гаплотипами HLA класса I (HLA-A) и класса II (HLA-DQA1 и HLA-DQB1) и клеточными иммунными реакциями у лиц, иммунизированных американской химической сибиреязвенной вакциной AVA [Ovsyannikova I.G. et al., 2013].

Наиболее часто встречаемым среди коренного населения Европы является гаплотип HLA-A1-B8-DR3, который считается классическим иммуногенетическим маркером европеоидов. На примере 1000 «здоровых» людей, относящихся к 10 этническим группам, принадлежащим двум расам: европеоиды и ориенты, проживающие на территории России и бывших республик СССР показано, что наиболее высокая частота встречаемости гомозигот CCR5A32 выявлена на Северо-Западе европейской части России и снижается по направлению к Киргизии и Республике Тыва [Хаитов Р.М. и др., 2017].

Musson J.A. с соавторами показал, что после иммунизации капсульным антигеном F1 выявили ряд эпитопов HLA, ограниченных молекулой DR1, при этом Т-клеточный иммунный ответ был смещен в сторону одного иммунодоминантного эпитопа вблизи С-конца белка Саf1 со свойствами неспецифического связывания с HLA класса II [Musson J.A. et al., 2010]. Кроме того, в работе Кудрявцевой О.М. с соавторами выявлены корреляционные взаимосвязи групп аллелей HLA-DRB1\*01, \*03, \*07 и \*11 с продукцией противовоспалительного цитокина IL-10, а также \*04 и \*12 с – провоспалительного TNF- $\alpha$  [Кудрявцева О.М. и др., 2021].

Научных работ, освещающих взаимосвязь формирования противочумного иммунитета и HLA, существует относительно немного [Бугоркова С.А. и др., 2018; Кудрявцева О.М. др., 2019; Кудрявцева О.М. и др., 2021; Zvi A. et al., 2010; Liu Z. et al., 2021; Di D. et al., 2022]. Невыясненными остается множество аспектов взаимодействия иммунной системы и ее отдельных составляющих с *Y. pestis*, а также, в целом, механизмов патогенеза и иммуногенеза чумы.

Ассоциация генов HLA с развитием специфического противочумного иммунитета в настоящее время является малоизученной областью. Поскольку

сведений о типировании генов системы HLA II класса у вакцинированных против чумы лиц, как в отечественной, так и зарубежной доступной литературе достаточно мало, поэтому исследования по определению полиморфизма аллельных вариантов HLA II класса у лиц, проживающих на территории Тувинского и Горно-Алтайского природных очагов, позволит установить связи HLA-гаплотипов с особенностями развития поствакцинального иммунитета.

Таким образом, в рамках обеспечения мер по оперативному реагированию на возникновение неблагоприятных по чуме ситуаций на сопредельных с Российской Федерацией территориях Китая и Монголии и для противодействия распространению завозных случаев заболевания из регионов России с высоким риском возникновения и передачи инфекции, увеличение числа ежегодно прививаемых против чумы лиц является целесообразным. Поскольку при вспышках чумы массовая вакцинация против этой инфекции обеспечивает формирование коллективного иммунитета и положительно влияет на эпидемический процесс. Тем не менее, в условиях спорадической заболеваемости вакцинация не является ведущим профилактическим мероприятием против чумы, так как для формирования специфического иммунитета необходимо определенное время, а резкое обострение эпидемиологической ситуации требует быстрого реагирования.

В соответствии со стратегией развития иммунопрофилактики инфекционных болезней, утвержденной распоряжением Правительства РФ от 18.09.2020 № 2390-р на период до 2035 г., приоритетными задачами вакцинопрофилактики становятся совершенствование методов и инструментов определения уровня и длительности поствакцинального иммунитета в целях выработки гибкой тактики вакцинации и разработка научных основ персонализированного подхода к вакцинопрофилактике в зависимости от особенностей состояния здоровья и возраста лиц, подлежащих вакцинации.

Оценка эффективности вакцинопрофилактики чумы при отсутствии массовых случаев заболевания, когда невозможно оценить реальную пользу от прививки на

популяционном уровне, сдвигается в сторону изучения индивидуальных показателей иммунного ответа на вакцину, анализа его динамики и выяснения причин гетерогенности. Традиционно иммунный ответ на прививку ВЧЖ оценивают по количеству специфических антител у вакцинируемых лиц. Несмотря на то, что защитные титры антительного ответа при чуме не установлены, их оценка играет определенную роль в изучении динамики специфического иммунитета.

Проведение иммунологического мониторинга за лицами, вакцинированными по эпидемическим показаниям вакциной чумной живой, будет способствовать созданию объективной основы для совершенствования стратегии и тактики специфической профилактики чумы в природных очагах этой инфекции, что, безусловно, является актуальным направлением научных исследований, имеющим важное научно-практическое значение. Перспективность подобных исследований также связана с разработкой персонализированного подхода к вакцинации, основанной на наличии межрасового и межэтнического различия по HLA-специфичностям. Особое значение такой подход приобретает в случае этнических групп, HLA-полиморфизм которых ограничивается 5-10 % от числа известных HLA-специфичностей, когда повышена частота HLA-гомозигот, что может влиять на снижение противoinфекционной защиты у представителей данных популяций.

## **ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Характеристика обследованных групп добровольцев**

В исследовании приняли участие 902 условно здоровых добровольца, проживающих и осуществляющих свою трудовую деятельность на территории двух природных очагов чумы – Тувинского горного (с. Хандагайты, Овюрский кожуун, Республика Тыва) и Горно-Алтайского высокогорного (с. Кош-Агач, Кош-Агачский район, Республика Алтай).

Критериями включения участников в исследование служили: отсутствие признаков серьезных хронических заболеваний и иммунодефицитных состояний, противопоказаний к вакцинации ВЧЖ и возраст не младше 18 лет.

Проведено предварительное анкетирование людей и получено их добровольное письменное информированное согласие для участия в исследовании (забор биологического материала, анализ и обработка полученных обезличенных данных).

По результатам анкетирования выявлено, что 57,3 % людей из обследованной группы по этнической принадлежности представлено тувинцами, 30,3 % – казахами, 9,9 % – алтайцами, и около 2,5 % – русскими (рисунок 1, А). Важно отметить, что тувинцы, алтайцы и казахи в антропологии относятся к тюркскому народу и монголоидной расе.



Рисунок 1 – Распределение обследованной группы по национальной принадлежности, полу, возрасту и профессиональной принадлежности

По половому признаку группа представлена 58,1 % женщин и 41,9 % мужчин (Рисунок 1, Б). При этом 89,9 % добровольцев входили в возрастную группу – от 25 до 60 лет, 8,7 % – в 18-25 лет, и всего 1,4 % респондентов был из группы – 61 год и старше (Рисунок 1, В). Распределение добровольцев по профессиональной принадлежности отражено на рисунок 1, Г; 49 % группы – это медицинские

специалисты, 21 % – различные служащие, 16 % – преподаватели, 12 % – рабочие, и 2 % – безработные.

### **2.1.1 Характеристика группы добровольцев, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы**

В обследовании приняли участие 465 добровольцев. По этническому признаку данная группа была представлена исключительно тувинцами (Рисунок 2). При этом из всей группы 56 % приходится на женщин, а 43 % – мужчин. Основная часть добровольцев представлена возрастной группой 26-50 лет (93 % от общего числа).

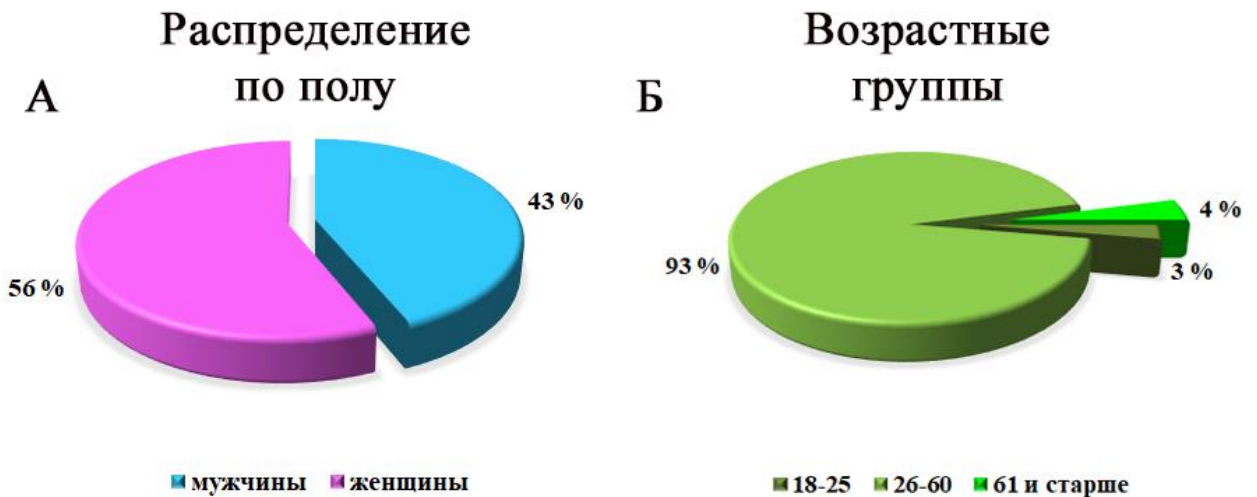


Рисунок 2 – Характеристика группы добровольцев по полу (А) и возрасту (В)

### **2.1.2 Характеристика группы добровольцев, проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы**

Всего в обследовании приняли участие 437 человек, проживающие и осуществляющие свою трудовую деятельность в с. Кош-Агач (Кош-Агачский район, Республика Алтай) (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Характеристика группы добровольцев по полу (А), возрасту (Б) и этнической принадлежности (B)

Данная группа добровольцев на 60 % состоит из женщин. 87 % людей входят в группу от 26 до 60 лет (Рисунок 3). Более половины приходится на казахов, в меньшей доле – алтайцы (23 %) и русские (6 %).

## 2.2 Этическая экспертиза

В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Все участники прошли предварительное анкетирование и подписали письменное информированное согласие на участие в обследовании (забор биологического материала, анализ и обработка полученных обезличенных данных). Протоколы утверждены локальным этическим комитетом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (протокол № 3 от 02.05.2016 г.; № 4 от 26.05.2021 г.; № 1 от 23.01.2024 г.).

## 2.3 Вакцина живая чумная

Вакцинацию/ревакцинацию осуществляли с использованием коммерческой ВЧЖ отечественного производства (ФКУЗ Ставропольский научно-

исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора) в соответствии с Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям в природных очагах чумы. Вакцина представляет собой лиофилизированную живую культуру вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ. Непосредственно перед иммунизацией ампулу с вакциной вскрывали при строгом соблюдении правил асептики и антисептики и разводили 1,8 мл 0,9 % раствора натрия хлорида для инъекций. Вакцинация проводилась однократно накожным способом. Ревакцинация осуществлялась через год.

Вакцинацию людей проводили медицинские работники ЛПУ (БУЗ РА «Кош-Агачская ЦРБ» и ГБУЗ РТ «Овюрская центральная кожуунная больница») в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.7.3465-17 «Профилактика чумы» и действующими санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» на наружной поверхности средней трети плеча следующим образом: скарификатором слегка соскабливали (до покраснения) поверхностный слой эпидермиса на 3-х участках кожи, предварительно обработанной 70 °С этиловым спиртом [СанПиН 3.3686-21]. На каждый участок скарифицированной кожи наносили по 1 капле вакцины (1 доза – 3 млрд. ж.м.к. в 0,15 мл), после чего тем же скарификатором через каждую каплю вакцины крестообразно наносили 4 горизонтальные и 4 вертикальные линейные насечки длиной 1 см и в течение нескольких секунд тщательно втирали капли вакцины. Для каждого прививаемого использовали отдельный скарификатор.

#### **2.4 Забор и транспортировка крови для исследования**

Забор биологического материала проводили медицинские сотрудники ЛПУ (БУЗ РА «Кош-Агачская ЦРБ» и ГБУЗ РТ «Овюрская центральная кожуунная больница»), имеющих лицензию на осуществление медицинской деятельности, в

соответствии с утвержденной руководителем учреждения инструкцией (Приказ Минздрава РФ № 380 от 25.12.1997 г.).

Взятие венозной крови осуществляли из локтевой вены в соответствии со стандартом ГОСТ Р 53079.4-2008 [ГОСТ Р 53079.4-2008] в три вакуумные пробирки (Improve, Китай и Vacutest Kima, Италия) объемом 5 мл (с активатором свертывания и гелем), 4 мл (с гепарином 20 МЕ) и 2 мл (с К<sub>3</sub>ЭДТА 3,6 мг) в определенном порядке: сначала в пробирку, предназначенную для получения сыворотки, а затем в пробирку с антикоагулянтом. После взятия крови пробирки аккуратно перемешивали, поворачивая вверх-вниз не менее 5 раз. Место венепункции дезинфицировали специальной безворсовой салфеткой, смоченной 70 ° спиртом.

Пробирки с кровью маркировали, упаковывали и плотно закрывали. При транспортировке и хранении образцы находились в термоконтейнерах в вертикальном положении. Температура при транспортировке, хранении и обработке образцов была 4-8 °С. Непосредственно перед исследованием кровь тщательно перемешивали в течение нескольких минут для равномерного распределения форменных элементов в плазме.

Забор крови в с. Хандагайты (Республика Тыва) осуществляли: до вакцинации (1 срок); после вакцинации через один (2 срок), три (3 срок) и шесть (4 срок) месяцев; после ревакцинации через один месяц (5 срок), три месяца (6 срок) и шесть месяцев (7 срок). В с. Кош-Агач (Республика Алтай) отбор биологического материала проводили до вакцинации ВЧЖ (1 срок), после вакцинации через три месяца (2 срок), шесть месяцев (3 срок) и 12 месяцев (4 срок), а также после ревакцинации через один (5 срок), три (6 срок) и шесть (7 срок) месяцев.

## **2.5 Получение сыворотки крови и ее транспортировка**

В вакуумную пробирку с активатором свертывания и гелем (Improve, Китай и Vacutest Kima, Италия) забирали 5 мл крови как описано в п. 2.4. Для отделения сыворотки от клеточных элементов крови, взятой у пациента, вакуумную пробирку

оставляли при комнатной температуре на 30 мин. Центрифугирование проводили не позднее 2 часов после взятия крови при 3000 об/мин в течение 10 мин. Использовали центрифугу с бакет-ротором. Полученную сыворотку переносили в промаркированные микроцентрифужные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл, плотно закрывали, замораживали, упаковывали и транспортировали в термоконтейнерах.

Сыворотку крови использовали в исследованиях по количественному определению основных классов иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA и общего IgE, а также для оценки титра антител к капсульному антигену чумного микроба (F1).

## **2.6 Подготовка проб для определения спонтанной и антиген-индуцированной продукции цитокинов клетками крови, их хранение и транспортировка**

Гепаринизированную кровь разводили в соотношении 1:4 средой RPMI-1640 (НПП «ПанЭко», РФ), содержащей 100 мкг/мл гентамицина (НПП «ПанЭко», РФ), а затем делили на две равные части: опытную и контрольную. В опытный образец вносили 100 мкл антигенного препарата, в состав которого входят клеточные оболочки и капсульный антиген F1 *Y. pestis* EV НИИЭГ (ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора) [Патент, 2003] в конечной концентрации 20 мкг/мл, в контрольный – 100 мкл 0,9 % раствора натрия хлорида. Опытные и контрольные образцы инкубировали в течение 24 часов при температуре  $(37 \pm 1)$  °С, далее клетки осаждали центрифугированием при 400 g в течение 15 мин. Полученные супернатанты переносили в промаркированные микроцентрифужные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл, плотно закрывали, замораживали, упаковывали и транспортировали в термоконтейнерах.

## **2.7 Количественное определение спонтанной и индуцированной продукции цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-4, IFN- $\gamma$ ) клетками крови**

Для количественного определения маркерных цитокинов использовали сертифицированные наборы реагентов: «гамма ИНТЕРФЕРОН-ИФА-БЕСТ», «ИНТЕРЛЕЙКИН-4-ИФА-БЕСТ», «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», РФ) в соответствии с инструкцией по применению.

Во все лунки планшета вносили по 100 мкл раствора для разведения образцов. Затем в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, вносили по 100 мкл калибровочных образцов (TNF- $\alpha$  – 0; 5; 15; 40; 100; 250 пг/мл; IL-4 – 0; 2,6; 6,4; 16; 40; 100 пг/мл; IFN- $\gamma$  – 0; 20; 40; 200; 500; 1000 пг/мл), а также в две лунки – 100 мкл контрольного образца. В остальные лунки вносили по 100 мкл исследуемых проб (п. 1.5). Стрипы заклеивали пленкой и инкубировали при температуре 25 и 37 °С для IL-4, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  соответственно в течение 120 мин в термошейкере Biosan PST-60HL-4 (Biosan, Латвия) с частотой 700 об/мин.

По окончании инкубации с помощью вошера Biotek ELx50 (BioTek, США) промывали лунки планшета 5 раз фосфатно-солевым буферным раствором с твином (ФСБ-Т), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносили по 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удаляли, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

В лунки планшета вносили по 100 мкл конъюгата 1 (биотинилированные антитела к TNF- $\alpha$ , IL-4, IFN- $\gamma$ ). Стрипы помещали в шейкер и инкубировали 60 мин как было указано выше. По окончании инкубации промывали планшет 5 раз раствором ФСБ-Т. Затем в лунки планшета вносили по 100 мкл конъюгата 2 (стрептавидин-пероксидаза хрена) и инкубировали в шейкере при температуре 37 °С и 700 об/мин в течение 30 мин. По окончании инкубации промывали планшет 5 раз раствором ФСБ-Т и вносили по 100 мкл раствор тетраметилбензидина (ТМБ),

помещали в защищенном от света месте и инкубировали в течение 25 мин при температуре 18-25 °С. Затем вносили во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

Учет результатов осуществляли на ридере Stat Fax 4200 (Awareness Technology, США). Оптическую плотность образцов замеряли в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 630 нм. Измерения производили через 2-3 мин после остановки реакции. Расчет результатов анализа проводили согласно инструкции производителя.

## **2.8 Иммуноферментный метод количественного определения IgG, IgM, IgA в сыворотке крови**

Для количественного определения иммуноглобулинов использовали сертифицированный набор реагентов «Иммуноскрин-G, М, А-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», РФ) в соответствии с инструкцией по применению.

Во все лунки планшета вносили по 100 мкл рабочего буферного раствора (ФСБ-Т). В верхние лунки А-1, А-2, А-5, А-6, А-9, А-10 вносили по 20 мкл калибровочного образца КО I. Далее вносили в соответствующие лунки по 20 мкл калибровочных (КО II, КО III, КО IV, КО V) и контрольного образцов согласно схемы постановки анализа в инструкции производителя. В остальные лунки вносили по 20 мкл разведенных анализируемых образцов сыворотки крови, каждый раз меняя наконечники. Стрипы заклеивали пленкой и инкубировали при температуре 37 °С в течение 20 мин в термостатируемом шейкере Biosan PST-60HL-4 (Biosan, Латвия) с частотой 700 об/мин.

По истечению времени с помощью вошера Biotek ELx50 (BioTek, США) промывали лунки планшета 5 раз раствором ФСБ-Т, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа с помощью промывочного устройства. В каждую лунку вносили не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок

тщательно удаляли, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

В лунки планшета вносили по 100 мкл конъюгата МКАТ (моноклональные антитела к легким цепям иммуноглобулинов с пероксидазой хрена) и инкубировали при температуре 37 °С в течение 20 мин в термостатируемом шейкере с частотой 700 об/мин. По окончании инкубации планшет промывали ФСБ-Т и во все лунки вносили по 100 мкл раствора ТМБ. Затем планшеты инкубировали в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре 18–25 °С и во все лунки вносили по 100 мкл стоп-реагента.

Учет результатов осуществляли на приборе Stat Fax 4200 (Awareness Technology, США). Оптическую плотность образцов измеряли в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 630 нм. Измерение производили через 2-3 мин после остановки реакции. Расчет результатов анализа проводили согласно инструкции производителя.

## **2.9 Количественное определение IgE в сыворотке крови**

Для количественного определения иммуноглобулинов использовали сертифицированный набор реагентов «IgE общий-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», РФ) в соответствии с инструкцией по применению.

Во все лунки вносили по 200 мкл раствора РРС (раствор для разведения сывороток).

Затем вносили в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов, по 15 мкл калибровочных проб К0, К1, К2, К3, К4 и К5, по 15 мкл исследуемых образцов сывороток крови или их разведений в дублях. Сразу после внесения образцов содержимое лунок перемешивали наконечником пипетки, избегая образования пены. Планшет инкубировали при температуре 37 °С в течение 20 мин в термостатируемом шейкере Biosan PST-60HL-4 (Biosan, Латвия) с частотой 700 об/мин.

По окончании инкубации с помощью вошера Biotek ELx50 (BioTek, США) промывали лунки планшета 5 раз раствором ФСБ-Т, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносили не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удаляли, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

В лунки планшета вносили по 100 мкл конъюгата МКАТ к IgE с пероксидазой хрена. Планшет заклеивали пленкой и инкубировали при температуре 37 °С в течение 20 мин в термостатируемом шейкере с частотой 700 об/мин. По окончании инкубации промывали планшет как описано выше. Затем вносили во все лунки по 100 мкл раствора ТМБ. Планшет заклеивали пленкой и инкубировали в защищенном от света месте в течение 15 мин при температуре 18-25 °С. Затем вносили во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

Измерение оптической плотности образцов проводили с помощью спектрофотометра Stat Fax 4200 (Awareness Technology, США) в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 630 нм, через 2-3 мин после остановки реакции или после встряхивания планшета не менее 5 секунд. Расчет результатов анализа проводили согласно инструкции производителя.

## **2.10 Выявление антител к F1 *Yersinia pestis* иммуноферментным методом**

Для определения в сыворотке крови титра специфических антител использовали сертифицированную иммуноферментную тест-систему «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS» рег. уд. № ФСР 2012/13946 от 10.10.2012 (ФКУН РосНИПЧИ «Микроб», РФ) в строгом соответствии с инструкцией по применению.

Из полученных образцов сыворотки готовили разведения в титре 1/40 в объеме 250 мкл, используя ФСБ в качестве разводящей жидкости.

Планшет извлекали из запаянного полиэтиленового пакета и располагали так, чтобы лунка H1 находилась в левом верхнем углу. Титрование осуществляли по

короткому ряду (8 разведений). Исследуемый образец, разведенный ФСБ до титра 1/40, вносили в объеме 200 мкл в первую лунку каждого титрационного ряда (Н1-Н11). В остальные лунки вносили по 100 мкл ФСБ. Затем, забрав 100 мкл из первой лунки, титровали переносом указанного объёма до конца ряда (лунки А1-А11 соответственно). Из последних лунок 100 мкл удаляли. В лунку А12 вносили 95 мкл ФСБ и добавляли 5 мкл ПКО-Ат-Ф1 (положительный контрольный образец) и аккуратно перемешивали. В лунки В12, С12 и D12 вносили по 100 мкл ФСБ (отрицательный контроль). Планшет накрывали крышкой и помещали в термостат при температуре 37 °С на 60 мин.

По истечении времени удаляли содержимое лунок планшета в емкость для отработанных жидкостей. Затем трижды промывали лунки планшета с помощью вошера Biotek ELx50 (Biotek, США), наполняя их 200 мкл ФСБ.

Во все лунки вносили по 100 мкл раствора приготовленного рабочего раствора конъюгата. Планшет накрывали крышкой и помещали в термостат при температуре 37 °С на 60 минут. После этого планшет промывали, как описано выше. Затем во все лунки вносили по 100 мкл субстратной смеси и выдерживали при температуре 20 °С в течение 12 мин.

Учет изменения окрашивания раствора в лунках осуществляли с использованием ридера Stat Fax 4200 (Awareness Technology, США) при длине волны 405 нм. Перед началом учета содержимое лунок перемешивали осторожным постукиванием по планшету до получения гомогенного зелено-голубого раствора.

При инструментальном учете измеряли оптическую плотность (ОП) в лунках, рассчитывали среднее арифметическое значение в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП<sub>ср(К-)</sub>). Вычисляли критическое значение оптической плотности (ОП<sub>крит</sub>) по формуле:  $ОП_{крит} = ОП_{ср(К-)} \times 3$ . Результат анализа считали положительным, если  $ОП_{обр} \geq ОП_{крит}$ . Результат анализа считают отрицательным, если  $ОП_{обр} < ОП_{крит}$  ( $ОП_{обр}$  – оптическая плотность в лунке с анализируемым образцом).

Среднее значение ОП отрицательного контроля вычисляли для каждого планшета отдельно. За титр специфических антител принимали максимальное разведение исследуемой пробы, в котором регистрировалась положительная реакция.

### **2.11 Иммунофенотипирование лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19) с применением проточной лазерной цитометрии**

Фенотип лимфоцитов определяли с использованием сертифицированных МКАТ (Becton Dickinson, США) в панели: CD3-PE-Cy7, CD4-PerCP, CD8-APC-Cy7, CD16-PE, CD19-FITC.

Для постановки реакции предварительно готовили коктейль МКАТ в соответствии с инструкцией производителя. В пробирку для цитофлуориметрического анализа (12×75 мм) добавляли 50 мкл крови (антикоагулянт – ЭДТА) и 75 мкл коктейля МКАТ. Аккуратно перемешивали при помощи вортекса BioSan V-32 (Biosan, Латвия) 1-3 сек и инкубировали при 4 °С в защищенном от света месте в течение 30 мин. Лизис эритроцитов проводили с помощью BD FACSTM Lysing solution (Becton Dickinson, США) согласно инструкции. Затем образцы центрифугировали на Centrifuge 5810 R (Eppendorf, Германия) при 300 g в течение 5 мин с последующим 2-х кратным отмыванием ЗФР. По завершении процесса отмывания клеток осажденные лейкоциты ресуспендировали в 450 мкл ЗФР.

Анализ окрашенных образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США) в программе BD Diva 6.0. В каждой пробе анализировалось не менее 10000 клеток. Для изучения клеточного звена определяли следующие субпопуляции лимфоцитов Т-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>), Т-хелперы (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), НК-клетки (CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>) и В-лимфоциты (CD19<sup>+</sup>). Рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) по формуле: CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> у.е.

В качестве аналитического контроля при фенотипировании клеток крови служили суммы:

Общее количество лимфоцитов: Т-клетки (CD3<sup>+</sup>) + В-клетки (CD19<sup>+</sup>) + НК-клетки (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> и/или CD16<sup>+</sup>) = 100 ± 5 %.

Общее количество Т-клеток: % CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> + % CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> = % CD3<sup>+</sup> ± 5 %.

## **2.12 Типирование генов гистосовместимости человека (HLA) II класса методом амплификации ДНК**

### **2.12.1 Выделение ДНК**

Для выделения ДНК использовали сертифицированный комплект реагентов «ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА» (ООО «ДНК-технология», РФ) в соответствии с инструкцией по применению.

Для исследования использовали цельную периферическую кровь человека (антикоагулянт – ЭДТА).

В пластиковые пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с защелкой в соответствии с количеством анализируемых проб и одну пробирку для отрицательного контрольного образца «К–» вносили по 600 мкл лизирующего раствора. Добавляли 100 мкл периферической крови, перемешанной переворачиванием пробирки, в соответствующую пробирку с лизирующим раствором. В пробирку, промаркированную «К–», вносили 100 мкл стерильного физиологического раствора. Закрывали крышки пробирок, встряхивали на вортексе BioSan V-32 (Biosan, Латвия) в течение 3-5 сек. Затем пробирки центрифугировали на микроцентрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия) при 1300 об/мин в течение 1 мин и удаляли надосадочную жидкость. К осадку добавили 300 мкл реактива «Проба-Рapid», закрывали крышки пробирок и встряхивали на вортексе в течение 5-10 сек и термостатировали при 98 °С в течение 10 мин. По истечению времени пробирки центрифугировали при 1300 об/мин в течение 3 мин. Надосадочную

жидкость, содержащую выделенную ДНК, использовали для проведения ПЦР-амплификации.

### ***2.12.2 Типирование генов DQA1, DQB1 и DRB1 методом амплификации ДНК в режиме реального времени***

*Для определения аллелей гена DQA1* использовали сертифицированный комплект реагентов «Комплект реагентов для типирования гена DQA1» (ООО «ДНК-технология», РФ) в соответствии с инструкцией по применению.

Для каждого анализируемого образца, отрицательного контрольного образца («К-»), положительного контрольного образца «К+ DQ FAM» и положительного контрольного образца «К+ DQ HEX» маркировали по 4 пробирки для амплификации объёмом 0,2 мл. Пробирки со смесями для амплификации встряхивали на мульти-вортексе BioSan V-32 (Латвия) в течение 3-5 сек, центрифугировали в течение 1-3 сек на микроцентрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия) и вносили в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (соответственно маркировке в пробирку 1 вносили смесь DQA1-1, в пробирку 2 – смесь DQA1-2 и т.д.).

Встряхивали пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТaq МАХ в течение 3-5 сек и центрифугировали в течение 1-3 сек на микроцентрифуге. В отдельной пробирке готовили смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ из расчёта  $10 \times (N + 1)$  мкл ПЦР-буфера и  $0,5 \times (N + 1)$  мкл полимеразы ТехноТaq МАХ, где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К-», «К+ DQ FAM» и «К+ DQ HEX». Пробирку встряхивали и центрифугировали как описано выше и добавляли в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл. Затем в каждую пробирку вносили по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закрывали крышки пробирок.

Затем вносили по 5,0 мкл образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки, а в пробирки, промаркированные «К-», – по 5,0 мкл отрицательного

контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК. В пробирки, маркированные «K+ DQ FAM» и «K+ DQ HEX», добавляли по 5,0 мкл положительного контрольного образца «K+ DQ FAM» и «K+ DQ HEX» соответственно. Центрифугировали пробирки на мульти-вортексе в течение 1-3 сек.

Детекцию осуществляли амплификатором DTprime (ООО «ДНК-технология», РФ). Учёт и интерпретацию результатов реакции осуществляли автоматически с помощью программного обеспечения RealTime\_PCR.

*Для определения аллелей гена DQB1* использовали сертифицированный комплект реагентов «Комплект реагентов для типирования гена DQB1» (ООО «ДНК-технология», РФ) в соответствии с инструкцией по применению.

Для каждого анализируемого образца, отрицательного контрольного образца («K-»), положительного контрольного образца «K+ DQ FAM» и положительного контрольного образца «K+ DQ HEX» маркировали по 6 пробирок для амплификации объёмом 0,2 мл. Пробирки со смесями для амплификации встряхивали на мульти-вортексе BioSan V-32 (Biosan, Латвия) в течение 3-5 сек, центрифугировали в течение 1-3 сек на микроцентрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия) и вносили в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (соответственно маркировке в пробирку 1 вносили смесь DQB1-1, в пробирку 2 – смесь DQB1-2 и т.д.).

Встряхивали пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТaq МАХ в течение 3-5 сек и центрифугировали в течение 1-3 сек на микроцентрифуге. В отдельной пробирке готовили смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq МАХ из расчёта  $10 \times (N + 1)$  мкл ПЦР-буфера и  $0,5 \times (N + 1)$  мкл полимеразы ТехноТaq МАХ, где N – количество промаркированных пробирок с учётом «K-», «K+ DQ FAM» и «K+ DQ HEX». Пробирку встряхивали и центрифугировали, как описано выше, и добавляли в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл. Затем в каждую пробирку вносили по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закрывали крышки пробирок.

Затем вносили по 5,0 мкл образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки, а в пробирки, промаркированные «К-», – по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК. В пробирки, маркированные «К+ DQ FAM» и «К+ DQ HEX», добавляли по 5,0 мкл положительного контрольного образца «К+ DQ FAM» и «К+ DQ HEX» соответственно. Центрифугировали пробирки на мульти-вортексе в течение 1-3 сек.

Детекцию осуществляли амплификатором DTrime (ООО «ДНК-технология», РФ). Учёт и интерпретацию результатов реакции осуществляли автоматически с помощью программного обеспечения RealTime\_PCR.

*Для определения аллелей гена DRB1* использовали сертифицированный комплект реагентов «Комплект реагентов для типирования гена DRB1» (ООО «ДНК-технология», РФ) в соответствии с инструкцией по применению.

Промаркировали со смесями для амплификации для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца, положительного контрольного образца.

Например, необходимо проанализировать 4 образца. Нужно промаркировать четыре стрипа А и четыре стрипа Б для исследуемых образцов; один стрип А и один стрип Б для «К-»; один стрип А и один стрип Б для «К+». Общее количество стрипов – 12.

Встряхнули пробирку с раствором Таq-полимеразы в течение 3-5 сек и центрифугировали в течение 1-3 сек на микроцентрифуге/вортексе.

Для каждого анализируемого образца и отрицательного контрольного образца («К-») и положительного контрольного образца «К+» маркировали по одному стрипу А и стрипу Б, входящих в набор. Пробирки с раствором Таq-полимеразы встряхивали на мульти-вортексе BioSan V-32 (Biosan, Латвия) в течение 3-5 сек, центрифугировали в течение 1-3 сек на микроцентрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия) и добавляли по 10 мкл в каждую пробирку стрипов А и Б. Затем в каждую

пробирку вносили по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закрывали крышки пробирок.

Затем вносили по 5,0 мкл образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки, а в пробирки, промаркированные «К-», – по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК. В пробирки, маркированные «К+», добавляли по 5,0 мкл положительного контрольного образца. Центрифугировали пробирки на мульти-вортексе в течение 1-3 сек. Детекцию осуществляли амплификатором DTprime (ООО «ДНК-технология», РФ). Учёт и интерпретацию результатов реакции осуществляли автоматически с помощью программного обеспечения RealTime\_PCR.

### **2.13 Статистические методы**

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакетов программ Statistica 12.0 и Microsoft Excel 2013. Тест Шапиро–Уилка применяли для проверки гипотезы о нормальности распределения выборок, а тест Левена для оценки равенства дисперсий. Так как некоторые сравниваемые выборки не отвечали критериям нормального распределения при анализе данных использовали непараметрические методы: для парных и множественных сравнений независимых переменных U-критерий Манна-Уитни и H-критерий Краскела-Уоллиса соответственно, а для зависимых – T-критерий Уилкоксона и критерий Фридмана. Для выявления корреляционных взаимосвязей использовали анализ Спирмена с расчетом коэффициентом корреляции ( $r_s$ ). Данные представляли в виде медианы и интерквартильного размаха – Me (Q25%-Q75%). Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Показатели гуморального иммунитета у вакцинированных против чумы людей

#### 3.1.1 Содержание основных классов иммуноглобулинов M, G, A и E

При сравнительном анализе показателей основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови людей, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы, установлено статистически значимое снижение концентрации IgM спустя один, три и шесть месяцев и IgG через один месяц наблюдения после вакцинации по сравнению со значениями до проведения вакцинации ВЧЖ (Таблица 1).

Таблица 1 – Динамика содержания основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ людей, Me (Q25%–Q75%)

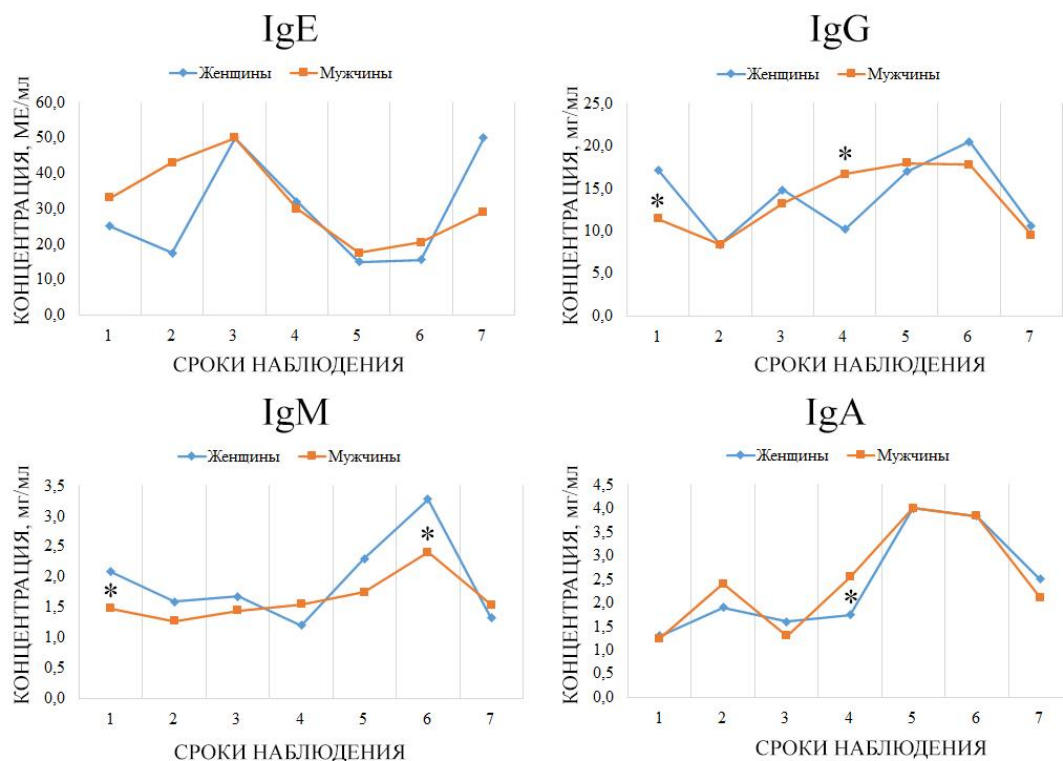
Показатель	Референсные значения	До вакцинации (1 срок)	После вакцинации, месяц			После ревакцинации, месяц		
			1 (2 срок)	3 (3 срок)	6 (4 срок)	1 (5 срок)	3 (6 срок)	6 (7 срок)
IgG (мг/мл)	7,0–16,0	13,4 (9,0–21,2)	8,4** (5,7–11,6)	14,0 (7,4–22,4)	13,0 (6,6–17,4)	17,0** (15,2–22,6)	19,6*** (16,0–24,7)	9,6 (8,6–12,0)
IgM (мг/мл)	0,4–2,3	1,8 (1,2–2,6)	1,4* (1,2–1,8)	1,7* (1,2–2,0)	1,3** (0,6–1,9)	2,0 (1,4–2,9)	3,0* (2,4–3,7)	1,4* (1,2–1,9)
IgA (мг/мл)	0,7–4,0	1,3 (0,9–2,0)	1,9** (1,4–2,4)	1,5 (0,9–1,9)	1,9 (1,1–2,6)	4,0*** (3,5–5,2)	3,8*** (3,5–4,7)	2,3*** (1,6–2,6)
IgE общ. (МЕ/мл)	0–100	25,0 (10,0–130,0)	20,0 (0–85,0)	50,0 (50,0–110,0)	32,0 (15,0–81,0)	15,0** (5,0–48,0)	20,0*** (4,1–57,0)	44,0 (14,0–131,0)

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Согласно результатам, полученным после ревакцинации исследуемой группы добровольцев, регистрировалось повышение концентрации IgM и IgG по сравнению с данными после вакцинации ( $p < 0,001$ ). Так, концентрация IgG превышала величину показателя до вакцинации в 1,3 раза на 5 срок наблюдения ( $p = 0,01$ ) и в 1,5 раза – на 6 срок ( $p = 0,05$ ), а IgM в 1,7 раза – на 6 срок наблюдения ( $p = 0,01$ ). Примечательно, что после ревакцинации концентрация этих иммуноглобулинов несколько превышала значения физиологической нормы, тем не менее к 6 сроку значимо снижалась ( $p < 0,05$ ).

В отношении IgA отмечено повышение концентрации через один месяц после вакцинации, тем не менее в последующие 2 срока достоверных отличий не обнаружено. Уровень IgA в сыворотке крови людей после ревакцинации варьировал аналогично изменениям концентрации IgG – через один и три месяца зафиксировано повышение концентрации в 3,1 и 2,9 раза соответственно ( $p < 0,001$ ). Стоит отметить, что уровень IgE после вакцинации не различался с показателями до нее. В тоже время после ревакцинации содержание IgE статистически значимо ниже (5-6 сроки), чем было до вакцинации ( $p < 0,01$ ). При этом все выявленные изменения концентраций иммуноглобулинов IgA и IgE варьировали в пределах референсных значений.

На рисунке 4 продемонстрирована динамика основных классов иммуноглобулинов у лиц, проживающих на территории Тувинского горного пригородного очага чумы, в зависимости от гендерной принадлежности. Установлено, что у мужчин уровни IgG и IgM до вакцинации статистически значимо ниже, чем у женщин. Общее повышение концентрации IgM через три месяца после ревакцинации (Таблица 1) обусловлено в большей степени увеличением IgM среди женщин. Уровни IgG и IgA на 4 срок (шесть месяцев после вакцинации) были статистически значимо выше у мужчин ( $p < 0,05$ ).



1 – до вакцинации; 2 – через один месяц после вакцинации; 3 – через три месяца после вакцинации; 4 – через шесть месяцев после вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; \* –  $p < 0,001$  уровень значимости группы мужчин в сравнении с группой женщин.

Рисунок 4 – Динамика основных классов иммуноглобулинов у вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ мужчин и женщин, Ме

При сравнительном анализе показателей основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови людей, проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного очага установлено статистически значимое повышение концентрации IgE через один, шесть и 12 месяцев после проведения вакцинации и один месяц после ревакцинации в среднем в 2,2 раза по сравнению со значениями данного

показателя до проведения специфической профилактики (Таблица 2), которое не превышало значений физиологической нормы.

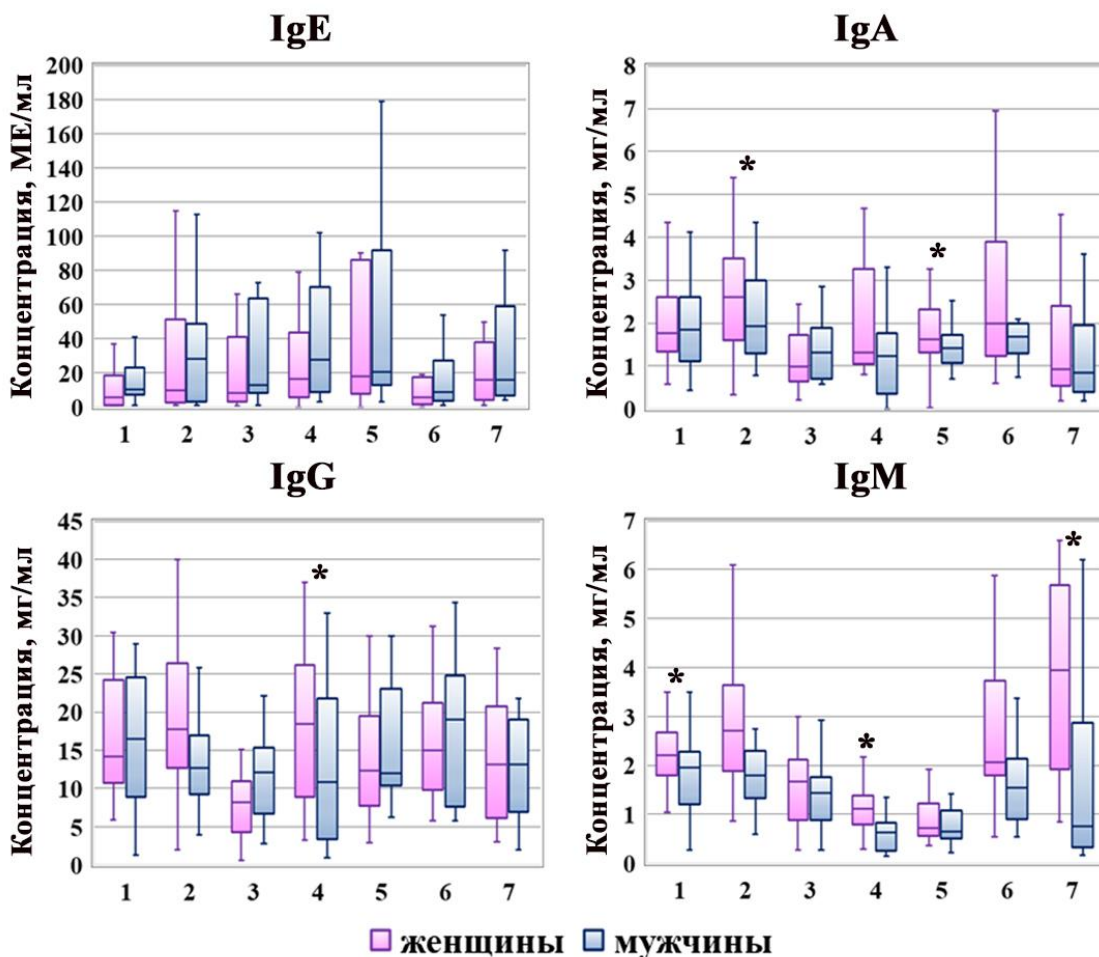
Таблица 2 – Основные классы иммуноглобулинов, Me (Q25%–Q75%)

Показатель	До вакцинации (1 срок)	После вакцинации, месяц			После ревакцинации, месяц		
		3 (2 срок)	6 (3 срок)	12 (4 срок)	1 (5 срок)	3 (6 срок)	6 (7 срок)
IgG (мг/мл)	15,7 (9,8–24,2)	14,2 (10,7–24,3)	10,3 (6,0–15,1)***	14,8 (5,6–25,0)	12,3 (8,6–20,4)	16,0 (9,0–23,2)	13,2 (7,1–19,8)
IgM (мг/мл)	2,1 (1,7–2,5)	2,3 (1,6–3,4)**	1,5 (1,0–2,1)***	0,8 (0,5–1,2)***	0,7 (0,6–1,0)***	1,9 (1,6–2,4)	2,4 (0,8–4,9)
IgA (мг/мл)	1,8 (1,2–2,6)	2,4 (1,5–3,5)**	1,3 (0,7–1,9)***	1,3 (0,9–2,2)	1,5 (1,3–2,1)	1,7 (1,2–2,4)	0,9 (0,4–2,0)*
IgE общ. (МЕ/мл)	7,5 (3,0–18,5)	20,5 (3,0–49,0)*	11,0 (4,0–47,5)***	15,0 (6,0–42,0)**	20,0 (10,0–52,0)***	6,0 (2,0–18,0)	16,0 (4,0–26,0)

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Установлено, что уровни IgM и IgA через один месяц после вакцинации людей против чумы тоже были достоверно выше ( $p < 0,01$ ). Выявлена корреляционная связь между концентрациями этих иммуноглобулинов ( $r_s = 0,46$ ,  $p = 0,0002$ ), которая возрастала на третий ( $r_s = 0,63$ ,  $p < 0,0001$ ) и 4 ( $r_s = 0,69$ ,  $p < 0,0001$ ) сроки наблюдения. Снижение концентрации IgA имело фазный характер и наблюдалось через шесть месяцев после вакцинации/ревакцинации, в то время как уровень IgM падал к шестому месяцу после вакцинации и сохранял относительно низкие значения до 5 срока наблюдения. Также имело место достоверное снижение концентрации IgG через полгода после проведения прививки ( $p < 0,001$ ). Значимых различий в последующие сроки наблюдения не выявлено. При этом все указанные изменения концентраций основных классов иммуноглобулинов варьировали в пределах референсных значений.

На рисунке 5 представлены данные сравнительного анализа показателей основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови обследованных добровольцев в динамике вакцинального процесса, вызванного ВЧЖ.



1 – до вакцинации; 2 – через три месяца после вакцинации; 3 – через шесть месяцев после вакцинации; 4 – через 12 месяцев после вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; \* –  $p < 0,001$  уровень значимости группы мужчин в сравнении с группой женщин.

Рисунок 5 – Динамика основных классов иммуноглобулинов у вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ мужчин и женщин, Me (Q25 %-Q75 %)

Выявлены патофизиологические особенности формирования гуморального звена иммунитета у мужчин и женщин. Так, при оценке динамики выработки IgA установлено статистически значимое повышение данного показателя через три месяца после вакцинации и месяц после ревакцинации ВЧЖ у женщин по сравнению

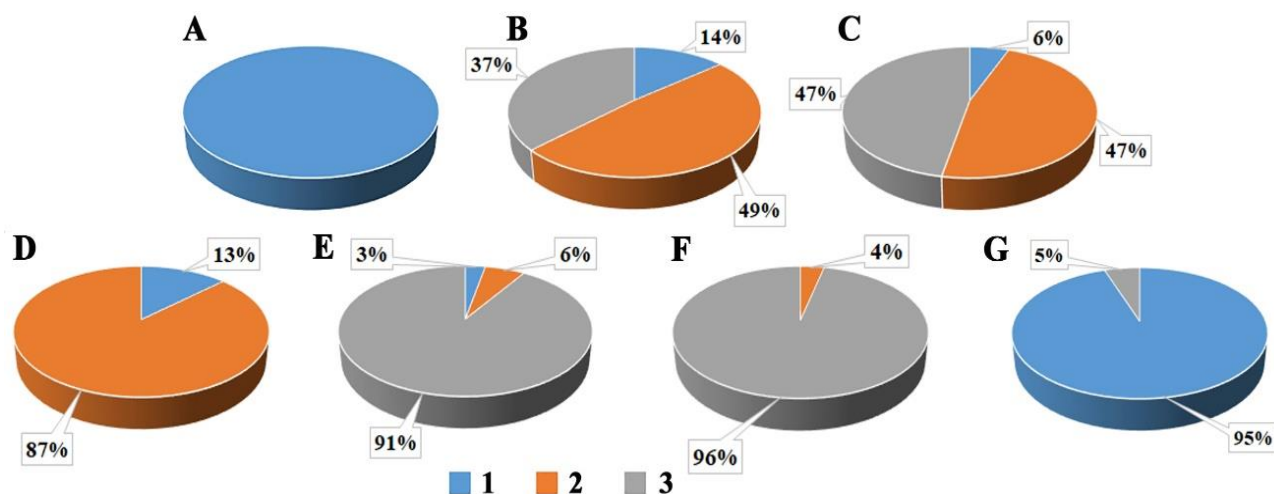
с мужчинами (Рисунок 5). По уровню сывороточного IgG минорная, но достоверная разница показателя отмечена через полгода после вакцинации. Сравнительный анализ содержания IgM в сыворотке крови выявил статистически значимые различия между показателями у женщин и мужчин на 1, 4 и 7 сроках наблюдения (Рисунок 5).

Таким образом, в ходе исследований выявлены особенности состояния гуморального звена иммунитета (основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA, общего IgE) обследованных добровольцев. Показано, что динамика изменений концентрации иммуноглобулинов основных классов имеет фазный характер. Так, у добровольцев из с. Кош-Агач после вакцинации происходит повышение уровней IgM и IgA с последующим снижением концентрации этих иммуноглобулинов и повышением до исходных значений после ревакцинации. В то время, как у жителей с. Хандагайты наблюдалось снижение IgG и IgM и повышение IgA после вакцинации живой чумной вакциной, а после ревакцинация повышение IgG, IgM и IgA при снижении общего IgE после ревакцинации. Выявленные изменения концентрации IgE не превышали референсных значений, что может свидетельствовать об отсутствии аллергических реакций в ответ на введение вакцины, и как следствие, ее безопасности. Необходимо отметить, что после вакцинации ВЧЖ наличие положительных корреляционных связей между иммуноглобулинами основных классов может свидетельствовать о развитии системного гуморального ответа в ответ на введение вакцины.

### ***3.1.2 Показатели специфического иммунитета у вакцинированных против чумы людей***

При исследовании сывороток крови людей, проживающих на территории Тувинского горного очага чумы, было показано, что положительная сероконверсия отмечалась в 86 % случаев через один месяц после вакцинации ВЧЖ, медиана титра равняется 1:156,3. Тем не менее, только в 37 % случаев зафиксирован уровень специфических антител к F1 чумного микроба, превышающий диагностический титр, равный 1:80 (Рисунок 6). Через три месяца после вакцинации наблюдалась схожая картина – лишь в 6 % случаев уровень антител не превышал значения диагностического титра. Медиана титра составила 1:137,3. Спустя полгода уровень специфических IgG в сыворотке крови сохранялся у 87 % группы добровольцев (титр АТ на уровне диагностического).

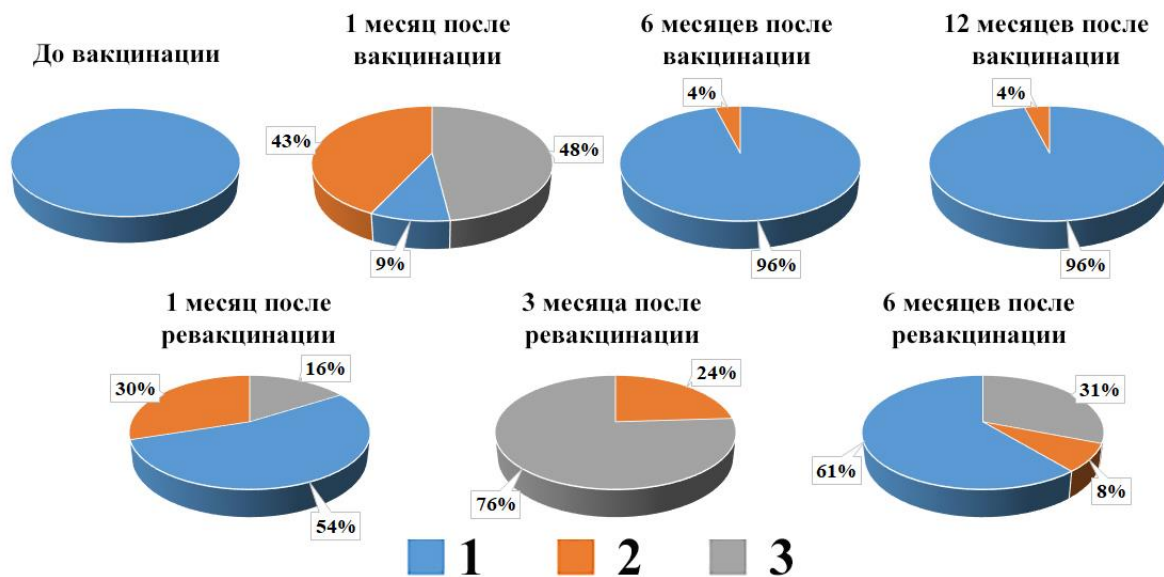
После ревакцинации уровень специфических антител к F1 чумного микроба значительно повышался на 5 срок исследования, где в 91 % случаев титр превышал диагностический (медиана титра составила 1:573,3). Аналогичные результаты были получены и через три месяца после ревакцинации, лишь у 4 % добровольцев титр IgG к капсульному антигену чумного микроба был равен 1:80. Тем не менее, к 7 сроку специфические антитела были обнаружены лишь у 5 % добровольцев. В ходе статистического анализа взаимосвязей между показателями установлена положительная корреляция титра IgG к F1 с общим IgG ( $r_s = 0,43, p < 0,05$ ), а также спонтанной продукцией IFN- $\gamma$  через один месяц ( $r_s = 0,49, p < 0,05$ ) и 3 ( $r_s = 0,30, p < 0,05$ ) после вакцинации.



А – 1 срок; В – 2 срок; С – 3 срок; D – 4 срок; Е – 5 срок; F – 6 срок;  
 G – 7 срок; 1 – титр АТ меньше диагностического; 2 – титр АТ на уровне диагностического; 3 – титр АТ выше диагностического, согласно инструкции производителя диагностический титр составляет 1:80.

Рисунок 6 – Соотношение титров антител к F1 *Y. pestis* у людей, вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ и проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы

В процессе исследования сывороток крови, полученных от людей, проживающих на территории Горно-Алтайского природного очага чумы, в динамике показано, что через один месяц после вакцинации ВЧЖ процент серопозитивных добровольцев не достигал 100 % (Рисунок 7) и только у 48 % из них зафиксирован уровень специфических антител к F1 чумного микроба, превышающий диагностический титр 1:80 (медианный титр специфических IgG = 1:197,6). Через шесть и 12 месяцев после вакцинации доля серопозитивных добровольцев составила 96 %, и только в 4 % случаев титр специфических IgG к F1 чумного микроба соответствовал уровню диагностического (Рисунок 7).



1 – титр АТ меньше диагностического; 2 – титр АТ на уровне диагностического;  
3 – титр АТ выше диагностического

Рисунок 7 – Соотношение титров антител к F1 *Y. pestis* у людей, вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ и проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы

Данные, полученные через один месяц после ревакцинации, показали, что титр специфических IgG к капсульному антигену чумного микроба превышал уровень диагностического только в 16 %, а через три месяца – 76 % случаев. Примечательно то, что через три месяца после ревакцинации уровень сероконверсии внутри исследуемой группы достигал 100 % и спустя полгода сохранялся у 39 % ревакцинированных людей. Следует отметить, что через полгода после ревакцинации уровень сероконверсии был достоверно выше по сравнению с аналогичным показателем после вакцинации ( $p = 0,001$ ).

Таким образом, динамическое наблюдение за вакцинированным против чумы населением, проживающим на территории природных очагов, позволило проанализировать временные интервалы формирования у привитых специфических

IgG к F1 *Y. pestis*, которые находятся в прямой зависимости от кратности предыдущих вакцинаций.

Сравнительный анализ данных по количеству серопозитивных добровольцев не установил значимых различий между обследованными группами через три месяца вакцинации и ревакцинации. Выявлены особенности реактивности гуморального звена иммунитета, характеризующиеся статически значимыми различиями по количеству серопозитивных добровольцев, проживающих в Тувинском горном природном очаге чумы, через один и шесть месяцев после ревакцинации (в 2,1 и 7,8 раза соответственно) по сравнению с добровольцами из с. Кош-Ачаг (Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы).

При сравнительном анализе гуморального иммунного ответа на вакцинацию и ревакцинацию ВЧЖ выявлена комплексная картина полового диморфизма. Ключевым выводом является то, что, несмотря на формирование универсального и равноценного у обоих полов специфического IgG-ответа к капсульному F1-антигену, женщины демонстрируют статистически значимо более активный краткосрочный гуморальный ответ. Это проявляется в существенно более высоких уровнях IgM, особенно в отдаленные сроки после ревакцинации (медианный уровень у женщин в 10 раз превышал мужской через полгода после ревакцинации), и более выраженном пиковом синтезе IgA после введения вакцины. В отличие от этого, половые различия для общего IgG были минимальны и отмечались лишь на одном сроке наблюдения, в то время как динамика IgE, повышавшегося после ревакцинации, и уровень специфических IgG к F1-антигену не имели гендерной привязки. Полученные данные убедительно свидетельствуют, что формирование долговременного иммунного ответа не зависит от пола, несмотря на гендерные различия в остроте начальной реактивности иммунной системы, что подчеркивает унифицированную эффективность ВЧЖ в индукции поствакцинального гуморального иммунитета. При этом с последующей вакцинации против чумы число серопозитивных лиц растет и сохраняется на более длительном временном промежутке.

### 3.2 Цитокиновый профиль у вакцинированных против чумы людей

Исследование цитокинов периферической крови отражает текущее состояние работы иммунной системы и развитие защитных реакций. Для определения цитокин-секреторной функции иммунокомпетентных клеток оценивали продуцирующую способность клеток в спонтанной и индуцированной пробах в культуральной среде методом иммуоферментного анализа. Спонтанная продукция (СП) цитокинов в культуре клеток свидетельствует о том, что клетки уже активированы *in vivo* в результате развития воспаления или иммунопатологических процессов, в то время как индуцированная продукция (ИП) цитокинов указывает на потенциальные возможности активации клеток. Для оценки иммунологической реактивности организма сравнительный анализ этих показателей продукции цитокинов имеет важное значение.

Исследование СП и ИП цитокинов клетками крови у добровольцев, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы после вакцинации ВЧЖ выявило статистически значимое снижение концентрации IFN- $\gamma$ , IL-4 и TNF- $\alpha$  в СП на второй срок наблюдения (Таблица 3) по сравнению с показателями до вакцинации ( $p < 0,01$ ). Через три и шесть месяцев после вакцинации концентрации всех исследованных цитокинов статистически значимо повышались по сравнению с исходными значениями (Таблица 3).

Подобные изменения наблюдались и в случае с ИП. Концентрация IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  в ИП цитокинов статистически значимо превышала показатели в СП во все сроки наблюдения ( $p < 0,05$ ). Исключение составил TNF- $\alpha$ , уровень выработки клетками периферической крови, которого в случае антигенной стимуляции повышался в среднем в 8,6 раз через один месяц после вакцинации по сравнению с первым сроком, но при этом через три месяца находился на уровне значений, регистрируемых в пробах спонтанной продукции.

Поскольку направленность специфического иммунного ответа напрямую зависит от пути дифференцировки CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-клеток в Th1 или Th2 [Никулин Б.А., 2008; Роит А., Ростофф Дж., Мейл Д., 2000]. Эти две популяции Т-лимфоцитов находятся в антагонистических отношениях, наиболее показательным параметром оценки функционального баланса Th1/Th2 является соотношение IFN- $\gamma$ /IL-4. Так, увеличение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 свидетельствует о повышении функциональной активности Th1, а уменьшение данного соотношения – Th2-лимфоцитов.

Результаты оценки функционального баланса Th1/Th2 у вакцинированных/ревакцинированных добровольцев представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 – Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов у людей, вакцинированных ВЧЖ и проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы, Ме (Q25%–Q75%)

Показатель	До вакцинации (1 срок)			После вакцинации, месяц								
				1 (2 срок)			3 (3 срок)			6 (4 срок)		
	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	60,0 (60-103)	99,5 (60-250)	1,6 (1,0-4,2)	42,0** (19-86)	860,0** * (570-1200)	20,5 (6,1-45,2)** *	100,0 (100-100)*	101,0 (100-200)	1,0 (1,0-2,0)**	140,0** * (140-300)	300,0** * (140-540)	1,3 (0,8-3,9)
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	100,0 (0-280)	240,0 (6-350)	1,3 (0,9-3,3)	3,0*** (2-4)	16,0*** (7-26)	4,1 (1,4-13,3)**	180,0* (120-260)	320,0** * (200-440)	1,7 (0,7-5,0)**	220,0** * (140-260)	400,0** * (320-800)	2,8 (0,8-6,0)
<b>IL-4</b>	3,0 (1,0-6,2)	5,0 (2,3-6,4)	1,1 (0,3-6,5)	1,0*** (0-2,5)	1,0*** (0-2,2)	1,2 (1,0-1,5)	2,6 (0,75-2,6)	4,0 (2,6-6,4)	1,0 (0-5,4)	1,0*** (0,0-2,5)	1,0*** (0,0-2,6)	0 (0-1,0)**
<b>IFN<math>\gamma</math>/IL-4</b>	33,3	48,0	-	3,0	16,0	-	69,2	80,0	-	220,0	400,0	-

Примечание: 1 – до вакцинации; 2 – через один месяц после вакцинации; 3 – через три месяца после вакцинации; 4 – через шесть месяцев после вакцинации; СП – спонтанная продукция цитокинов; ИП – индуцированная продукция цитокинов; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

После ревакцинации регистрировалось повышение продукции в спонтанных пробах IFN- $\gamma$  через один месяц после ревакцинации в 3,4 раза в сравнении с

исходным уровнем и TNF- $\alpha$  – через один и три месяца в 2,3 и 7,0 раз соответственно (Таблица 4).

Таблица 4 – Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов у людей, ревакцинированных ВЧЖ и проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы, Ме (Q25%–Q75%)

Показатель	До вакцинации (1 срок)			После ревакцинации, месяц								
				1 (5 срок)			3 (6 срок)			6 (7 срок)		
	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС
TNF- $\alpha$	60,0 (60-103)	99,5 (60-250)	1,6 (1,0-4,2)	140,0* (100-290)	220,0 (130-420)	1,7 (0,9-2,4)	420,0* (330-495)	380* (280-510)	1,0 (0,7-1,3)***	450,0*** (270-690)	710,0*** (680-930)	1,4 (1,0-2,8)
IFN- $\gamma$	100,0 (0-280)	240,0 (6-350)	1,3 (0,9-3,3)	340,0* (260-380)	400,0* (300-620)	1,3 (0,8-3,9)	80,0 (50-110)	145,0 (110-225)	1,6 (1,0-4,0)	43,0 (25-100)	250,0 (170-340)	4,5 (3,0-13,6)*
IL-4	3,0 (1,0-6,2)	5,0 (2,3-6,4)	1,1 (0,3-6,5)	1,0* (0-2,4)	0,8* (0-1,0)	1,3 (1,0-1,6)	5,0 (3,5-6,5)	5,0 (3,5-6,5)	1,0 (0,7-1,9)	1,8 ** (0,8-1,8)	2,7** (1,8-3,4)	1,9 (0,2-3,4)
IFN $\gamma$ /IL-4	33,3	48,0	-	340,0	500,0	-	16,0	29,0	-	23,9	92,6	-

Примечание: 1 – до вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; СП – спонтанная продукция цитокинов; ИП – индуцированная продукция цитокинов; \* –  $p < 0,001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Величина спонтанной выработки IFN- $\gamma$  на пятый срок превышал уровень IFN- $\gamma$  через один месяц после вакцинации ( $p = 0,001$ ). Также медианные значения концентрации IFN- $\gamma$  через один месяц после ревакцинации в 1,5 раза выше, чем через полгода после вакцинации ( $p = 0,0001$ ), в то время как продукция TNF- $\alpha$  находилась на том же уровне.

После ревакцинации ВЧЖ в отношении изменения продукции противовоспалительного цитокина IL-4 (Таблица 4), так же как и после вакцинации, установлено статистически значимое снижение концентрации через месяц ( $p < 0,001$ ) и повышение через три месяца до исходных значений показателя.

Статистически значимое повышение продукции IL-4 под влиянием антигена установлено на пятый срок (через один месяц после ревакцинации ВЧЖ). Через три

и шесть месяцев после ревакцинации подобных различий между СП и ИП отмечено не было. В целом уровень ИП IL-4 полностью повторяет характер изменений концентрации этого цитокина в спонтанных пробах.

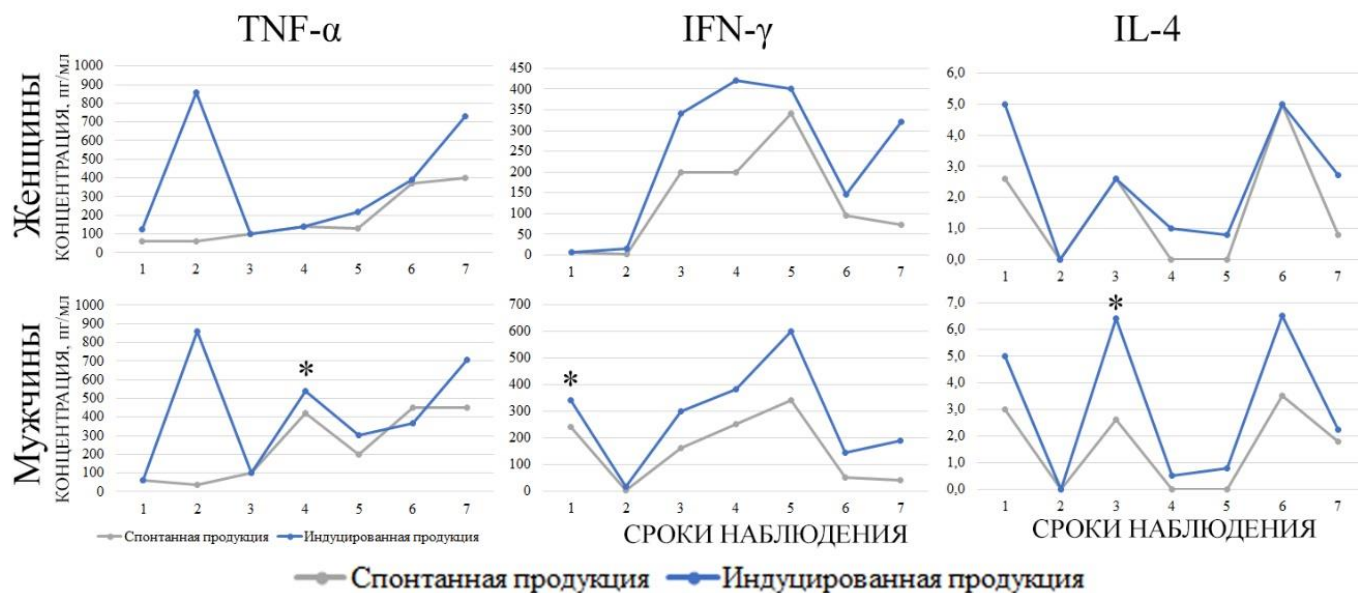
Способность лимфоцитов крови к повышению продукции цитокинов под влиянием антигена сохранялась и после ревакцинации. Стоит отметить, что спонтанная продукция TNF- $\alpha$  через один месяц после ревакцинации ВЧЖ достоверно выше в 3,3 раза ( $p < 0,001$ ), а ИП данного цитокина в 3,9 раза ниже аналогичных показателей у вакцинированных (2 срок).

Важно отметить, что независимо от сроков наблюдения в структуре формирования поствакцинального противочумного иммунитета доминируют клеточные факторы, ассоциированные с Th1, о чем свидетельствует увеличение медианы соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 (Таблицы 3 и 4).

Различия продукции цитокинов в зависимости от гендерной принадлежности представлены на рисунке 8.

У мужчин зафиксированы более высокие медианные значения показателя IL-4 в ИП через три месяца после вакцинации ( $p < 0,001$ ) и ИС на второй и шестой сроки наблюдения по сравнению с женской группой. По уровню IFN- $\gamma$  значимые различия между мужчинами и женщинами установлены в СП, ИП и ИС на первом и шестом сроках наблюдения ( $p < 0,05$ ), а в случае TNF- $\alpha$  – в СП и ИП на четвертый и шестой ( $p < 0,001$ ). Кроме того, у женщин отмечена более высокая величина соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 по сравнению с мужчинами через три месяца после вакцинации ( $p < 0,05$ ).

Полученные данные свидетельствуют о существенном влиянии гендерных различий на секрецию про- и противовоспалительных цитокинов на отдельных этапах формирования поствакцинального иммунитета.



1 – до вакцинации; 2 – через один месяц после вакцинации; 3 – через шесть месяцев после вакцинации; 4 – через 12 месяцев после вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; \* –  $p < 0,001$  уровень значимости в сравнении с женщинами.

Рисунок 8 – Динамика спонтанной/индуцированной продукции цитокинов у вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ мужчин и женщин, Ме

При оценке цитокинового профиля у населения, проживающего на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы (Кош-Агачский район Республики Алтай) выявлены значительные изменения. Установлено, что у 56 % обследованных лиц происходит повышение концентрации TNF- $\alpha$  через один месяц после вакцинации в 1,2 раза в спонтанной и индуцированной пробах (Таблица 5). Это свидетельствует как об активации клеток организма, так и о высоких потенциальных возможностях клеток, продуцирующих TNF- $\alpha$  в условиях *in vivo*. Обращает внимание тот факт, что продукция этого цитокина после ревакцинации снижалась в среднем в 39,5 раза по сравнению с аналогичными показателями после вакцинации ( $p < 0,001$ ). Следует отметить, что у всех обследованных лиц антигенная стимуляция вызывала достоверное повышение выработки TNF- $\alpha$  клетками

периферической крови в среднем в 3,9 раза по сравнению с их спонтанной продукцией во все сроки наблюдения ( $p < 0,001$ ).

Таблица 5 – Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов у людей, вакцинированных ВЧЖ и проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, Me (Q25%–Q75%)

Показатель	До вакцинации (1 срок)			После вакцинации, месяц								
				3 (2 срок)			6 (3 срок)			12 (4 срок)		
	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС
TNF- $\alpha$	204,7 (158,0 - 302,2)	466,2 (324,6- 605,9)	2,1 (1,6- 2,9)	240,0 (133,0 - 540,0) *	560,0 (230- 980)*	1,7 (1,1-2,8)	229 (142,5- 297,5)	303,5 (220- 540)*	1,4 (1-2)	240 (110- 347)	286 (174- 600)	1,4 (1,1-2)
IFN- $\gamma$	11,5 (2,3- 31,1)	462,7 (151,1- 836,7)	37,5 (15,5 - 142,9 )	21,0 (10,0- 43,0)*	179,0 (73,0- 368)*	7,8 (3,1-16,3)	8 (2- 22,5)	181,5 (57,7- 521,7) *	23,7 (6- 38,6)	17 (9- 24)	99 (47- 180)** *	5,2 (3,7- 10,5)
IL-4	3,7 (1,9- 4,6)	6,8 (5,4-8)	1,9 (1,3- 2,9)	1,1 (0,9- 1,9)*	1,5 (1,1,0- 2,3)*	1,2 (1- 1,7)	2,6 (1,8- 2,8)*	3,5 (2,8- 4,5)*	1,3 (1-1,6)	7,2 (5- 7,8)** *	7,2 (6,4- 9,8)** *	1,1 (1-1,3)
IFN $\gamma$ /IL-4	2,8 (0,8- 10)	65,3 (29,3- 111,1)	-	20,5 (9,7- 30,3)*	105,0 (45,5- 223,8) *	-	3,3 (0,7- 10,9)	48,6 (16,6- 149)	-	2,6 (1,3- 3,8)	12,8 (5,1- 26,5)*	-

Примечание: 1 – до вакцинации; 2 – через один месяц после вакцинации; 3 – через три месяца после вакцинации; 4 – через шесть месяцев после вакцинации; СП – спонтанная продукция цитокинов; ИП – индуцированная продукция цитокинов; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Подобная тенденция характерна и для IFN- $\gamma$ : статистически значимое повышение показателя в спонтанных пробах у 65 % обследованных лиц через один месяц после вакцинации в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) и достоверно высокие значения в индуцированных пробах по отношению к спонтанным (Таблица 5). Увеличение уровня IFN- $\gamma$  также наблюдалось через три месяца после ревакцинации ( $p < 0,001$ ) с последующим статистически значимым снижением к 7 сроку исследования. Показано снижение концентрации IFN- $\gamma$  в антиген-индуцированной пробе в сравнении с аналогичным показателем до вакцинации. У всех обследованных лиц

антигенная стимуляция вызывала достоверное повышение выработки IFN- $\gamma$  клетками периферической крови в среднем в 14,9 раз по сравнению с их спонтанной продукцией во все сроки наблюдения ( $p < 0,001$ ).

Не менее значимую роль в развитии иммунитета играют Т-хелперы 2 типа (Th2), которые активируют В-лимфоциты, способствуя развитию гуморального иммунного ответа, и, в частности, продуцируют противовоспалительный цитокин и костимулятор В-клеток – IL-4.

Иммуноферментный анализ количественного определения IL-4 показал (Таблицы 5 и 6), что статистически значимое снижение концентрации лимфокина у людей, вакцинированных ВЧЖ, имело место через один, шесть месяцев после вакцинации и один, три месяца после ревакцинации живой чумной вакциной по сравнению с аналогичным показателем до вакцинации как в спонтанной (3,4 и 1,5 раза соответственно), так и в индуцированной пробах (4,5 и 1,9 раза соответственно).

Таблица 6 – Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов у людей, ревакцинированных ВЧЖ и проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, Me (Q25%–Q75%)

Показатель	До вакцинации (1 срок)			После ревакцинации, месяц								
				1 (5 срок)			3 (6 срок)			6 (7 срок)		
	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС	СП	ИП	ИС
TNF- $\alpha$	204,7 (158-302,2)	466,2 (324,6-605,9)	2,1 (1,6-2,9)	3,6 (1,2-9,5)***	44,2 (18,5-106)***	6,7 (3,1-27,5)	20 (12-52)***	84 (46-116)***	4 (2,5-9)	12,0 (7,0-31,3)***	55,6 (28,2-186,8)***	4 (1,4-6,5)
IFN- $\gamma$	11,5 (2,3-31,1)	462,7 (151,1-836,7)	37,5 (15,5-142,9)	7 (5-10)	97,0 (23,7-177,2)***	12,3 (4,7-25,4)	60 (20-60)	220 (140-490)**	7 (3-11,7)	5,0 (2,2-7,7)	58,0 (32-151)***	11,3 (5,4-30)
IL-4	3,7 (1,9-4,6)	6,8 (5,4-8)	1,9 (1,3-2,9)	1,4 (0,8-2)***	2,0 (1,4-2,4)***	1,6 (1-2,5)	1,0 (0,8-1,6)***	3,2 (1,8-4,9)**	2,8 (1,4-5)	13 (10,4-16)***	16,0 (12,0-17,6)***	1,1 (1-1,1)
IFN $\gamma$ /IL-4	2,8 (0,8-10)	65,3 (29,3-111,1)	-	5,9 (3,7-11,8)*	48,5 (16,2-94,7)	-	25 (24-60)*	88 (31,2-225)*	-	0,4 (0,1-0,6)*	3,8 (2,0-10,9)*	-

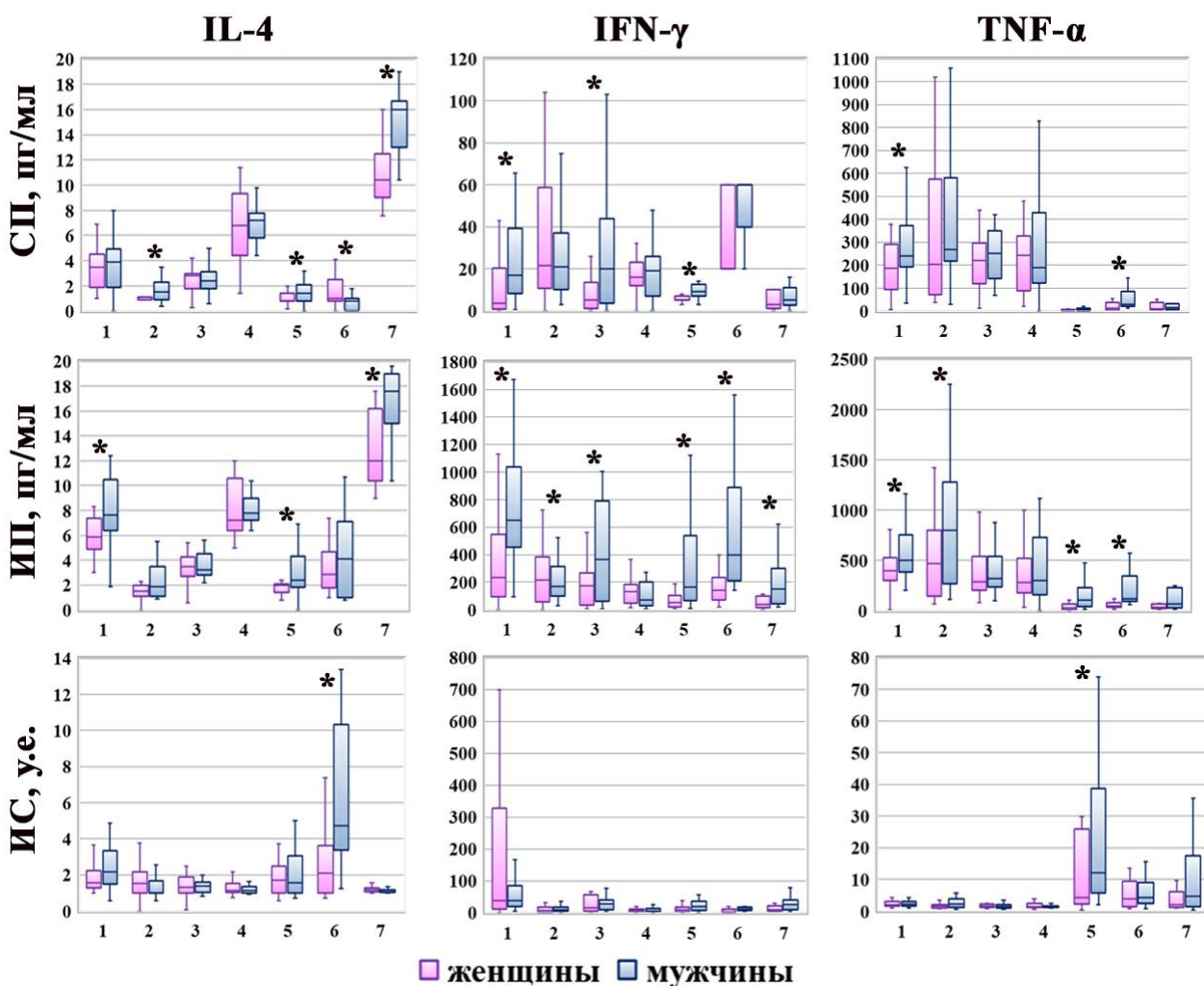
Примечание: 1 – до вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; СП – спонтанная продукция цитокинов; ИП – индуцированная продукция цитокинов; \* –  $p < 0,001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

На 7 срок проведения исследования установлено значительное повышение концентрации IL-4 по сравнению с исходным уровнем.

Таким образом, сравнительный анализ оценки цитокинового профиля добровольцев, вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ независимо от места проживания на территориях природных очагов чумы в Сибири показал, что через один месяц после вакцинации только в 4 % случаев наблюдалось смещение в сторону функциональной активности Th2 и снижение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 по сравнению с исходным показателем. В тоже время у 96 % обследованных установлено повышение активности Th1, что сопровождалось увеличением концентрации IFN- $\gamma$  и соответственно соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4. Это может свидетельствовать о сдвиге иммунного ответа после вакцинации в сторону клеточного звена иммунитета. В последующие сроки исследования наблюдалась аналогичная картина – преобладание клеточного иммунитета.

Можно предположить, что недостаточная выработка IL-4 на 5 и 6 сроки приводит к супрессии Th2-лимфоцитов и соответственно увеличению показателя IFN- $\gamma$ /IL-4, но корреляционных связей между показателями цитокинового профиля и субпопуляционного состава клеток крови не выявлено. Кардинальное изменение соотношения Th1 к Th2 имело место через шесть месяцев после ревакцинации – в 92 % случаев происходило увеличение концентрации IL-4 к IFN- $\gamma$  и соответственно преобладание гуморального иммунитета.

На рисунке 9 представлены данные сравнительного анализа продукции цитокинов у мужчин и женщин, которые свидетельствуют о статистически значимых различиях между данными группами. Так, до вакцинации в выборке мужчин отмечены более высокие медианные значения IL-4 в ИП, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  в СП и ИП в 1,3-4,8 раза по сравнению с показателями у женщин ( $p < 0,05$ ).



1 – до вакцинации; 2 – через один месяц после вакцинации; 3 – через шесть месяцев после вакцинации; 4 – через 12 месяцев после вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; \* –  $p < 0,05$  уровень значимости в сравнении с женщинами.

Рисунок 9 – Продукция цитокинов у женщин и мужчин, вакцинированных ВЧЖ и проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы

Также статистически значимые различия между группами мужчин и женщин установлены через один месяц после ревакцинации по уровням IL-4 и IFN-γ в СП и

ИП (в 1,2-3,2 раза), а также TNF- $\alpha$  в ИП и по ИС – в 3,7 и 2,8 раза соответственно. После вакцинации/ревакцинации продукция IL-4 клетками крови в СП (2 и 7 сроки) у мужчин достоверно выше по сравнению с женщинами ( $p < 0,05$ ). Установлены значимые различия между группами по показателю IFN- $\gamma$  в ИП (кроме 4 срока). Также нельзя не отметить наличие различий по полу при сравнительном анализе ИС IL4 и TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ).

Полученные данные свидетельствуют о наличии выраженных гендерных различий в динамике формирования иммунного ответа на фоне иммунизации ВЧЖ. Так, у мужчин наблюдался более высокий уровень СП провоспалительных цитокинов IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  по сравнению с женщинами, особенно на ранних этапах после вакцинации/ревакцинации. У женщин, напротив, в более поздние сроки (7 срок) регистрировался повышенный уровень IL-4, как в СП, так и в ИП, что указывает на активацию Th2 и гуморального звена иммунитета ( $p < 0,05$ ). Кроме этого, анализ ИС IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  также выявил повышение данного показателя у мужчин в фазе отсроченного иммунного ответа (5 и 7 сроки), что может свидетельствовать о потенцированной активации клеточного звена иммунитета.

Увеличение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 как после вакцинации, так и после ревакцинации в ИП в группе обследованных мужчин значимо выше, чем у женщин, что также свидетельствует о повышении функциональной активности Th1.

Таким образом, сравнительный анализ показателей цитокинового профиля добровольцев, вакцинированных (ревакцинированных) ВЧЖ показал, что независимо от места проживания на территориях природных очагов чумы Сибири через один месяц после вакцинации снижение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 по сравнению с исходным показателем наблюдалось смещение в сторону функциональной активности Th2 2-4 % добровольцев. Установлено преобладание повышенной активности Th1 96-98 % обследованных, сопровождающееся увеличением концентрации IFN- $\gamma$  и соответственно соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4. Выявленные особенности свидетельствуют о сдвиге иммунного ответа после вакцинации

(ревакцинации) в сторону клеточного звена иммунитета. Показано, что независимо от сроков наблюдения после вакцинации (ревакцинации) ВЧЖ формирования иммунитета направлено преимущественно по доминирующему Th1-пути.

Важно отметить, что при сравнительном анализе направленности иммунного ответа у вакцинированных против чумы мужчин и женщин выявлено преобладание иммунной реакции клеточного типа у мужчин, а у женщин – гуморального, что имеет важное прикладное значение.

Учитывая статистически значимые гендерные различия на отдельных этапах поствакцинального периода, можно предположить, что пол человека следует учитывать при разработке индивидуализированных схем иммунизации, а также при интерпретации показателей иммунологической эффективности вакцинных препаратов.

Полученные данные свидетельствуют о диагностической значимости определения цитокинового профиля у вакцинированных (ревакцинированных) людей, проживающих на эндемичных по чуме территориях в рамках иммунологического мониторинга эффективности специфической профилактики.

### **3.3 Показатели клеточного звена иммунитета у вакцинированных против чумы людей**

Известно, что Т-лимфоциты являются наиболее быстро реагирующими на воспалительный процесс иммунокомпетентными клетками. Поэтому оценка их содержания – один из наиболее информативных показателей при изучении состояния иммунной системы. Как правило, развитие воспалительного процесса разной этиологии сопровождается снижением относительного содержания Т-лимфоцитов, причем интенсивность воспалительного процесса зависит от степени снижения данного показателя.

В ходе изучения клеточного состава крови вакцинированных ВЧЖ людей, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы, было установлено статистически значимое снижение  $CD3^+$ -клеток через один и три месяца после вакцинации в сравнении с исходным уровнем (Таблица 7).

Статистически значимое повышение  $CD3^+$ -клеток на 10 % отмечено на четвертый срок ( $p < 0,05$ ), тем не менее величина показателя находилась в диапазоне физиологической нормы.

Наблюдаемые изменения содержания Т-лимфоцитов сопровождались перераспределением их популяций. Так установлено статистически значимое увеличение концентрации  $CD3^+CD8^+$ -лимфоцитов на второй срок наблюдения и снижение уровня  $CD3^+CD4^+$ -клеток через три месяца, а через шесть месяцев отмечалось достоверное повышение содержания Т-хелперов при одновременном снижении процентного содержания цитотоксических Т-лимфоцитов.

Таблица 7 – Динамика содержания натуральных киллеров, Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных против чумы людей, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы, Me (Q25%–Q75%)

Показатель, %	До вакцинации (1 срок)	После вакцинации, месяц		
		1 (2 срок)	3 (3 срок)	6 (4 срок)
Т-лимфоциты, (CD3 <sup>+</sup> )	64,9 (58,1–70,1)	61,9 (55,1–68,1) **	53,5 (48,5–60,2) ***	74,4 (67,3–76,7) ***
Т-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> )	29,6 (24,5–33,5)	28,3 (23,8–32,8)	24,3 (20,5–26,7) ***	38,6 (32,2–43,7) ***
Т-цитотоксические клетки (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> )	29,4 (24,1–35,1)	30,3 (23,4–35,7) *	28,9 (20,1–38,1)	26,4 (23,6–31,4) ***
НК-клетки (CD16 <sup>+</sup> )	16,7 (12,9–21,9)	19,2 (13,1–25,2) ***	20,9 (17,6–25,1) ***	13,6 (7,0–19,3) **
В-лимфоциты (CD19 <sup>+</sup> )	9,5 (7,2–12,3)	12,2 (8,5–14,2) ***	12,1 (8,5–16,0) *	7,5 (5,2–9,1) ***

Примечание: 1 – до вакцинации; 2 – через один месяц после вакцинации; 3 – через три месяца после вакцинации; 4 – через шесть месяцев после вакцинации; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Содержание Т-хелперов после ревакцинации также оставалось значительно выше в сравнении с данными перед вакцинацией – в 1,2 и 1,6 раза по сравнению со 2 и 3 сроком наблюдения соответственно ( $p < 0,001$ ).

После ревакцинации ВЧЖ процентное содержание CD3<sup>+</sup>-клеток оставалось на относительно высоком уровне ( $p < 0,0001$ ) по сравнению с величиной показателя до вакцинации (Таблица 8).

Динамика содержания В-клеток крови соответствует текущему вакцинальному процессу: повышение их относительного содержания после вакцинации и постепенное снижение (Таблицы 7 и 8).

Величина показателя при этом варьирует в пределах нормальных значений. Содержание CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов через три месяца после ревакцинации ВЧЖ коррелировало с повышенным содержанием IgG в сыворотке крови обследованных ( $r_s = 0,43$ ,  $p < 0,05$ ).

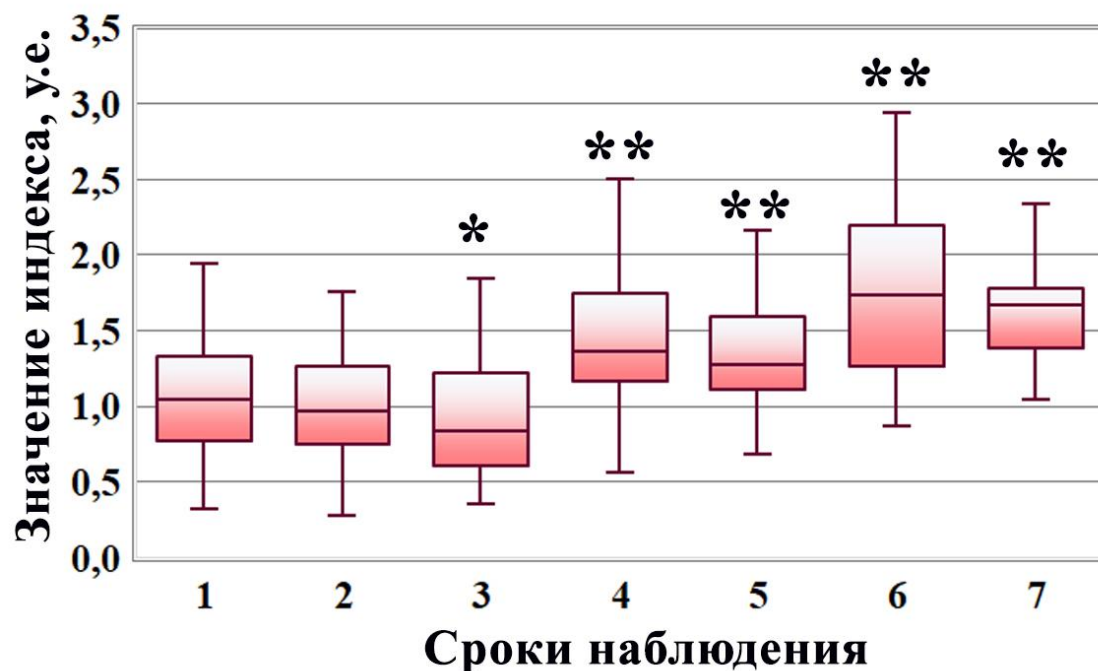
Таблица 8 – Динамика содержания натуральных киллеров, Т- и В-лимфоцитов в крови ревакцинированных против чумы людей, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы, Me (Q25%–Q75%)

Показатель, %	До вакцинации (1 срок)	После ревакцинации, месяц		
		1 (5 срок)	3 (6 срок)	6 (7 срок)
Т-лимфоциты, (CD3+)	64,9 (58,1–70,1)	70,1 (62,8–74,4)**	71,0 (62,9–77,0)**	67,7 (60,2–71,8)*
Т-хелперы (CD3+CD4+)	29,6 (24,5–33,5)	34,7 (32,6–37,7)**	38,2 (33,9–44,4)**	38,4 (31,8–42,3)**
Т-цитотоксические клетки (CD3+CD8+)	29,4 (24,1–35,1)	26,9 (21,9–31,2)**	23,3 (19,6–28,0)**	23,5 (22,8–25,3)**
НК- клетки (CD16+)	16,7 (12,9–21,9)	17,4 (12,5–22,8)	8,6 (7,1–12,8)**	15,3 (13,1–22,1)
В-лимфоциты (CD19+)	9,5 (7,2–12,3)	9,8 (8,1–11,7)	9,0 (7,1–11,5)*	9,1 (6,7–11,9)**

Примечание: 1 – до вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,001$ , \*\*\* –  $p < 0,0001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

В случае CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов отмечалась тенденция к снижению величины показателя после ревакцинации ВЧЖ при сравнении с данными 1 срока наблюдения (Таблица 8). При анализе иммунорегуляторного индекса (ИРИ) установлено, что происходит изменение данного показателя на 3 срок наблюдения за счет сниженного уровня Т-хелперов (Рисунок 10). Для первых трех сроков наблюдения характерны низкие значения ИРИ, что связано со снижением содержания CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (ниже референсных значений – 1,0-2,5 у.е.).

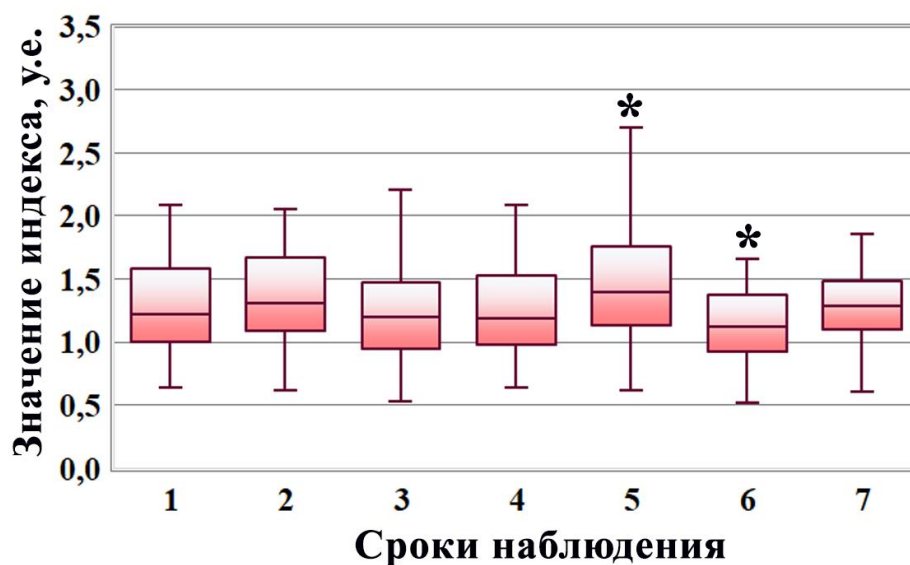
Повышение значения ИРИ через шесть месяцев после вакцинации, а также через один, три и шесть месяцев после ревакцинации ВЧЖ людей ( $r_s = 0,65$  и  $r_s = 0,7$  соответственно,  $p < 0,05$ ) за счет увеличения доли Т-хелперов.



Примечание: 1 – до вакцинации; 2 – через один месяц после вакцинации; 3 – через три месяца после вакцинации; 4 – через шесть месяцев после вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; \*  $p < 0,01$ , \*\* –  $p < 0,001$  уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Рисунок 10 – Динамика иммунорегуляторного индекса у людей, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы, Me (Q25%–Q75%)

После ревакцинации наблюдались статистически значимые сдвиги содержания Т-хелперов сопровождались изменениями ИРИ: повышение на 5 и его снижение на 6 сроки наблюдения за счет Т-хелперов (Рисунок 11).

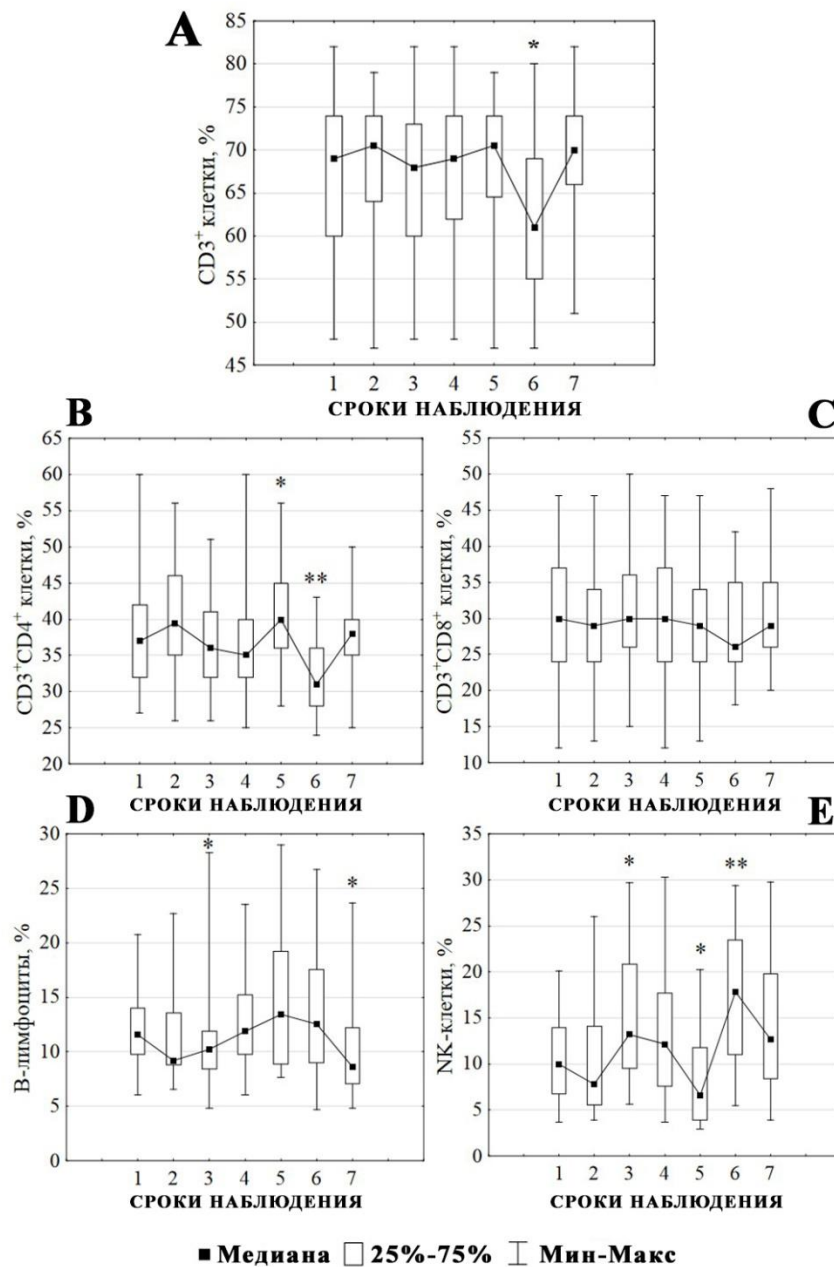


Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходными (до вакцинации)

Рисунок 11 – Иммунорегуляторный индекс у людей, проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, Me (Q25%–Q75%)

В ходе исследования изменений процентного содержания  $CD3^+$ -клеток у добровольцев, проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, после вакцинации ВЧЖ зарегистрировано не было (Рисунок 12, А). Тем не менее, наблюдалась тенденция ( $p = 0,09$ ) к повышению данного показателя через один месяц после вакцинации/ревакцинации. Необходимо отметить, что статистически значимое понижение данного показателя в среднем на 10 % по сравнению с исходным (до вакцинации) имело место через три месяца после ревакцинации, что, вероятно, связано с формированием гуморального иммунного ответа.

Изменений процентного содержания  $CD3^+CD8^+$ -клеток во все исследуемые периоды не было отмечено (Рисунок 12, С). Выявленное на 6 срок снижение  $CD3^+CD4^+$ -клеток нельзя рассматривать как неблагоприятный признак, поскольку их процентное содержание находилось в пределах референсных значений (Рисунок 12, В). Стоит отметить, что на 2 срок исследования отмечалась тенденция ( $p = 0,07$ ) к повышению относительного содержания  $CD3^+CD4^+$ -клеток.



Сроки наблюдения: 1 – до вакцинации; 2 – через три месяца после вакцинации; 3 – через шесть месяцев после вакцинации; 4 – через 12 месяцев после вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с показателем до вакцинации.

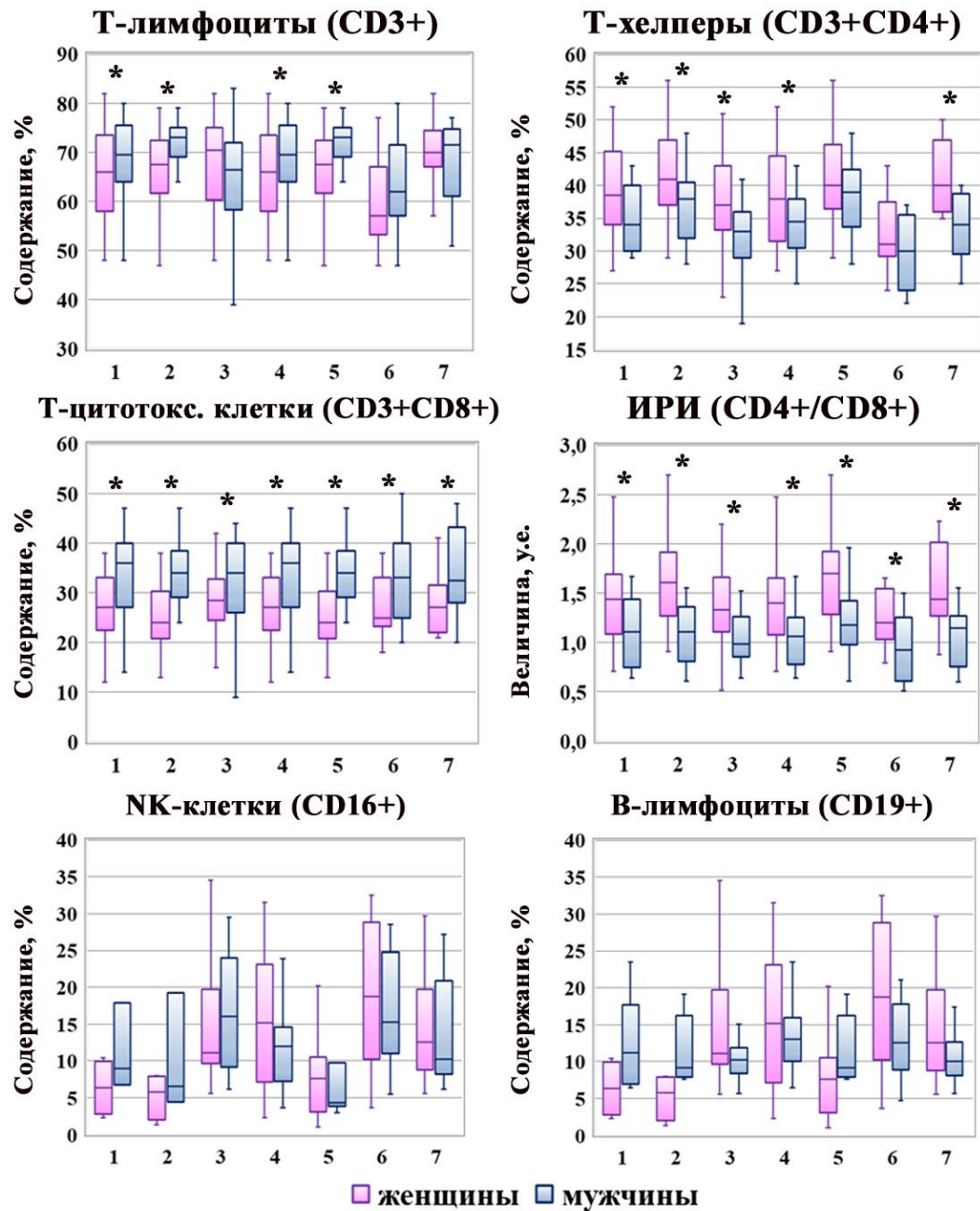
Рисунок 12 – Динамика содержания натуральных киллеров, Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных/ревакцинированных против чумы людей, проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, Me (Q25%–Q75%)

Известно, что натуральные киллеры относятся к клеточным факторам неспецифической резистентности, которые лизируют клетки-мишени, инфицированные вирусами и другими внутриклеточными агентами. Нами показано, что после вакцинации ВЧЖ содержание НК увеличивается в 1,1-1,2 раза по сравнению с показателями до иммунизации и заметно снижается спустя полгода (в 1,2 раза,  $p < 0,001$ ).

Показано, что динамика содержания В-клеток крови добровольцев после ревакцинации, характеризуется значимым повышением их относительного содержания (Рисунок 12, D). Корреляционный анализ выявил связь количественных показателей содержания этих клеток на 2 срок наблюдения с уровнем IFN- $\gamma$  ( $r_s = -0,52$ ,  $p = 0,049$ ).

Установлен фазный характер содержания НК, который выразался в их статистически значимом повышении через шесть месяцев после вакцинации и три месяца после ревакцинации (Рисунок 12, E). Возможно, данные изменения не связаны с иммунным ответом на ВЧЖ. Для раскрытия механизмов участия НК в развитии поствакцинального противочумного иммунитета необходимы дальнейшие исследования.

На рисунке 13 представлены результаты сравнительного анализа состояния клеточного звена иммунитета у вакцинированных против чумы между мужчин и женщин. Выявлены значимые различия, свидетельствующие о том, что пол является значимым фактором, влияющим на содержание CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов в крови. Показано, что на 1, 2, 4 и 5 сроки наблюдения уровень CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов у мужчин в среднем на 10 % выше, чем у женщин ( $p < 0,05$ ), но на 3 и 7 сроки эти различия отсутствуют. Тем не менее, реакция на ревакцинацию (сроки 5-7) относительно половой принадлежности зеркально повторяет реакцию на вакцинацию (сроки 2-4).



Сроки наблюдения: 1 – до вакцинации; 2 – через три месяца после вакцинации; 3 – через шесть месяцев после вакцинации; 4 – через 12 месяцев после вакцинации; 5 – через один месяц после ревакцинации; 6 – через три месяца после ревакцинации; 7 – через шесть месяцев после ревакцинации; \* –  $p < 0,05$  при сравнении показателей между мужчинами и женщинами.

Рисунок 13 – Субпопуляционный состав клеток крови вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ мужчин и женщин, проживающих на территории Горно-Алтайского природного очага чумы

В целом у мужчин выявлена более высокая и ранняя поствакцинальная CD3<sup>+</sup>-клеточная реакция, чем у женщин. На всем протяжении исследования и у мужчин, и у женщин наблюдается слабая отрицательная корреляция, свидетельствующая об общей тенденции к незначительному снижению процента CD3<sup>+</sup>-клеток от начала к концу исследования ( $rs = -0,17, p = 0,005$  и  $rs = -0,20, p = 0,04$  соответственно). Полученные данные указывают на то, что ревакцинация против чумы вызывает более выраженный (или отсроченный) модулирующий эффект на Т-клеточное звено иммунитета (представленное CD3<sup>+</sup> клетками), чем вакцинация, что может быть обосновано перераспределением лимфоцитов.

Установлены высокие уровни Т-хелперов у женщин на протяжении большей части исследования ( $p < 0,05$ ) по сравнению с обследованными мужчинами. Наиболее выраженные различия наблюдаются в начальный период и через 3-12 месяцев после вакцинации, на сроках 5 и 6 различия между мужчинами и женщинами нивелируются, но спустя полгода после ревакцинации различия по уровню Т-хелперов вновь становятся значимыми (Рисунок 13), что может быть обусловлено однонаправленностью иммунного ответа у обоих полов. У женщин после ревакцинации (при сравнении сроков 6 и 7) выявлена способность к активации процесса восстановления уровня CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> клеток по сравнению с мужчинами.

Сравнительный анализ полученных данных показал, что уровень цитотоксических Т-лимфоцитов у мужчин в среднем в 1,2-1,4 раза (Рисунок 13) значимо выше, чем у женщин на всех этапах исследования ( $p < 0,05$ ). Это одна из ключевых находок, указывающих на фундаментальные различия в иммунном статусе между полами. Вакцинация и ревакцинация ВЧЖ оказывают статистически значимое, но умеренное влияние, на уровень CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-клеток у женщин ( $p < 0,05$ ). Установлено снижение данного показателя через три месяца после вакцинации и через месяц после ревакцинации по сравнению с исходным уровнем. Общая незначительная отрицательная корреляция подтверждает тенденцию к снижению в динамике наблюдения ( $rs = -0,21, p = 0,005$ ). Статистически значимых различий по

уровню CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-клеток на протяжении всего периода наблюдения у мужчин не выявлено.

Сравнительный анализ ИРИ у мужчин и женщин показал, что у женщин направленность иммунного ответа на вакцинацию/ревакцинацию ВЧЖ по клеточному типу статистически значимо выше по сравнению с мужчинами ( $p < 0,05$ ). Динамика колебаний медианных значений ИРИ регистрируется в течение всего периода наблюдения как для женщин, так и для мужчин (Рисунок 13). Установлено, что значения ИРИ имеют тенденцию к росту после вакцинации/ревакцинации ВЧЖ. Выявлена незначительная положительная корреляция, свидетельствующая о тенденции к повышению ИРИ как у мужчин, так и у женщин в динамике поствакцинального иммунитета ( $rs = 0,25, p < 0,05$ ). При этом доля добровольцев с значением ИРИ, который не превышает физиологической нормы на всех этапах исследования среди женщин выше, чем у мужчин. После ревакцинации установлено преобладание высоких показателей ИРИ у обоих полов, не превышающих диапазон физиологической нормы.

При оценке процентного содержания НК-клеток статистически значимых различий между вакцинированными/ревакцинированными мужчинами и женщинами не выявлено (Рисунок 13).

Установлено статистически значимое снижение уровня CD16<sup>+</sup>-клеток через месяц после ревакцинации (срок 5). Этот спад наблюдается как у женщин, так и у мужчин по сравнению с более ранними и поздними сроками наблюдения. Это может указывать на кратковременное снижение данного пула лимфоцитов после повторного введения ВЧЖ, что может быть связано с их активацией, миграцией в ткани или апоптозом и требует более глубокого исследования с применением методов, оценивающих функциональную активность данных клеток.

Вакцинация против чумы оказывает модулирующее влияние на уровень CD16<sup>+</sup>-клеток у добровольцев обоих полов, проявляющееся в виде

кратковременного снижения после ревакцинации. Данный эффект не зависит от пола и не формирует долговременной однонаправленной тенденции ( $p > 0,05$ ).

Установлено, что вакцинация/ревакцинация ВЧЖ вызывает статистически значимые изменения в процентном содержании В-лимфоцитов (Рисунок 13) как у мужчин, так и у женщин ( $p < 0,05$ ). У женщин динамика колебаний показателя более выражена – наблюдается четкое возрастание уровня В-клеток через месяц после ревакцинации, с последующим значимым снижением к третьему месяцу после ревакцинации (Рисунок 13). У мужчин динамика сглажена, статистически значимые попарные различия не обнаружены, но общая тенденция к изменению во времени подтверждена тестом Фридмана ( $p = 0,006$ ). В ходе исследования не установлено статистически значимых различий в уровне CD19<sup>+</sup>-клеток между мужчинами и женщинами в динамике наблюдения, и пол не является значимым фактором, определяющим величину этого показателя на фоне вакцинации/ревакцинации ВЧЖ. Обнаружена положительная корреляция между уровнями CD19<sup>+</sup>-клеток на разных сроках наблюдения ( $rs = 0,58-0,91$ ,  $p < 0,005$ ), что может свидетельствовать об индивидуальных особенностях этого параметра относительно показателей до вакцинации.

Вакцинация ВЧЖ модулирует уровень В-лимфоцитов, причем у женщин этот ответ более фазный и выраженный, с четким пиком после ревакцинации. Однако средние уровни в группах мужчин и женщин сопоставимы. Индивидуальные особенности иммунной системы, отражающиеся в исходном уровне В-лимфоцитов, играют большую роль в формировании поствакцинального клеточного иммунного ответа, чем половой диморфизм.

Таким образом, результаты комплексного сравнительного иммунологического исследования иммунизированных ВЧЖ людей, проживающих и осуществляющих свою трудовую деятельность на территории Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного природных очагах чумы, позволили установить ряд патофизиологических особенностей субпопуляционного состава клеток крови,

которые свидетельствуют об активации гуморального и клеточного звеньев иммунитета. В ходе изучения клеточного состава крови вакцинированных ВЧЖ людей, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы, установлено статистически значимое снижение Т-лимфоцитов через три и шесть месяцев после вакцинации (за счет снижения уровня Т-хелперов) и повышение на 10-12 % через шесть месяцев посредством Т-хелперов при одновременном снижении процентного содержания цитотоксических Т-лимфоцитов, тем не менее величина показателя находилась в диапазоне физиологической нормы. Содержание Т-хелперов после ревакцинации также оставалось в 1,2-1,6 раза выше по сравнению с показателями после вакцинации ( $p < 0,001$ ).

Динамика содержания В-клеток крови добровольцев после ревакцинации характеризуется значимым повышением их относительного содержания и через три месяца данный показатель коррелировал с повышенным содержанием IgG в сыворотке крови обследованных.

Отсутствие дисбаланса в показателях содержания цитотоксических Т-лимфоцитов и увеличение показателей ИРИ в пределах референсных значений, а также негативных изменений в субпопуляционном составе клеток крови и возрастание процентного содержания Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+$ ) может свидетельствовать о наличии адаптивного клеточного иммунитета, который играет важную роль в активации и пролиферации В-лимфоцитов.

Таким образом, вакцинация (ревакцинация) против чумы приводят к формированию выраженного клеточного иммунного ответа, который сохраняется на протяжении всего срока наблюдения, при этом половой диморфизм и индивидуальные особенности каждого обследованного играют важную роль. Полученные данные согласуются с известными особенностями иммунной системы, касающимися гормонального фона у женщин, которые способствуют более сильному Th1-ответу и пролиферации Т-клеток.

### 3.4 Взаимосвязь полиморфизма генов HLA II и показателей иммунного статуса у вакцинированных против чумы людей

В связи с низкой репрезентативностью сравниваемых выборок по срокам наблюдения оценку взаимосвязи генетических полиморфизмов генов HLA II класса и показателей иммунной реактивности клеток организма добровольцев, вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ и проживающих на территории природных очагов чумы Сибири, проводили по усредненным значениям, результаты которой представлены в виде Me (Q25%–Q75%).

В ходе типирования HLA II класса у добровольцев по локусу HLA-DRB1 разброс распределения по аллельным группам (Рисунок 14, А) составил 0,6–14,1 % – самая многочисленная группа была с аллельным вариантом \*13 (254 чел.), а меньше всего добровольцев с \*16 (11 чел.).

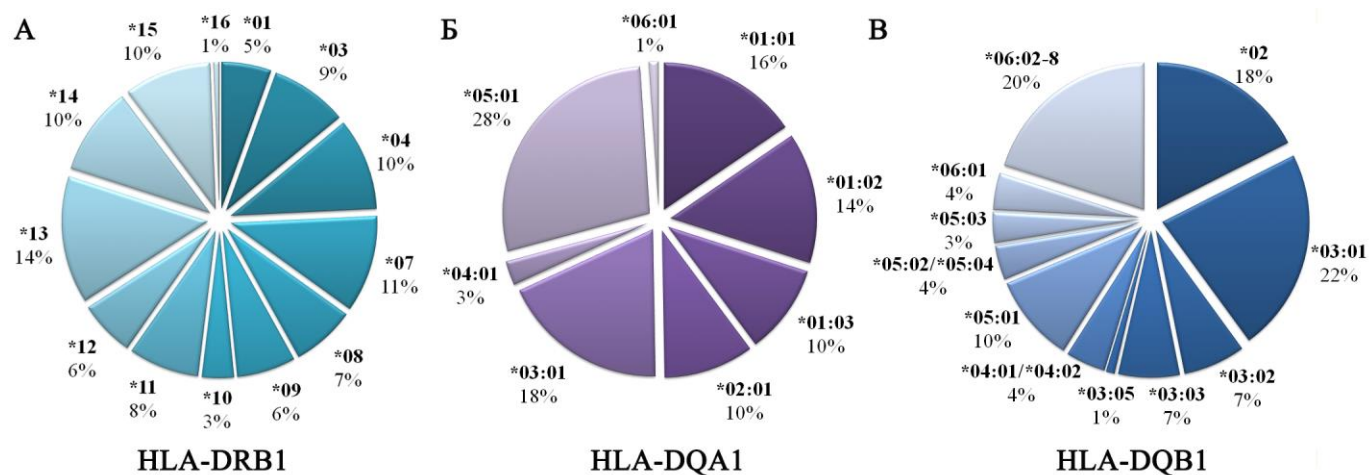


Рисунок 14 – Распределение аллельных групп генов HLA-II у вакцинированных/ревакцинированных против чумы людей

По локусу HLA-DQA1 280 добровольцев были с аллелью \*01:01, 261 чел. – \*01:02, 178 чел. – \*01:03, 178 чел. – \*02:01, 333 чел. – \*03:01, 48 чел. – \*04:01, 507 чел. – \*05:01 и 19 добровольцев с \*06:01 (Рисунок 14, Б). По HLA-DQB1 распределение добровольцев было следующее: \*02 (316 чел.), \*03:01 (405 чел.), \*03:02 (124 чел.), \*03:03 (122 чел.), \*03:04 (1 чел.), \*03:05 (17 чел.), \*04:01/\*04:02 (79 чел.), \*05:01 (175 чел.), \*05:02/\*05:04 (68 чел.), \*05:03 (61 чел.), \*06:01 (73 чел.) и \*06:02-8 (363 чел.) (Рисунок 14, В). Установлено, что аллельный вариант *HLA-DQB1\*03:05* встречается только в группе добровольцев, проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы.

В ходе определения фенотипа HLA II класса установлена гомозиготность по локусу *DRB1* у 67 добровольцев: \*01 (1), \*03 (2), \*04 (4), \*07 (15), \*08 (1), \*09 (2), \*11 (1), \*12 (7), \*13 (25), \*14 (3), \*15 (6). По локусу *DQA1* число гомозигот составило 138: \*01:01 (11), \*01:02 (27), \*01:03 (11), \*02:01 (2), \*03:01 (23), \*05:01 (64). 82 волонтера были гомозиготными по *DQB1*: \*02 (25), \*03:02 (2), \*03:03 (1), \*03:05 (6), \*04:01/\*04:02 (3), \*06:01 (6), \*06:02-8 (39).

Выявлены статистически значимые различия в уровне сывороточного IL-4, его спонтанной/индуцированной продукции и ИС у добровольцев с аллельными группами HLA-DRB1 (Таблица 9). Также значимые различия между аллельными группами HLA-DQA1 отмечены только в ИП и ИС (Таблица 11). При оценке взаимосвязи групп аллелей HLA-DQB1 и показателей продукции IL-4 можно выделить аллельные группы \*02, \*03:01, \*03:02, \*03:05, \*05:01 и \*06:02-8, влияние которых на синтез этого цитокина в СП и ИП, а также ИС было статистически значимо ( $p < 0,05$ ). Таким образом, по совокупности результатов, полученных для концентрации IL-4 в сыворотке крови, в СП и ИП, а также по значениям ИС, можно предположить взаимосвязь аллельных групп \*08, \*09, \*10, \*12, \*15 и \*16 в локусе *DRB1*, аллельных групп \*01:01, \*01:02, \*03:01, \*04:01, \*05:01 и \*06:01 в локусе *DQA1* и \*02, \*03:01, \*03:02, \*03:05, \*05:01 и \*06:02-8 в локусе *DQB1* с синтезом

этого цитокина клетками крови у вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ людей.

Таблица 9 – Межгрупповые различия в содержании IL-4 у добровольцев с разными аллелями HLA-II (Me (Q25%–Q75%))

Локус	Аллельные группы	IL-4 в сыворотке крови, пг/мл	СП IL-4, пг/мл	ИП IL-4, пг/мл	ИС IL-4, усл. ед.
<i>DRB1</i>	*01	0,2 (0–3,2)	1,0 (0–5,8) <sup>+</sup>	2,2 (0–7,0)	1,5 (0,5–4,6) <sup>+</sup>
	*03	0,2 (0–1,7)	1,7 (0–7,8)	2,6 (0–8,9) <sup>+</sup>	1,4 (0,8–3,9) <sup>+</sup>
	*04	0 (0–1,7)	1,2 (0–6,4) <sup>+</sup>	1,8 (0–8,3)	1,5 (0,5–4,3) <sup>+</sup>
	*07	0,2 (0–0,9)	1,4 (0–7,0) <sup>+</sup>	2,2 (0–10,4) <sup>+</sup>	1,3 (0,7–3,9) <sup>+</sup>
	*08	0,5 (0–1,7) <sup>+</sup>	1,8 (0–7,8) <sup>+</sup>	2,6 (0,5–8,6) <sup>+</sup>	1,3 (0,5–3,5) <sup>+</sup>
	*09	0,1 (0–0,7) <sup>+</sup>	1,5 (0–5,0) <sup>+</sup>	2,4 (0–8,6) <sup>+</sup>	1,5 (0,7–5,0) <sup>+</sup>
	*10	0 (0–0,5) <sup>+</sup>	2,0 (0–7,2) <sup>+</sup>	2,8 (0–11,8) <sup>+</sup>	1,4 (0,5–3,6) <sup>+</sup>
	*11	0,2 (0–0,8)	1,5 (0–7,2) <sup>+</sup>	2,3 (0,2–10,1) <sup>+</sup>	1,2 (0,7–3,0) <sup>+</sup>
	*12	0,4 (0–1,7) <sup>+</sup>	1,0 (0–5,0) <sup>+</sup>	1,9 (0–8,0)	1,5 (0,6–4,9) <sup>+</sup>
	*13	0,2 (0–1,7)	1,8 (0–6,4) <sup>+</sup>	2,0 (0–8,6) <sup>+</sup>	1,2 (0–3,7) <sup>+</sup>
	*14	0,1 (0–1,7)	1,4 (0–6,5) <sup>+</sup>	2,0 (0–7,8) <sup>+</sup>	1,3 (0,2–4,9) <sup>+</sup>
	*15	0,3 (0–1,7) <sup>+</sup>	1,0 (0–6,5) <sup>+</sup>	1,4 (0–7,5) <sup>+</sup>	1,3 (0,3–5,9) <sup>+</sup>
	*16	0 (0–0,6) <sup>+</sup>	0,5 (0–1,3) <sup>+</sup>	1,5 (0,3–4,5) <sup>+</sup>	2,8 (1,3–10,0) <sup>+</sup>
<i>DQA1</i>	*01:01	0,2 (0–2,2)	1,6 (0–6,5)	2,5 (0–9,0) <sup>+</sup>	1,4 (0,3–4,4) <sup>+</sup>
	*01:02	0,3 (0–1,7)	1,1 (0–7,0)	1,6 (0–9,0) <sup>+</sup>	1,2 (0–5,1) <sup>+</sup>
	*01:03	0,1 (0–0,8)	1,8 (0–6,4)	2,4 (0–7,4) <sup>+</sup>	1,3 (0,3–4,0)
	*02:01	0,2 (0–0,9)	1,4 (0–6,5)	2,0 (0–9,0) <sup>+</sup>	1,3 (0,7–3,9)
	*03:01	0,1 (0–1,7)	1,4 (0–7,8)	2,1 (0–8,9) <sup>+</sup>	1,5 (0,7–4,5) <sup>+</sup>
	*04:01	0,5 (0–1,2)	1,2 (0–6,4)	1,8 (0–6,0) <sup>+</sup>	1,2 (0,2–3,0) <sup>+</sup>
	*05:01	0,2 (0–1,7)	1,4 (0–6,7)	2,3 (0–8,6) <sup>+</sup>	1,3 (0,5–3,7) <sup>+</sup>
	*06:01	0 (0–0,8)	2,3 (0–9,8)	3,5 (1,1–12,0) <sup>+</sup>	1,5 (1,0–11,0) <sup>+</sup>
<i>DQB1</i>	*02	0,2 (0–1,3)	1,5 (0–7,8) <sup>+</sup>	2,6 (0–10,4) <sup>+</sup>	1,3 (0,7–3,9) <sup>+</sup>
	*03:01	0,2 (0–1,7)	1,4 (0–6,5) <sup>+</sup>	2,3 (0–8,3) <sup>+</sup>	1,4 (0,6–4,0) <sup>+</sup>
	*03:02	0,2 (0–2,4)	1,5 (0–8,6) <sup>+</sup>	2,4 (0,2–10,6) <sup>+</sup>	1,4 (0,8–4,0) <sup>+</sup>
	*03:03	0,1 (0–0,7)	1,2 (0–5,0)	2,0 (0–8,6) <sup>+</sup>	1,4 (0,7–5,0) <sup>+</sup>
	*03:05	0 (0–0)	0,8 (0–6,5)	1,0 (0–5,0)	0,8 (0–2,1) <sup>+</sup>
	*04:01/*04:02	0,3 (0–0,9)	1,0 (0–5,0) <sup>+</sup>	1,8 (0–6,5) <sup>+</sup>	1,5 (0,2–8,0)
	*05:01	0,2 (0–2,8)	1,4 (0–6,5) <sup>+</sup>	2,5 (0–8,0) <sup>+</sup>	1,4 (0,6–3,9) <sup>+</sup>
	*05:02/*05:04	0,2 (0–0,7)	1,0 (0–5,0) <sup>+</sup>	1,7 (0–6,0) <sup>+</sup>	1,3 (0–5,4)
	*05:03	0,6 (0–2,4)	1,4 (0–8,6)	2,4 (0–12,4) <sup>+</sup>	1,4 (0,7–5,0) <sup>+</sup>
	*06:01	0,1 (0–1,6)	1,3 (0–6,0)	1,9 (0–6,5) <sup>+</sup>	1,3 (0,8–6,0) <sup>+</sup>
	*06:02–8	0,2 (0–1,7)	1,6 (0–7,0) <sup>+</sup>	2,0 (0–9,0) <sup>+</sup>	1,2 (0–4,3) <sup>+</sup>

Примечание: <sup>+</sup> $p < 0,05$  по сравнению с остальными аллелями

У добровольцев с разными аллельными группами генов HLA-II были также выявлены статистически значимые различия по всем сравниваемым показателям IFN- $\gamma$  ( $p < 0,05$ ). Тем не менее по совокупности сравниваемых показателей

продукции IFN- $\gamma$  следует выделить аллельные группы \*04, \*08, \*14 и \*15 по локусу *DRB1* (Таблица 10), аллельные группы \*02:01 и \*03:01 – *DQA1* и \*02, \*03:01, \*03:02 и \*06:02-8 – *DQB1* как потенциально значимые для регуляции секреции этого цитокина клетками крови вакцинированных и ревакцинированных ВЧЖ людей.

Таблица 10 – Межгрупповые различия в содержании IFN- $\gamma$  у добровольцев с разными аллелями HLA-II (Me (Q25%–Q75%))

Локус	Аллельные группы	IFN- $\gamma$ в сыворотке крови, пг/мл	СП IFN- $\gamma$ , пг/мл	ИП IFN- $\gamma$ , пг/мл	ИС IFN- $\gamma$ , усл. ед.
<i>DRB1</i>	*01	0 (0–1,7)	16,5 (1,0–243,0) <sup>+</sup>	142,5 (11,0–540,0)	5,4 (1,0–43,3) <sup>+</sup>
	*03	0 (0–5,0)	12,0 (2,0–160,0) <sup>+</sup>	130,0 (12,0–791,0)	6,4 (1,1–35,5) <sup>+</sup>
	*04	0 (0–1,7) <sup>+</sup>	10,5 (0,9–240,0) <sup>+</sup>	85,9 (6,6–520,0)	4,0 (1–41,9) <sup>+</sup>
	*07	0 (0–5,0)	18,2 (1,4–180,0) <sup>+</sup>	140,0 (12,2–660,0)	5,3 (1,0–43,4) <sup>+</sup>
	*08	0 (0–4,0) <sup>+</sup>	7,0 (0,8–140,0) <sup>+</sup>	103,5 (12,0–680,0)	8,2 (1,3–77,8) <sup>+</sup>
	*09	0 (0–6,2)	18,0 (1,0–260,0) <sup>+</sup>	148,5 (6,6–700,0)	5,0 (1,0–39,6) <sup>+</sup>
	*10	0 (0–0,9)	15,0 (0,9–260,0) <sup>+</sup>	120,0 (13,9–2060,0)	6,5 (1,0–62,1) <sup>+</sup>
	*11	0 (0–1,7)	19,0 (0,9–200,0) <sup>+</sup>	110,0 (15,0–614,3)	5,1 (1,0–29,2) <sup>+</sup>
	*12	0,3 (0–6,0) <sup>+</sup>	11,2 (0,9–260,0)	130,0 (6,0–459,4)	4,1 (1,0–35,2) <sup>+</sup>
	*13	0,1 (0–1,5)	25,0 (0,9–280,0) <sup>+</sup>	110,0 (6,6–638,0)	3,3 (1,0–18,0) <sup>+</sup>
	*14	0 (0–1,7) <sup>+</sup>	19,0 (0,9–270,0) <sup>+</sup>	105,0 (6,0–700,0)	4,0 (1,0–22,9) <sup>+</sup>
	*15	0 (0–0,8) <sup>+</sup>	20,0 (0,9–300,0) <sup>+</sup>	160,0 (6,0–800,0)	3,8 (1,0–31,0) <sup>+</sup>
	*16	0,2 (0–1,7)	13,0 (1,6–180,0) <sup>+</sup>	129,0 (33,5–550,0)	8,9 (1,0–67,8) <sup>+</sup>
<i>DQA1</i>	*01:01	0 (0–1,7) <sup>+</sup>	20,0 (0,9–260,0)	120,0 (10,0–800,0) <sup>+</sup>	4,0 (1,0–43,0)
	*01:02	0,1 (0–1,5)	20,0 (0,9–280,0)	118,0 (6,0–712,0) <sup>+</sup>	4,0 (1,0–29,9)
	*01:03	0 (0–1,7)	30,4 (0,9–280,0) <sup>+</sup>	160,0 (7,0–640,0)	3,3 (1,0–29,2) <sup>+</sup>
	*02:01	0 (0–5,0) <sup>+</sup>	17,2 (1,2–220,0) <sup>+</sup>	140,0 (12,2–660,0) <sup>+</sup>	5,3 (1,1–43,4) <sup>+</sup>
	*03:01	0 (0–1,7) <sup>+</sup>	12,0 (0,9–240,0) <sup>+</sup>	105,0 (6,6–520,0) <sup>+</sup>	4,6 (1,0–35,5) <sup>+</sup>
	*04:01	0 (0–5,0)	11,0 (0–260,0)	93,6 (5,6–515,0) <sup>+</sup>	3,6 (1,0–23,8)
	*05:01	0,1 (0–2,4)	14,0 (1,0–200,0) <sup>+</sup>	118,5 (7,0–660,0)	5,0 (1,0–33,2) <sup>+</sup>
*06:01	1,7 (0–1,7)	60,0 (0,9–340,0) <sup>+</sup>	300,0 (33,5–957,7) <sup>+</sup>	5,0 (1,1–41,9)	
<i>DQB1</i>	*02	0 (0–5,0) <sup>+</sup>	14,0 (1,5–190,0) <sup>+</sup>	140,0 (12,2–695,0) <sup>+</sup>	6,0 (1,1–40,4) <sup>+</sup>
	*03:01	0,1 (0–1,7) <sup>+</sup>	14,0 (0,9–200,0) <sup>+</sup>	103,8 (10,0–665,7) <sup>+</sup>	5,2 (1,0–37,8) <sup>+</sup>
	*03:02	0 (0–1,7) <sup>+</sup>	10,0 (0,9–240,0) <sup>+</sup>	81,5 (6,6–400,0) <sup>+</sup>	4,5 (1,0–34,0) <sup>+</sup>
	*03:03	0 (0–5,7)	19,0 (1,0–280,0) <sup>+</sup>	160,0 (6,6–791,0) <sup>+</sup>	4,8 (1,0–34,0)
	*03:04	0 (0–0)	20,0 (20,0–20,0)	20,0 (20,0–20,0)	1,0 (1,0–1,0)
	*03:05	0 (0–0,3)	140,0 (3,0–340,0) <sup>+</sup>	240,0 (26,0–900,0) <sup>+</sup>	2,3 (1,0–8,7) <sup>+</sup>
	*04:01/*04:02	0 (0–5,0)	6,0 (0,8–240,0) <sup>+</sup>	60,0 (5,6–360,0) <sup>+</sup>	3,3 (1,0–34,4) <sup>+</sup>
	*05:01	0 (0–1,7)	17,5 (0,9–243,0) <sup>+</sup>	107,0 (8,0–800,0)	4,6 (1,0–44,2)
	*05:02/*05:04	0 (0–5,4)	66,0 (3,2–280,0) <sup>+</sup>	240,0 (7,0–700,0) <sup>+</sup>	3,3 (0,9–24,4) <sup>+</sup>
	*05:03	0 (0–0,3) <sup>+</sup>	12,0 (0,4–280,0) <sup>+</sup>	97,0 (12,0–721,4)	5,0 (1,0–36,0) <sup>+</sup>
	*06:01	0 (0–0,8)	20,0 (1,1–270,0) <sup>+</sup>	144,5 (7,0–817,0) <sup>+</sup>	4,0 (1,0–44,2)
*06:02-8	0 (0–1,5) <sup>+</sup>	20,7 (0,9–280,0) <sup>+</sup>	130,0 (6,0–660,2) <sup>+</sup>	3,6 (1,0–27,3) <sup>+</sup>	

Примечание: <sup>+</sup> $p < 0,05$  по сравнению с остальными аллелями

В таблице 11 приведены данные сравнительного анализа соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 в сыворотке крови, а также в СП и ИП культур клеток крови вакцинированных ВЧЖ добровольцев с разными аллельными группами генов HLA-DRB1, HLA-DQA1 и HLA-DQB1, как одного из косвенных показателей направленности иммунного ответа с преобладанием гуморальных или клеточных факторов.

В сыворотке крови добровольцев, вакцинированных против чумы, достоверные различия были установлены в случае аллельной группы *DRB1\*04* в сравнение *\*12* и *\*13*, а *\*12* с *\*11* ( $p < 0,05$ ); однако, выявить величину разницы не представляется возможным.

При исследовании спонтанных проб статистически значимые различия установлены у группы *DRB1\*08* с *\*01*, *\*04*, *\*07*, *\*11*, *\*12*, *\*13*, *\*14* и *\*15*, значение медианы в которой были ниже в 1,7-3,7 раза в сравнении с последними. Также были отмечены различия в группах *\*13* и *\*15* с *\*03*, *\*04*, *\*07*, *\*09* и *\*03*, *\*07* соответственно, величины соотношения в которых были выше в 2,1-2,9 и 1,7-2,2 раза ( $p < 0,05$ ).

Среди добровольцев с разными аллельными группами статистически значимые различия соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 в индуцированных пробах были выявлены в группах обследованных с HLA-DRB1 *\*04* и *\*16* (разница – в 2,3 раза,  $p < 0,05$ ).

По обнаруженным выше статистическим различиям показателей между разными аллельными группами гена HLA-DRB1 можно сделать предположение, что наличие аллелей *\*04*, *\*11*, *\*12* и *\*13* может иметь важное значение на тип направленности иммунных реакций при формировании поствакцинального иммунитета против чумы.

Установлены достоверные различия в сыворотке крови вакцинированных ВЧЖ людей в группах HLA-DQA1 *\*01:02* и *\*03:01*, однако из-за низких значений показателя величину разницы оценить не удаётся (Таблица 11).

Таблица 11 – Межгрупповые различия в соотношении IFN- $\gamma$ /IL-4 у добровольцев с разными аллелями HLA-II (Me (Q25%–Q75%))

Локус	Аллельные группы	Показатели		
		IFN- $\gamma$ /IL-4 в сыворотке крови, усл.ед.	IFN- $\gamma$ /IL-4 СП, усл.ед.	IFN- $\gamma$ /IL-4 ИП, усл.ед.
<i>DRB1</i>	*01	0 (0-0,7)	9,7 (0,3-94,4) <sup>+</sup>	38,7 (4,0-214,1)
	*03	0,1 (0-1,6)	5,9 (0,9-76,9) <sup>+</sup>	38,0 (3,7-271,1)
	*04	0 (0-1,3) <sup>+</sup>	8,0 (0,7-76,9) <sup>+</sup>	26,0 (3,5-200,0) <sup>+</sup>
	*07	0 (0-5,6)	8,0 (0,6-60,0) <sup>+</sup>	34,1 (5,5-230,8)
	*08	0 (0-4,0)	4,6 (0,2-60,0) <sup>+</sup>	32,8 (3,0-238,5)
	*09	0 (0-57,0)	7,8 (0,2-100,0) <sup>+</sup>	43,9 (2,2-282,5)
	*10	0 (0-4,5)	8,4 (0,7-107,7)	69,4 (3,2-543,2)
	*11	0 (0-0,9) <sup>+</sup>	9,3 (0,4-76,9) <sup>+</sup>	40,0 (7,3-230,8)
	*12	0,8 (0-30,0) <sup>+</sup>	11,9 (0,8-100,0) <sup>+</sup>	42,5 (8,9-150,0)
	*13	0,2 (0-7,5) <sup>+</sup>	16,9 (0,6-133,3) <sup>+</sup>	31,4 (3,0-313,9)
	*14	0,2 (0-10,6)	10,0 (0,7-122,2) <sup>+</sup>	37,0 (2,9-235,0)
	*15	0 (0-2,5)	13,2 (0-200,0) <sup>+</sup>	43,3 (3,0-475,0)
	*16	0,3 (0,3-0,3)	9,0 (4,4-47,0)	59,0 (11,8-830,0) <sup>+</sup>
<i>DQA1</i>	*01:01	0 (0-4,5)	9,0 (0,4-107,7) <sup>+</sup>	34,0 (2,8-269,2)
	*01:02	0,1 (0-4,5) <sup>+</sup>	10,4 (0,2-138,5)	31,4 (1,6-357,8)
	*01:03	0 (0-2,1) <sup>+</sup>	18,8 (0,4-133,3) <sup>+</sup>	40,0 (3,3-400,0)
	*02:01	0 (0-5,6)	8,0 (0,5-60,0) <sup>+</sup>	36,0 (6,0-245,3)
	*03:01	0 (0-3,5) <sup>+</sup>	6,7 (0,5-76,9) <sup>+</sup>	32,5 (3,5-235,0) <sup>+</sup>
	*04:01	0 (0-4,8)	5,7 (0-100,0) <sup>+</sup>	43,0 (0,6-238,5)
	*05:01	0,2 (0-5,6)	8,3 (0,7-80,0) <sup>+</sup>	39,0 (4,2-243,8)
	*06:01	2,1 (2,1-2,1)	12,2 (3,5-200,0) <sup>+</sup>	63,6 (12,2-388,4) <sup>+</sup>
<i>DQB1</i>	*02	0 (0-5,6) <sup>+</sup>	6,5 (0,6-63,0) <sup>+</sup>	36,3 (4,3-269,8) <sup>+</sup>
	*03:01	0,1 (0-4,5) <sup>+</sup>	9,1 (0,7-76,9) <sup>+</sup>	40,0 (5,7-230,8) <sup>+</sup>
	*03:02	0 (0-0) <sup>+</sup>	5,2 (0,6-65,0) <sup>+</sup>	25,6 (3,3-135,6) <sup>+</sup>
	*03:03	0 (0-13,0) <sup>+</sup>	8,6 (0,2-100,0) <sup>+</sup>	45,7 (1,7-297,4) <sup>+</sup>
	*03:05	0 (0-0,4)	60,9 (3,8-425,0) <sup>+</sup>	52,3 (19,0-500,0)
	*04:01/*04:02	0 (0-5,6) <sup>+</sup>	7,7 (0-93,3) <sup>+</sup>	22,9 (0,6-238,5)
	*05:01	0 (0-0,8) <sup>+</sup>	7,8 (0,4-100,0) <sup>+</sup>	28,3 (2,6-344,00)
	*05:02/*05:04	0,3 (0-54,0) <sup>+</sup>	21,6 (1,1-140,0) <sup>+</sup>	72,7 (2,9-400,0) <sup>+</sup>
	*05:03	0 (0-0,4) <sup>+</sup>	7,0 (0,4-76,9)	30,9 (3,0-208,3)
	*06:01	0,2 (0-1,6) <sup>+</sup>	17,2 (0,9-93,3) <sup>+</sup>	49,1 (4,0-425,3) <sup>+</sup>
*06:02-8	0,1 (0-4,5) <sup>+</sup>	14,3 (0,2-140,0) <sup>+</sup>	31,4 (2,0-340,0) <sup>+</sup>	

Примечание: <sup>+</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению с остальными аллелями

Достоверные различия были также обнаружены у группы *DQA1\*01:03* при сравнении с группами *\*01:01*, *\*02:01*, *\*03:01*, *\*04:01* и *\*05:01*, величина показателя у которой была в 1,5-3,2 раза, чем у последних; а у *DQA1\*03:01* медиана соотношения была статистически значимо ниже в 1,2 и 1,8 раза, чем в группах *\*05:01* и *\*06:01* соответственно ( $p < 0,05$ ).

Также установлено значимое различие по величинам соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 в ИП между группами *DQA1\*03:01* и *\*06:01* (примерно в 2 раза,  $p < 0,05$ ).

По совокупности различий при оценке соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 можно сделать заключение, что аллели группы *DQA1\*03:01* и *\*06:01* могут оказывать значимое влияние на направленность иммунных реакций при формировании поствакцинального иммунитета против чумы.

Отмечены статистически значимые различия соотношения в сыворотке крови добровольцев в группе *DQB1\*03:01* в сравнении с *\*05:03* (Таблица 11), а также у группы *\*03:02* в отношении группами *\*02*, *\*03:01*, *\*03:03*, *\*04:01/\*04:02*, *\*05:01*, *\*05:02/\*05:04*, *\*06:01* и *\*06:02-8* ( $p < 0,05$ ).

По величине соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 в спонтанных пробах культуры клеток крови достоверные различия установлены в группах: *DQB1\*02* с *\*05:02/\*05:04*, *\*06:01* и *\*06:02-8*; *DQB1\*03:01* с *\*05:02/\*05:04*; *DQB1\*03:02* с *\*02*, *\*03:01*, *\*03:05*, *\*05:02/\*05:04*, *\*06:01* и *\*06:02-8*; *DQB1\*03:03* с *\*02*, *\*03:01*, *\*03:05* и *\*05:02/\*05:04*; *DQB1\*03:05* с *\*02*, *\*03:01*, *\*04:01/\*04:02* и *\*05:03*; *DQB1\*05:01* с *\*03:05*, *\*05:02/\*05:04* и *\*06:02-8* (Таблица 11).

Статистически значимые различия были выявлены при сравнении соотношения у группы *DQB1\*03:02* с группами *\*02*, *\*03:01*, *\*03:03*, *\*05:02/\*05:04*, *\*06:01* и *\*06:02-8* (Таблица 11), при этом величина соотношения была в 1,2-2,8 раза меньше в сравнении с последними ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, можно предположить, что аллельные группы *\*02*, *\*03:01*, *\*03:02*, *\*03:03*, *\*05:02/\*05:04*, *\*06:01*, *\*06:02-8* гена HLA-DQB1 главного комплекса гистосовместимости человека могут иметь значимые взаимосвязи с

направленностью иммунного ответа при вакцинации/ревакцинации людей против чумы по преимущественно по клеточному типу.

В таблице 14 представлены результаты межгрупповых различий добровольцев, вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ, с разными аллельными группами генов HLA II класса по показателям продукции TNF- $\alpha$  в сыворотке крови, СП и ИП, а также ИС.

По уровню сывороточного TNF- $\alpha$  статистически значимые различия были отмечены только по локусу *DQB1* ( $p < 0,05$ ). При этом у всех групп медианные значения показателя не выходили за пределы физиологической нормы (0-6 пг/мл), тем не менее генетическая детерминированность уровня сывороточного TNF- $\alpha$  выражена слабо.

Низкие значения медианы СП TNF- $\alpha$  клетками крови выявлены у носителей аллелей *DRB1*\*04, \*09, \*14, \*16 и *DQB1*\*03:02, \*03:03 и \*05:02/\*05:04, высокие – в группах *DRB1*\*01, \*03, \*13 и *DQA1*\*01:03.

Повышенный уровень TNF- $\alpha$  в ИП установлен у добровольцев с аллельными группами *DRB1*\*16, *DQA1*\*06:01, \*01:01 и *DQB1*\*06:01, \*04:01/\*04:02, сниженный – *DQB1*\*05:02/\*05:04.

Наибольшая медиана ИС TNF- $\alpha$  выявлена у *DRB1*\*16, что свидетельствует о чувствительности клеток к антигенному стимулу и их высоком потенциале. В то время как низкий уровень ИС регистрировался среди *DRB1*\*13, \*14, *DQA1*\*01:03, *DQB1*\*03:03 и \*06:02-8, клетки которых вероятно были активированы, и отмечался относительный прирост индекса (Таблица 12).

Таблица 12 – Межгрупповые различия в содержании TNF- $\alpha$  у добровольцев с разными аллелями HLA-II (Me (Q25%–Q75%))

Локус	Аллельные группы	Показатели			
		TNF- $\alpha$ в сыворотке крови, пг/мл	TNF- $\alpha$ СП, пг/мл	TNF- $\alpha$ ИП, пг/мл	ИС TNF- $\alpha$ , у.е.
<i>DRB1</i>	*01	2,0 (0,1-5,5)	139,4 (9,5-480,0)	316,5 (60,0-1000,0)	2,1 (0,8-22,4)
	*03	1,6 (0,1-3,4)	133,5 (6,3-518,8)	300,0 (60,0-960,0)	2,2 (1,0-27,0) <sup>+</sup>
	*04	1,8 (0,1-3,2)	99,0 (6,3-556,4) <sup>+</sup>	300,0 (60,0-880,0)	2,1 (0,9-31,4) <sup>+</sup>
	*07	1,6 (0,1-3,2)	118,0 (6,0-601,4)	288,0 (60,0-980,0)	2,2 (0,9-23,5) <sup>+</sup>
	*08	1,5 (0,1-3,2)	121,4 (6,3-540,0)	320,0 (60,0-920,0)	2,1 (0,9-25,6)
	*09	1,6 (0,1-3,4)	100,0 (9,0-570,0)	250,0 (60,0-820,0)	1,7 (0,9-23,4)
	*10	2,5 (0,1-4,9)	130,0 (9,0-540,0) <sup>+</sup>	283,0 (60,0-1042,9)	2,0 (0,9-26,6)
	*11	1,9 (0,1-3,3)	122,0 (7,2-400,0) <sup>+</sup>	265,0 (60,0-800,0)	2,1 (1,0-23,7)
	*12	2,4 (0,1-5,0)	100,0 (6,0-480,0)	300,0 (77,0-915,7)	2,3 (0,9-34,0) <sup>+</sup>
	*13	2,3 (0,1-4,0)	140,0 (9,0-500,0) <sup>+</sup>	271,0 (60,0-960,0)	1,7 (0,9-15,8) <sup>+</sup>
	*14	2,2 (0,1-5,0)	100,0 (9,0-520,0)	250,0 (60,0-940,0)	1,8 (0,9-24,6) <sup>+</sup>
	*15	2,5 (0,1-5,2)	100,0 (9,0-570,0)	350,0 (60,0-1060,0)	2,0 (1,0-26,0) <sup>+</sup>
	*16	2,1 (0,1-2,7)	61,0 (9,5-918,2) <sup>+</sup>	217,5 (106,0-2031,0)	4,1 (1,7-22,3) <sup>+</sup>
<i>DQA1</i>	*01:01	2,4 (0,1-5,5)	105,0 (9,0-475,8)	245,0 (60,0-930,0) <sup>+</sup>	1,9 (0,9-21,1)
	*01:02	2,4 (0,1-4,0)	120,0 (9,0-530,0)	299,0 (57,0-960,0)	2,0 (1,0-20,5)
	*01:03	1,6 (0,1-3,7)	138,0 (9,5-570,0) <sup>+</sup>	306,0 (60,0-1060,0)	1,8 (0,9-26,1) <sup>+</sup>
	*02:01	1,6 (0,1-3,2)	127,0 (8,0-601,4)	296,0 (60,0-1000,0) <sup>+</sup>	2,2 (0,9-23,7)
	*03:01	1,6 (0,1-3,4)	100,0 (8,0-570,0) <sup>+</sup>	290,0 (60,0-860,0)	2,0 (0,9-26,1)
	*04:01	1,6 (0,1-3,2)	103,0 (17,0-379,0)	290,0 (86,0-860,0)	2,1 (0,7-26,0)
	*05:01	1,9 (0,1-3,7)	121,5 (6,7-524,5)	300,0 (60,0-920,0) <sup>+</sup>	2,1 (0,9-27,0) <sup>+</sup>
*06:01	0,1 (0,1-3,2)	130,0 (9,0-1270,0)	401,0 (60,0-860,0)	1,6 (1,0-44,6)	
<i>DQB1</i>	*02	1,6 (0,1-3,2) <sup>+</sup>	118,0 (7,2-552,4)	300,0 (60,0-950,0) <sup>+</sup>	2,3 (0,9-26,1) <sup>+</sup>
	*03:01	2,1 (0,1-4,0) <sup>+</sup>	121,0 (9,0-553,6)	302,5 (60,0-940,0) <sup>+</sup>	2,0 (0,9-29,3)
	*03:02	1,6 (0,1-3,2) <sup>+</sup>	95,0 (5,0-530,0) <sup>+</sup>	300,0 (52,0-715,0) <sup>+</sup>	2,1 (0,8-30,0)
	*03:03	1,7 (0,1-3,4) <sup>+</sup>	100,0 (6,5-556,4) <sup>+</sup>	246,0 (60,0-860,0) <sup>+</sup>	1,8 (1,0-24,2)
	*03:05	1,6 (0,1-3,2)	100,0 (27,0-240,0)	280,0 (60,0-860,0)	2,1 (1-31,9)
	*04:01/*04:02	1,6 (0,1-3,2) <sup>+</sup>	125,1 (12,0-540,0)	305,0 (80,0-1253,0) <sup>+</sup>	2,1 (0,8-23,5)
	*05:01	2,3 (0,1-7,4) <sup>+</sup>	121,0 (9,0-500,0)	254,0 (60,0-1000,0) <sup>+</sup>	2,1 (0,9-23,5)
	*05:02/*05:04	1,6 (0,1-3,3) <sup>+</sup>	100,0 (13,0-456,4)	140,0 (64,0-770,0) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-20,2)
	*05:03	2,6 (0,8-4,1)	133,0 (4,0-540,0)	250,0 (36,0-1050,0)	1,7 (1,0-21,1)
	*06:01	3,0 (0,1-5,2)	100,0 (9,0-595,0)	400,0 (89,5-1330,0) <sup>+</sup>	2,2 (0,9-40,3) <sup>+</sup>
*06:02-8	2,2 (0,1-4,0) <sup>+</sup>	140,0 (9,0-520,4) <sup>+</sup>	294,5 (60,0-940,0) <sup>+</sup>	1,8 (1,0-19,2) <sup>+</sup>	

Примечание: + –  $p < 0,05$  по сравнению показателя у остальных аллельных групп

Таким образом, минорная аллель *DRB1\*16* (11 человек) можно рассматривать как предиктор высокой реактивности, который характеризуется минимальной СП, а, следовательно, отсутствием хронического провоспалительного фона, и максимально высокие ИП и ИС, что может свидетельствовать о способности формировать эффекторный иммунитет после вакцинации/ревакцинации. Аллели с низким ИС (*DRB1\*13* и *\*14*; *DQB1\*03:03* и *\*06:02-8*) указывают на то, что их носители могут иметь уже частично активированные клетки и, соответственно менее эффективный клеточный ответ на вакцину. Добровольцы с аллелью *DQB1\*06:01* имеют повышенный сывороточный TNF- $\alpha$  и высокий ИП, что ассоциируется с более выраженными поствакцинальными реакциями. У большинства носителей аллелей (*DRB1\*01*, *\*03*, *\*04*, *DQA1\*01:02*, *DQB1\*02* и *\*03:01*) сходны медианные значения всех четырёх показателей и их влияние на вариативность иммунного ответа минимально.

В таблице 15 представлены результаты сравнительного анализа продукции основных классов иммуноглобулинов (Е, М, G и А), а также титра специфических антител к капсульному антигену F1 *Y. pestis* у вакцинированных ВЧЖ волонтеров с разными аллелями генов HLA-II. Статистический анализ выявил достоверные ( $p < 0,05$ ) межгрупповые различия в концентрациях всех исследованных классов иммуноглобулинов и в титре IgG к F1-антигену *Y. pestis* у носителей отдельных аллелей HLA-II.

По показателю IgE значимые отличия зафиксированы у 30 из 33 исследуемых аллельных вариантов ( $p < 0,05$ ). Максимальные медианные уровни определены в группах добровольцев с *DQB1\*03:05* (45 МЕ/мл), *DQA1\*01:03* (24 МЕ/мл), *DRB1\*13* (23 МЕ/мл), *DRB1\*14* (21 МЕ/мл), *DRB1\*12* (21 МЕ/мл) и *DQB1\*06:02-8* (24 МЕ/мл), что указывает на возможную связь перечисленных аллелей с более выраженной Th2-опосредованной (атопической) иммунной реакцией на фоне ВЧЖ (Таблица 13).

Таблица 13 – Межгрупповые различия в содержании иммуноглобулинов у добровольцев с разными аллелями HLA-II (Me (Q25%–Q75%))

Локус	Аллельные группы	Показатели				
		IgE, МЕ/мл	IgM, мг/мл	IgG, мг/мл	IgA, мг/мл	Титр IgG к F1 антигену <i>Y. pestis</i>
Референсные значения		<100	0,4-2,3	7-16	0,7-4	>1:80
DRB1	*01	15,0 (2,0-152,6) <sup>+</sup>	1,9 (0,6-3,5) <sup>+</sup>	12,7 (5,0-26,8) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-4,9) <sup>+</sup>	1:101 (0-1:320)
	*03	12,5 (2,0-79,0) <sup>+</sup>	1,5 (0,6-3,4) <sup>+</sup>	12,5 (4,4-26,0) <sup>+</sup>	1,6 (0,7-3,4) <sup>+</sup>	1:80 (0-1:320)
	*04	11,0 (0,1-100,0) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-4,1) <sup>+</sup>	14,0 (4,7-27,0) <sup>+</sup>	2,1 (0,8-4,9) <sup>+</sup>	1:142 (0-1:320)
	*07	15,0 (2,0-122,5) <sup>+</sup>	1,8 (0,5-3,3) <sup>+</sup>	12,8 (5,7-23,1) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-3,8) <sup>+</sup>	1:135 (0-1:320) <sup>+</sup>
	*08	15,5 (2,0-235,0) <sup>+</sup>	1,8 (0,6-4,0) <sup>+</sup>	10,7 (4,3-25,8) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-4,5) <sup>+</sup>	1:125 (0-1:320) <sup>+</sup>
	*09	10,0 (0,7-50,0) <sup>+</sup>	1,5 (0,5-4,5) <sup>+</sup>	13,6 (5,6-29,4) <sup>+</sup>	2,1 (0,9-4,9) <sup>+</sup>	1:188 (0-1:640) <sup>+</sup>
	*10	10,6 (0,4-70,0) <sup>+</sup>	1,3 (0,4-2,8) <sup>+</sup>	9,4 (4,2-19,0) <sup>+</sup>	1,6 (0,6-3,7) <sup>+</sup>	1:138 (0-1:320)
	*11	20,0 (3,0-110,0) <sup>+</sup>	1,5 (0,5-3,2) <sup>+</sup>	12,9 (5,0-26,2) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-4,5)	1:149 (0-1:320)
	*12	21,0 (1,8-315,0) <sup>+</sup>	1,5 (0,5-2,9) <sup>+</sup>	10,4 (4,0-24,2) <sup>+</sup>	2,2 (0,7-4,7) <sup>+</sup>	1:133 (0-1:320)
	*13	23,0 (1,0-196,0) <sup>+</sup>	1,8 (0,7-3,9) <sup>+</sup>	11,0 (4,8-26,8) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-4,5) <sup>+</sup>	1:163 (0-1:320) <sup>+</sup>
	*14	21,0 (2,0-190,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,6-3,7) <sup>+</sup>	14,0 (4,4-28,8) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-4,4) <sup>+</sup>	1:169 (0-1:320) <sup>+</sup>
	*15	17,5 (0-170,0) <sup>+</sup>	1,6 (0,6-3,3) <sup>+</sup>	12,7 (5-27,5) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-4,3) <sup>+</sup>	1:162 (0-1:640) <sup>+</sup>
	*16	14,5 (2,0-26,5) <sup>+</sup>	1,7 (0,5-2,8) <sup>+</sup>	8,8 (5,4-17,4)	2,2 (0,5-3,0)	1:160 (0-1:160)
DQA1	*01:01	16,8 (1,5-166,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,6-3,3) <sup>+</sup>	12,3 (4,7-26,2) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-4,2)	1:101 (0-1:320)
	*01:02	19,8 (1,0-147,5) <sup>+</sup>	1,7 (0,7-4,2) <sup>+</sup>	12,0 (4,8-26,8) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-4,4)	1:101 (0-1:640)
	*01:03	24,0 (1,7-380,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,7-3,3) <sup>+</sup>	11,2 (5,0-26,8) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-4,7)	1:80 (0-1:320)
	*02:01	14,0 (1,0-145,0) <sup>+</sup>	1,8 (0,5-3,5) <sup>+</sup>	12,5 (5,6-22,2) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-3,8) <sup>+</sup>	1:80 (0-1:320)
	*03:01	10,0 (0,7-81,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,6-4,1) <sup>+</sup>	14,0 (5,0-27,5) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-4,7)	1:80 (0-1:320)
	*04:01	20,0 (3,0-196,0)	1,8 (0,9-5,0) <sup>+</sup>	8,8 (4,4-16,0) <sup>+</sup>	2,3 (1,1-5,7) <sup>+</sup>	1:101 (0-1:320)
	*05:01	15,0 (1,9-145,0) <sup>+</sup>	1,6 (0,6-3,3) <sup>+</sup>	11,8 (4,4-26,2) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-4,4) <sup>+</sup>	1:80 (0-1:320)
	*06:01	25,0 (1,0-60,0)	0,8 (0,2-2,3) <sup>+</sup>	12,7 (6,3-34,8) <sup>+</sup>	1,4 (0,7-3,8) <sup>+</sup>	1:91 (0-1:320)
DQB1	*02	13,0 (2,0-110,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,6-3,3) <sup>+</sup>	12,7 (5,2-23,2) <sup>+</sup>	1,7 (0,7-3,6) <sup>+</sup>	1:80 (0-1:320) <sup>+</sup>
	*03:01	15,0 (1,0-110,0) <sup>+</sup>	1,6 (0,5-3,5) <sup>+</sup>	12,5 (4,4-27,2) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-4,6) <sup>+</sup>	1:80 (0-1:320) <sup>+</sup>
	*03:02	9,0 (0,6-80,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,6-4,7) <sup>+</sup>	14,0 (5,0-27,0) <sup>+</sup>	1,9 (0,9-4,5)	1:80 (0-1:320) <sup>+</sup>
	*03:03	10,0 (0,7-50,0) <sup>+</sup>	1,4 (0,5-3,5) <sup>+</sup>	12,7 (5,0-28,8) <sup>+</sup>	2,1 (0,9-4,7) <sup>+</sup>	1:101 (0-1:640)
	*03:05	45,0 (8,0-117,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,6-5,6)	11,4 (4,6-18,0)	2,5 (1,1-8,2) <sup>+</sup>	1:101 (1:80-1:320) <sup>+</sup>
	*04:01/*04:02	21,5 (2,9-190,0) <sup>+</sup>	1,8 (0,9-4,1) <sup>+</sup>	9,5 (4,6-21,6) <sup>+</sup>	2,0 (1,1-4,9) <sup>+</sup>	1:101 (0-1:320)
	*05:01	15,0 (1,0-155,0) <sup>+</sup>	1,8 (0,6-3,5)	13,2 (5,0-26,2) <sup>+</sup>	1,9 (0,8-4,6) <sup>+</sup>	1:101 (0-1:320)
	*05:02/*05:04	20,5 (0-84,0)	1,4 (0,6-3,1) <sup>+</sup>	10,2 (4,4-23,4)	1,9 (0,7-3,5) <sup>+</sup>	1:101 (0-1:640)
	*05:03	18,5 (2,4-190,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,5-3,3)	11,9 (4,5-26,4) <sup>+</sup>	2,0 (0,4-4,0)	1:101 (0-1:320)
	*06:01	20,0 (0,5-555,0) <sup>+</sup>	1,8 (0,7-2,9)	11,4 (5,7-28,8)	1,9 (0,8-4,7)	1:80 (0-1:640) <sup>+</sup>
	*06:02-8	24,0 (1,2-192,0) <sup>+</sup>	1,7 (0,7-3,9) <sup>+</sup>	11,6 (4,8-26,8) <sup>+</sup>	1,9 (0,7-4,4) <sup>+</sup>	1:101 (0-1:480) <sup>+</sup>

Примечание: + –  $p < 0,05$  по сравнению показателя у остальных аллельных групп

Достоверные изменения концентрации IgM отмечены по 21 аллельной группе ( $p < 0,05$ ). Минимальное медианное значение (0,8 мг/мл) зарегистрировано у *DQA1\*06:01*, тогда как для большинства остальных аллелей медианные уровни находились в пределах 1,3–1,9 мг/мл, что может отражать относительное ослабление первичного гуморального ответа у носителей *DQA1\*06:01*.

Концентрация IgG значимо различалась в 28 группах аллелей ( $p < 0,05$ ). Наиболее низкие медианы зафиксированы у *DRB1\*16* (8,8 мг/мл), *DQA1\*04:01* (8,8 мг/мл), *DRB1\*10* (9,4 мг/мл) и *DQB1\*04:01/\*04:02* (9,5 мг/мл), что потенциально свидетельствует о менее выраженном вторичном гуморальном ответе у носителей этих аллелей.

Значимые изменения уровня IgA выявлены реже (всего по 26 аллелям) ( $p < 0,05$ ). Наибольший показатель обнаружен у *DQB1\*03:05* (2,5 мг/мл), указывая на возможное усиление гуморального иммунитета при наличии данной аллели.

Повышенные медианные титры зарегистрированы у 15 аллелей. Наиболее высокие значения отмечены в группах *DRB1\*09* (1:188), *\*13* (1:163), *\*14* (1:169) и *DRB1\*15* (1:162). Аллели *DRB1\*07*, *\*08*, *\*09* и *\*12*, а также варианты *DQB1\*02*, *\*03:01*, *\*03:02*, *\*03:03*, *\*03:05* и *\*06:02-8* могут быть ассоциированы с более выраженным поствакцинальным гуморальным иммунитетом.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значимом вкладе аллельного полиморфизма генов HLA-II в варибельность гуморальных показателей у жителей природных очагов чумы Сибири. Наибольшая частота достоверных эффектов по IgE может отражать роль HLA-ассоциированных механизмов презентации аллергенов и антигенов, тогда как ассоциация *DRB1\*09*, *\*13*, *\*14* и *\*15* с повышенным титром специфических IgG указывает на их потенциальную значимость при формировании поствакцинального иммунитета.

Сравнительный анализ медианных значений основных лимфоцитарных субпопуляций показал наличие статистически значимых различий ( $p < 0,05$ ) в группах носители отдельных аллелей HLA-II (Таблица 14).

Таблица 14 – Межгрупповые различия в субпопуляционном составе крови добровольцев с разными аллелями HLA-II (Me (Q25%–Q75%))

Локус	Аллельные группы	Показатели					
		CD3+ лимфоциты, %	CD3+CD4+ лимфоциты, %	CD3+CD8+ лимфоциты, %	ИРИ, у.е.	CD16+ лимфоциты, %	CD19+ лимфоциты, %
Референтные значения		58-76	36-55	17-37	1,2-2,6	6-26	7-17
DRBI	*01	70,7 (50,7-79,4)	39,8 (27,0-48,0) <sup>+</sup>	26,0 (16,7-37,0) <sup>+</sup>	1,4 (0,8-2,5) <sup>+</sup>	13,0 (6,3-29,2)	8,9 (5,1-14,2) <sup>+</sup>
	*03	70,7 (58,4-79,5) <sup>+</sup>	36,0 (25,3-47,3) <sup>+</sup>	30,0 (20,5-40,0) <sup>+</sup>	1,1 (0,6-2,3) <sup>+</sup>	11,9 (3,3-25,1) <sup>+</sup>	10,9 (5,5-17,5) <sup>+</sup>
	*04	71,0 (54,0-79,7) <sup>+</sup>	37,2 (25,9-47,0) <sup>+</sup>	27,8 (19,6-38,3) <sup>+</sup>	1,3 (0,7-2,1) <sup>+</sup>	13,5 (4,2-24,2) <sup>+</sup>	10,0 (5,2-17,0)
	*07	71,0 (57,1-79,0) <sup>+</sup>	36,8 (27,5-47,0) <sup>+</sup>	27,5 (20,2-41,0) <sup>+</sup>	1,3 (0,7-2,1) <sup>+</sup>	13,4 (6,6-23,3) <sup>+</sup>	9,6 (5,5-15,4) <sup>+</sup>
	*08	69,7 (56,0-79,6)	38,0 (28,0-48,1) <sup>+</sup>	27,0 (17,0-37,9) <sup>+</sup>	1,3 (0,8-2,3) <sup>+</sup>	13,5 (3,4-25,9)	10,0 (4,8-13,0) <sup>+</sup>
	*09	67,3 (49,0-76,7) <sup>+</sup>	35,0 (21,4-48,0) <sup>+</sup>	27,4 (16,6-37,0) <sup>+</sup>	1,2 (0,6-2,2) <sup>+</sup>	15,2 (6,5-29,8) <sup>+</sup>	9,9 (5,7-15,2) <sup>+</sup>
	*10	71,2 (58,0-78,0) <sup>+</sup>	38,2 (26,4-50,0) <sup>+</sup>	26,5 (19,9-42,0) <sup>+</sup>	1,4 (0,7-2,4) <sup>+</sup>	12,5 (4,6-24,7) <sup>+</sup>	10,2 (5,3-16,7)
	*11	69,0 (52,0-78,0) <sup>+</sup>	36,0 (26,4-47,0) <sup>+</sup>	26,0 (16,7-39,0) <sup>+</sup>	1,3 (0,7-2,4) <sup>+</sup>	13,1 (6,6-25,1)	11,0 (6,5-18,1) <sup>+</sup>
	*12	67,7 (54,8-77,7) <sup>+</sup>	36,7 (24,7-46,0) <sup>+</sup>	25,2 (18,5-36,9) <sup>+</sup>	1,4 (0,8-2,1) <sup>+</sup>	13,9 (8,2-25,5) <sup>+</sup>	10,6 (5,2-19,1)
	*13	67,2 (52,4-79,0) <sup>+</sup>	35,0 (23,8-46,2) <sup>+</sup>	26,6 (18,7-39,0) <sup>+</sup>	1,3 (0,6-2,1) <sup>+</sup>	15,2 (6,7-28,5) <sup>+</sup>	9,4 (5,3-14,6) <sup>+</sup>
	*14	66,1 (50,7-80,0) <sup>+</sup>	35,2 (24,0-47,0) <sup>+</sup>	26,0 (19,2-38,5) <sup>+</sup>	1,3 (0,7-2,0) <sup>+</sup>	13,9 (4,6-27,2) <sup>+</sup>	9,4 (5,9-19,2)
	*15	69,0 (52,0-77,0) <sup>+</sup>	34,7 (23,0-45,5) <sup>+</sup>	29,3 (16,8-39,4) <sup>+</sup>	1,2 (0,7-2,3) <sup>+</sup>	14,2 (6,5-25,7) <sup>+</sup>	10,1 (6,6-16,4) <sup>+</sup>
	*16	74,2 (69,4-77,7) <sup>+</sup>	43,6 (36,3-50,4) <sup>+</sup>	24,4 (18,8-27,6) <sup>+</sup>	1,7 (1,4-2,7) <sup>+</sup>	12,5 (7,4-17,1) <sup>+</sup>	10,5 (7,7-15,4) <sup>+</sup>
DQAI	*01:01	68,0 (51,8-79,0) <sup>+</sup>	36,2 (25,0-47,2) <sup>+</sup>	25,8 (18,0-38,2) <sup>+</sup>	1,3 (0,7-2,2) <sup>+</sup>	13,7 (4,5-29,4) <sup>+</sup>	9,5 (5,1-18,1)
	*01:02	70,0 (56,2-78,6) <sup>+</sup>	35,4 (24,0-46,1) <sup>+</sup>	29,3 (20,0-39,0) <sup>+</sup>	1,2 (0,7-2,1) <sup>+</sup>	13,7 (6,5-25,1) <sup>+</sup>	9,8 (6,3-15,8)
	*01:03	65,2 (52,0-78,7) <sup>+</sup>	33,9 (23,8-45,8) <sup>+</sup>	25,6 (16,7-39,7)	1,4 (0,6-2,3)	15,7 (7,0-29,3) <sup>+</sup>	9,8 (5,3-14,6) <sup>+</sup>
	*02:01	71,0 (56,3-79,0) <sup>+</sup>	37,0 (27,1-47,0) <sup>+</sup>	27,1 (20,0-40,0)	1,3 (0,7-2,2)	14,1 (6,5-22,8) <sup>+</sup>	9,7 (5,7-15,7)
	*03:01	70,0 (53,9-78,7) <sup>+</sup>	36,8 (25,0-48,0) <sup>+</sup>	27,4 (18,7-37,0)	1,3 (0,7-2,2)	14,0 (5,3-26,0) <sup>+</sup>	10,0 (5,2-16,2)
	*04:01	71,5 (58,4-80,7) <sup>+</sup>	39,0 (26,6-48,1) <sup>+</sup>	27,0 (14,0-40,0)	1,3 (0,6-3,3)	13,4 (7,5-21,0) <sup>+</sup>	10,1 (5,4-15,0)
	*05:01	69,0 (54,0-79,0) <sup>+</sup>	36,0 (26,0-47,0) <sup>+</sup>	27,4 (19,0-39,0)	1,3 (0,7-2,3)	13,5 (5,6-25,8) <sup>+</sup>	10,4 (5,9-17,5) <sup>+</sup>
*06:01	66,0 (36,9-74,1) <sup>+</sup>	31,0 (17,5-44,3) <sup>+</sup>	25,0 (14,8-39,0)	1,2 (0,7-1,8)	14,3 (7,7-46,2) <sup>+</sup>	10,5 (5,6-14,1)	
DQBI	*02	70,7 (57,5-78,7) <sup>+</sup>	36,0 (26,2-47,0) <sup>+</sup>	29,7 (21,0-41,0) <sup>+</sup>	1,2 (0,6-2,1) <sup>+</sup>	13,2 (5,7-23,9) <sup>+</sup>	10,2 (5,2-16,1) <sup>+</sup>
	*03:01	69,0 (53,1-78,1) <sup>+</sup>	36,1 (25,7-47,0) <sup>+</sup>	26,0 (18,0-38,0) <sup>+</sup>	1,3 (0,7-2,2) <sup>+</sup>	13,8 (5,5-26,1) <sup>+</sup>	10,3 (5,9-17,5) <sup>+</sup>
	*03:02	71,0 (59,4-79,4) <sup>+</sup>	38,2 (29,6-48,2) <sup>+</sup>	28,2 (20,0-35,2) <sup>+</sup>	1,3 (0,8-2,1) <sup>+</sup>	10,6 (3,0-23,5) <sup>+</sup>	10,0 (5,2-15,2) <sup>+</sup>
	*03:03	67,3 (51,9-76,3) <sup>+</sup>	35,2 (21,9-48,0) <sup>+</sup>	27,1 (16,5-36,0) <sup>+</sup>	1,2 (0,7-2,4) <sup>+</sup>	15,5 (7,2-29,8) <sup>+</sup>	9,8 (5,8-15,0) <sup>+</sup>
	*03:05	74,6 (58,4-82,2) <sup>+</sup>	33,7 (25,3-43,2) <sup>+</sup>	37,9 (23,4-44,2) <sup>+</sup>	0,9 (0,6-1,6) <sup>+</sup>	8,2 (6,6-12,1) <sup>+</sup>	12,7 (7,7-14,2) <sup>+</sup>
	*04:01/*04:02	71,3 (56,0-81,6) <sup>+</sup>	40,4 (25,9-51,5) <sup>+</sup>	25,3 (15,3-39,7) <sup>+</sup>	1,5 (0,7-2,5) <sup>+</sup>	13,1 (6,3-21,0) <sup>+</sup>	10,5 (5,4-17,0) <sup>+</sup>
	*05:01	69,0 (52,0-79,4) <sup>+</sup>	37,8 (27,0-48,1) <sup>+</sup>	25,1 (18,0-37,2) <sup>+</sup>	1,4 (0,8-2,5) <sup>+</sup>	13,6 (4,9-29,7) <sup>+</sup>	9,3 (5,1-15,7) <sup>+</sup>
	*05:02/*05:04	70,2 (51,5-79,5) <sup>+</sup>	35,9 (22,5-45,8) <sup>+</sup>	25,0 (18,8-40,9) <sup>+</sup>	1,3 (0,6-2,0) <sup>+</sup>	13,9 (6,1-23,5) <sup>+</sup>	9,3 (5,2-17,0) <sup>+</sup>
	*05:03	64,8 (49,2-76,8) <sup>+</sup>	35,5 (23,1-47,0) <sup>+</sup>	25,1 (14,1-36,8) <sup>+</sup>	1,5 (0,8-2,2) <sup>+</sup>	15,1 (2,3-32,5) <sup>+</sup>	12,0 (6,3-20,6) <sup>+</sup>
	*06:01	64,5 (51,9-76,7) <sup>+</sup>	33,0 (21,5-43,0) <sup>+</sup>	26,8 (12,1-39,8) <sup>+</sup>	1,2 (0,6-2,3) <sup>+</sup>	15,8 (8,3-26,3) <sup>+</sup>	9,8 (6,5-16,3)
*06:02-8	68,4 (53,6-78,5) <sup>+</sup>	35,0 (23,9-45,8) <sup>+</sup>	28,0 (19,9-39,0) <sup>+</sup>	1,2 (0,7-2,1) <sup>+</sup>	14,5 (6,5-26,4) <sup>+</sup>	9,6 (5,6-15,1) <sup>+</sup>	

Примечание: + –  $p < 0,05$  по сравнению показателя у остальных аллельных групп

У большинства аллельных вариантов в локусе *DRB1* (\*01, \*03, \*04, \*07, \*09, \*10, \*11, 12\*, \*13, \*14, \*15) выявлены умеренные, однако статистически значимые изменения, заключающиеся в повышении доли CD3<sup>+</sup>-клеток и перераспределении соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> в сторону умеренного преобладания цитотоксического звена, что отражалось в тенденции к снижению ИРИ до 1,1–1,4 у.е. Значимым следует считать аллель *DRB1*\*16, у носителей которой регистрировалась наибольшая доля Т-хелперов (43,6 (36,3–50,4) %) при одновременном снижении цитотоксических Т-лимфоцитов 24,4 (18,8–27,6) % и максимальном среди всех аллелей значении ИРИ (1,7 (1,4–2,7) у.е.).

По локусу *DQA1* наиболее выраженные изменения обнаружены у носителей аллели \*06:01, характеризующихся пониженным содержанием как CD3<sup>+</sup>-клеток, так и их CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-субпопуляции, что сопровождалось снижением ИРИ до 1,2.

В противоположность этому, у добровольцев с аллелью *DQA1*\*04:01 выявлена повышенная доля Т-хелперов, тогда как у остальных вариантов (\*01:01–\*05:01) наблюдается увеличение процента НК-клеток, оставаясь в пределах физиологической нормы.

У добровольцев в локусе *DQB1* с аллельной группой \*03:05: установлено, что медиана CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов достигала 37,9 %, превышая верхнюю границу референса, при этом ИРИ снижался до 0,9 (0,6–1,6), указывая на «цитотоксический» тип иммунного ответа. Аллельная пара \*04:01/\*04:02, напротив, обуславливала «хелперный» сдвиг (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 40,4 % и ИРИ 1,5). Для \*05:03 и \*06:01 отмечено умеренное сокращение общего Т-клеточного пула (содержание CD3<sup>+</sup> примерно 65 %) при одновременном увеличении НК-клеток до 15,1–15,8 %.

Выход медианных значений за пределы референсных интервалов наблюдался только у носителей *DQB1*\*03:05 (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> > 37 %; ИРИ < 1,2), тогда как остальные статистически значимые сдвиги оставались в пределах физиологической нормы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что полиморфизм генов HLA-II обуславливает количественные и качественные особенности Т-клеточного и НК-

клеточного звена иммунитета у людей, вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ. Носители аллели гена *DRB1\*16* формируют профиль, характерный для Th-ориентированного ответа, потенциально благоприятного для формирования гуморального иммунитета. В свою очередь, аллель гена *DQB1\*03:05* ассоциирован с преобладанием цитотоксических Т-клеток и снижением ИРИ, что может обеспечивать повышенную эффективность против внутриклеточных патогенов, к которым относится *Y. pestis*, однако сопряжено с риском более выраженных воспалительных реакций.

Таким образом, из всего спектра проанализированных аллелей генов именно *DRB1\*16* и *DQB1\*03:05* обуславливают отклонения ключевых иммунологических показателей за рамки референсных значений, что позволяет рассматривать их как потенциальные генетические маркёры направленности иммунного ответа в условиях проживания в природных очагах чумы. Тем не менее, несмотря на выявленные статистически значимые различия по данным аллелям, они представлены всего у 1% обследованной группы добровольцев и требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, в рамках иммунологического мониторинга специфической профилактики чумы проведена оценка взаимосвязи аллелей генов HLA-II и уровней секреции IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , основных классов иммуноглобулинов, специфических антител к F1 чумного микроба, Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ, проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного природных очагов чумы.

Выявлены статистически значимые различия по показателям IL-4 и IFN- $\gamma$  у волонтеров с разными аллелями, которые могут свидетельствовать о существенном влиянии полиморфизма генов HLA-II на поствакцинальную иммунологическую реактивность организма при специфической профилактике чумы.

Показано, что аллельные группы \*02, \*03:01, \*03:02 и \*06:02-8 гена HLA-DQB1 ассоциированы с формированием клеточных и гуморальных факторов поствакцинального иммунитета против чумы.

В качестве маркера высокой реактивности иммунной системы организма может рассматриваться аллель *DRB1\*16*, несмотря на минорность данной аллели в обследованной группе добровольцев.

Выявлены ассоциации *DRB1\*09*, *\*13*, *\*14* и *\*15* с повышенным титром специфических IgG, что указывает на их значимость при формировании поствакцинального иммунитета.

Кроме того, аллели *DRB1\*13* и *\*15*, а также *DQB1\*02*, *\*03:01*, *\*03:02*, *\*03:05* и *\*06:02-8* могут рассматриваться как потенциальные генетические маркёры направленности и интенсивности иммунного ответа в условиях проживания в природных очагах чумы.

Тем не менее, для выяснения роли отдельных аллелей и их комплексов при формировании поствакцинального противочумного иммунитета людей необходимы дальнейшие исследования в рамках иммунологического мониторинга населения, проживающего на эндемичных территориях, которые позволят усовершенствовать и таргетировать применение существующей вакцины против чумы.

Кроме того, ежегодный скрининг показателей специфического иммунитета у вакцинированных, проживающих на территории активных природных очагов чумы в Сибири, а также пополнение Базы данных «Показатели иммунологического мониторинга вакцинированных против чумы людей, проживающих на территории Горно-Алтайского и Тувинского природных очагов чумы» (Свидетельство о регистрации № 2002622944 от 17.11.2022 г.) новыми сведениями позволит выявить генетические маркёры направленности иммунного ответа у населения и уточнить их вклад к дифференцированному подходу специфической профилактики чумы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Появление новых высокопатогенных инфекционных агентов, а также риск возникновения вспышек опасных природноочаговых заболеваний актуализируют задачи по созданию современных средств специфической профилактики инфекционных болезней, а значит и разработки более совершенных и информативных методов оценки их безопасности и эффективности [Попов Н.Е. и др., 2018; Попова А.Ю. и др., 2016; Попова и др., 2021; Дятлов И.А., 2025; Aikimbayev A.M. et al., 2010; Anisimov A.P. et al., 2025].

Экстраординарный случай заражения людей чумой в 2014 г. в Кош-Агачском районе Республики Алтай послужил основанием для инициации масштабного исследования продолжительности и выраженности иммунологической перестройки в организме вакцинированных против чумы лиц с уточнением временных особенностей формирования реакций клеточного и гуморального ответов, получением объективных данных о безопасности использования вакцины, в том числе, в условиях ежегодной вакцинации [Попова А.Ю. и др., 2016; Клюева С.Н., Бугоркова С.А., 2019; Кудрявцева О.М. и др., 2021; Попова А.Ю. и др., 2021]. Иммунологический мониторинг эффективности вакцинации населения, проживающего на территориях природных очагов чумы Сибири (Горно-Алтайский высокогорный и Тувинский горный) проведен в рамках распоряжений Правительства РФ.

Для многих инфекций определен защитный титр антител, обеспечивающий устойчивость к заражению привитых, но для ВЧЖ защитный титр до настоящего времени не установлен, что указывает на актуальность исследований в данном направлении. Кроме того, не многочисленны и исследования, касающиеся вклада поствакцинального клеточного иммунного ответа в механизмах резистентности организма к чуме.

В исследованиях отечественных и зарубежных ученых продемонстрирована высокая эффективность применения методов антигенной активации лейкоцитов *in vitro* для диагностики различных инфекций и оценки напряженности специфического адаптивного клеточного иммунитета [Дубровина В.И. и др., 2008; Шмелькова Т.П. и др., 2007; Фирстова В.В. и др., 2016; Куличенко А.Н. и др., 2017; Половинкина В.С. и др., 2019; Almajid F.M., 2011; Daenthanasanmak A. et al., 2012; Raue H.P. et al., 2013]. Анализ опыта применения ВЧЖ в периоды различной эпизоотической активности природных очагов свидетельствующий о недостаточности защиты вакцинируемого через 6-12 месяцев после прививки обуславливает необходимость ежегодного применения вакцины (ревакцинацию). В то же время, при ревакцинации лиц с наличием иммунитета против чумы, снижается эффективность приживления живых микробных клеток вакцины, а, следовательно, при необоснованных ревакцинациях падает и эффективность применения ВЧЖ. В связи с этим был разработан и апробирован алгоритм оценки эффективности специфической профилактики чумы населения, проживающего на территориях природных очагов в Российской Федерации.

Обследование лиц, вакцинированных ВЧЖ, по разработанному алгоритму позволило получить объективные данные об эффективности и безопасности вакцины. В ходе комплексного иммунологического мониторинга с применением антигенспецифических тестов получены результаты, которые позволили установить ряд важнейших показателей. Выявлены особенности состояния гуморального звена иммунитета при оценке уровней основных классов иммуноглобулинов (М, G, A и E) обследованных добровольцев, свидетельствующие о том, что динамика изменений их концентрации имеет фазный характер. Так, у добровольцев из с. Кош-Агач установлено повышение уровней IgM и IgA с последующим снижением их концентрации после вакцинации и повышение до исходных значений после ревакцинации. В то время, как у жителей с. Хандагайты наблюдалось снижение IgG и IgM и повышение IgA после вакцинации ВЧЖ, а после ревакцинации – повышение

IgG, IgM и IgA на фоне снижения общего IgE, что свидетельствует об отсутствии аллергических реакций в ответ на введение вакцины. Необходимо отметить, что после вакцинации ВЧЖ наличие положительных корреляционных связей между иммуноглобулинами основных классов может свидетельствовать о развитии системного гуморального ответа в ответ на введение вакцины.

Установлено, что большая часть показателей иммунного профиля обследованных добровольцев варьировала в пределах их референсных значений, что подтверждает имеющиеся сведения о безопасности ВЧЖ.

Сравнительный анализ данных по количеству серопозитивных к F1 *Y. pestis* добровольцев не установил значимых различий между обследованными группами через три месяца как после вакцинации, так и ревакцинации. Выявлены особенности реактивности гуморального звена иммунитета, характеризующиеся статически значимыми различиями по количеству серопозитивных добровольцев, проживающих в Тувинском горном природном очаге чумы, через один и шесть месяцев после ревакцинации (в 2,1 и 7,8 раза соответственно) по сравнению с добровольцами из с. Кош-Ачаг (Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы).

Сравнительный анализ межрегиональных различий выработки специфических IgG после вакцинации показал, что в обоих регионах данные показатели сопоставимы (медиана титра составила 1:160). Вместе с тем, в Республике Тыва после вакцинации на 3-5 сроки наблюдения ( $p < 0,05$ ) уровень специфических антител выше, чем у добровольцев из Республики Алтай. После ревакцинации в Республике Тыва медианные титры в 4,0-8,0 раз выше, чем у добровольцев из Республики Алтай. Кроме того, в Республике Тыва доля серопозитивности после ревакцинации среди обследованных на 3-5 сроки наблюдения сохраняется на уровне 100 %, в то время как в Республике Алтай отмечается снижение серопротекции до 65 % через месяц после ревакцинации. Динамика выработки специфических антител у добровольцев из с. Хандагайты стабильная ( $r_s = 0,79-0,91$ ) по сравнению с

обследованными в с. Кош-Агач, где отмечается большая вариативность иммунных реакций, связанных со специфическими IgG ( $r_s = 0,46-0,82$ ).

Таким образом, вакцинация ВЧЖ вызывает выраженный иммунный ответ с выработкой специфических IgG. Бустерный эффект от ревакцинации является выраженным и приводит к более высоким уровням антител по сравнению с первичным ответом. После вакцинации к 12 месяцу у большинства добровольцев уровень антител снижается до порогового или неопределяемого. Ревакцинация не только быстро восстанавливает, но и превосходит исходный уровень иммунной защиты, который сохраняется на более высоком уровне как минимум в течение шести месяцев после ревакцинации (по сравнению с аналогичным периодом после первичной вакцинации). Кроме того, повторная вакцинация ВЧЖ приводит к увеличению числа вакцинированного контингента людей с более высокими титрами специфических IgG к капсульному антигену F1 *Y. pestis*, которые коррелируют с повышением уровня общих IgG.

Важно отметить, что доля серопозитивных от общего числа обследованных добровольцев (вакцинированных ВЧЖ) и уровень продукции специфических антител к F1 *Y. pestis* зависит от кратности предыдущих вакцинаций против чумы. Эти данные согласуются с опубликованными результатами многофакторного анализа, согласно которым именно частота вакцинации является статистически значимым фактором, влияющим на уровень антител к F1 *Y. pestis* [Клюева С.Н. и др., 2019; Попова А.Ю. и др., 2021; Sagiyeu Z. et al., 2019].

Поскольку направленность специфического иммунного ответа напрямую зависит от пути дифференцировки CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-клеток в Th1 или Th2 клетки [Никулин Б.А., 2008; Щуковская Т.Н. и др., 2011; Кудрявцева О.М. и др., 2017; Кудрявцева О.М. и др., 2019; Роит А., Ростофф Дж., Мейл Д., 2000], в ходе исследования предложено применение оценки функционального баланса Th1/Th2 по соотношению IFN- $\gamma$ /IL-4. Показано, что увеличение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 свидетельствует о

повышении функциональной активности Th1, а уменьшение данного соотношения – Th2-лимфоцитов.

При изучении уровней биомаркерных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-4) в спонтанной и индуцированной пробах уже на начальных этапах после вакцинации установлено развитие системного цитокинового ответа, который сопровождался увеличением концентрации TNF- $\alpha$  и активацией клеток (NK-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты, Th1), продуцирующих IFN- $\gamma$ . При этом наблюдалось повышение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4, свидетельствующее о преобладании функциональной активности Th1-лимфоцитов и соответственно клеточной направленности иммунного ответа. Наряду с повышением уровня TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , увеличение концентраций IgA, IgM, IgE и титр специфических антител через один месяц после вакцинации свидетельствует о формировании гуморального иммунитета.

Сравнительный анализ цитокинового профиля добровольцев, независимо от места проживания на территориях природных очагов чумы Сибири, через один месяц после вакцинации ВЧЖ выявил направленность иммунного ответа по Th2 типу только у 2-4 % обследованных. Повышение активности по Th1 типу, сопровождающегося увеличением концентрации IFN- $\gamma$  и соответственно соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 отмечено у 96-98 % обследованных. Важно отметить, что через шесть месяцев после ревакцинации у 92 % обследованных выявлено повышение соотношения IL-4/IFN- $\gamma$  и соответственно преобладание гуморального иммунитета. Тем не менее, превалирующая направленность иммунного ответа на ВЧЖ по Th1 типу (преобладание клеточного иммунитета).

Таким образом, в ходе исследований подтверждены положения о клеточно-опосредованном противочумном иммунном ответе, развивающемся у привитых против чумы людей преимущественно по доминирующему Th1 пути, который характеризуется антиген-индуцированной продукцией IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и в полной мере укладывается в общих представлениях о регуляции иммунного ответа при чуме

[Дубровина В.И. и др., 2016; Дятлов И.И. и др., 2016; Фирстова В.В. и др., 2016; Бугоркова С.А. и др., 2018; Philipovskiy A.V., Smiley S.T., 2007; Do Y., Didierlaurent A.M. et al., 2012].

Кроме того, об активации отдельных звеньев гуморального иммунитета организма людей, вакцинированных (ревакцинированных) против чумы, свидетельствует динамика изменения субпопуляционного состава (увеличение Т-хелперов и В-лимфоцитов), а клеточного иммунитета – существенное повышение спонтанной и индуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов. Корреляционная зависимость выявлена между иммуноглобулинами, В-лимфоцитами и IL-4.

Показано, что через один месяц после вакцинации наблюдается снижение Т-лимфоцитов с последующим повышением их содержания в динамике вакцинального процесса, что указывает на адекватную иммунологическую перестройку организма в ответ на введение ВЧЖ. В целом, дисбаланса субпопуляционного состава лимфоцитов не выявлено. Возрастание процентного содержания В-лимфоцитов и натуральных киллеров, а также незначительное снижение Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>) в крови, сопровождающееся понижением ИРИ также свидетельствует о формировании адаптивного клеточного и гуморального иммунитета на отдельных сроках наблюдения.

Выявлены статистически значимые различия по показателям клеточного и гуморального иммунного ответа на вакцинацию ВЧЖ между группами добровольцев, проживающих на территориях природных очагов чумы Сибири (Тувинский горный и Горно-Алтайский высокогорный). Это проявляется в разной динамике, интенсивности и сроках пиковых реакций для различных субпопуляций лимфоцитов. У жителей Республики Алтай наблюдается более стабильный и, в некоторых аспектах (исходный уровень Т-хелперов, реакция В-клеток на ревакцинацию) интенсивный иммунный ответ. Для жителей Республики Тыва характерна более фазовая, «отложенная» и в некоторых случаях более выраженная

динамика поствакцинального иммунного ответа по отдельным показателям (ИРИ после ревакцинации, исходный уровень НК-клеток). Вместе с тем, выявлена корреляционная связь динамики ИРИ и НК-клеток в обследованных территориях, которая свидетельствует о запуске схожих иммунных реакций, но их конечная выраженность и интенсивность зависит от комплекса дополнительных эндо- и экзогенных факторов. Влияние факторов, таких как возраст пациента и способ введения вакцины, на показатели клеточного иммунного ответа было отмечено в ряде публикаций [Fisman D.N., Agrawal D., Leder K., 2002; Wiegeling V. et al., 2009].

В ходе сравнительного анализа установлено, что вакцинация (ревакцинация) против чумы приводит к формированию выраженного клеточного (продукция IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и Th1/Th2) и гуморального (IgM, IgA, IgG, IgG к F1 *Y. pestis*) иммунного ответа как у женщин, так и мужчин, который сохраняется на протяжении всего срока наблюдения, при этом половой диморфизм и индивидуальные особенности каждого обследованного играют важную роль. Полученные данные согласуются с известными особенностями иммунной системы, касающимися гормонального фона у женщин, которые способствуют более сильному Th1-ответу и пролиферации Т-клеток.

Известна связь резистентности или чувствительности макроорганизма к отдельным инфекционным агентам с полиморфизмом генов HLA [Кудрявцева О.М. и др., 2017; Кудрявцева О.М. и др., 2019; Ovsyannikova I.G. et al., 2008; Ovsyannikova I.G. et al., 2012; Ovsyannikova I.G. et al., 2013]. Полагают, что различия в активации цитокинового ответа у вакцинированных против чумы лиц может быть обусловлена именно генетическим полиморфизмом [Дятлов И.И. и др., 2016; Кудрявцева О.М. и др., 2017; Кудрявцева О.М. и др., 2019]. Выявленные нами различия в реакции на прививку ВЧЖ у отдельных добровольцев по индуцированной продукции Th1- и Th2-ассоциированных цитокинов в зависимости от конкретного набора у них аллельных вариантов генов HLA согласуются с ранее высказанным предположением об ассоциациях генов HLA с уровнем продукции TNF- $\alpha$  и IL-4 и IL-10 [Кудрявцева

О.М. и др., 2019]. Зависимость продукции цитокинов TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  от полиморфизма HLA вполне обоснована, так как ген TNF локализован в пределах локуса главного комплекса гистосовместимости, расположенного на 6-й хромосоме [Попова А.Ю. и др., 2021; Campbell R.D., Trowsdale J., 1993], а цитокин IFN- $\gamma$  является не только мощным активатором макрофагов, гранулоцитов, клеток эндотелия, но и индуктором экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости.

В ходе исследования 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, 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. Установлено, что предикторами иммунологической реактивности организма на вакцинацию людей против чумы (преимущественно по Th1-типу), являются аллельные группы \*02, \*03:01, \*03:02 и \*06:02-8 гена HLA-DQB1. Выявлена ассоциация аллельных групп *DRB1*\*09, \*13, \*14 и \*15 с гуморальным иммунным ответом при формировании поствакцинального противочумного иммунитета. Показано, что аллели генов *DRB1*\*16 и *DQB1*\*03:05 могут рассматриваться в качестве потенциальных предикторов интенсивности и направленности иммунного ответа по клеточному типу, не смотря на минорность данных аллелей в обследованной группе добровольцев. Например, предикторами активной стимуляции специфических антител (IgG) к возбудителю чумы, а также сывороточных провоспалительных цитокинов IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  и противовоспалительного цитокина IL-4 у добровольцев являются аллели *DRB1*\*16,

*DRB1\*09* и *DRB1\*15*, что свидетельствует о формировании адаптивного иммунного ответа. Важно отметить, что аллельная группа *HLA-DQB1\*03:05* встречается только у добровольцев (тувинцы), проживающих на территории Тувинского горного природного очага чумы.

В ходе мониторинга эффективности вакцинопрофилактики людей с применением антигенспецифических тестов *in vitro* установлен характер изменений исследуемых показателей иммунного статуса. Наличие положительной серопревалентности у подавляющего большинства людей, принявших участие в обследовании, свидетельствует об адекватной иммунной перестройке организма и выработке специфических защитных антител в ответ на введение ВЧЖ.

Установлены взаимосвязи генетического полиморфизма HLA класса II с наиболее значимыми показателями гуморального и клеточного иммунного ответа у вакцинированных ВЧЖ людей, позволяющая определить патофизиологический вклад генов HLA II при формировании дифференцированного подхода в рамках проведения мероприятий по специфической профилактике чумы. 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 вариабельности показателей иммунного ответа на вакцинацию.

Полученные нами результаты подтверждаются данными, полученными при исследовании эффективности вакцинации ВЧЖ людей, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия [Бугоркова С.А. и др., 2018; Попова А.Ю. и др., 2021]. Доказанное в исследованиях отсутствие корреляции продукции специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба с другими показателями состояния реактивности клеточной защиты еще раз указывает на необходимость поиска новых информативных и доступных маркеров оценки противочумного иммунитета.

Отсутствие значимого влияния такого фактора, как 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 территориях природных очагов чумы.

Таким образом, динамическое наблюдение за вакцинированными против чумы людьми позволило детально проанализировать временные интервалы формирования у привитых клеточных и гуморальных реакций, которые находятся в прямой зависимости от кратности предыдущих вакцинаций против чумы.

Патогенетически обоснована оценка иммунологической эффективности вакцинации ВЧЖ населения по наличию не только специфических антител, но и клеточного звена иммунитета для определения типа иммунного ответа (отсутствие иммунного ответа, гуморальный иммунный ответ, смешанный иммунитет и преимущественно клеточный тип ответа) и оптимизации мероприятий по специфической профилактике чумы на территории природных очагов Сибири. Целью оптимизации мероприятий по специфической профилактике чумы на территории природных очагов Российской Федерации является формирование дифференцированного подхода к применению ВЧЖ с учетом риска возникновения эпидемических проявлений чумы в субъектах, на территории которых имеются активные природные очаги чумы и/или вероятность завоза инфекции [МУ 3.1/4.2.4065-24].

Комплексный анализ факторов, влияющих на иммунологическую реактивность лиц, привитых ВЧЖ, позволяет рассматривать возможность применения дифференцированного подхода к специфической профилактике чумы на территории природных очагов этой инфекции.

Таким образом, в ходе исследований разработан и внедрен в практику методический подход по оценке типа специфического иммунного ответа и реакции предикторов клеточного ответа организма, который включает определение маркеров

активации лимфоцитов и цитокиновый профиль, характеризующих функциональное состояние иммунокомпетентных клеток макроорганизма и напряженность поствакцинального иммунитета с использованием антигенспецифических клеточных тестов *in vitro*.

На основании материалов собственного исследования и данных литературы предложена концептуальная схема ассоциации показателей иммунного статуса у вакцинированных/ревакцинированных ВЧЖ людей, проживающих на эндемичных по чуме территориях Сибири, с полиморфизмом генов HLA II (Рисунок 15), суть которой заключается в следующем: временные интервалы формирования у привитых специфических IgG к F1 *Y. pestis* находятся в прямой зависимости от кратности предыдущих вакцинаций; интенсивность специфической клеточной реактивности организма (маркеры активации лимфоцитов и цитокиновый профиль) характеризует функциональное состояние иммунокомпетентных клеток макроорганизма и напряжённость поствакцинального иммунитета. Показано, что повышение продукции провоспалительных (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) цитокинов и увеличение показателя соотношения их концентраций к показателям противовоспалительного IL-4 (ИС > 1) свидетельствуют об иммунологической эффективности вакцинации.

Результаты выполненного диссертационного исследования позволили охарактеризовать взаимосвязь показателей иммунного статуса у вакцинированных ВЧЖ людей с полиморфизмом генов HLA II, а также послужили основой для разработки методических рекомендаций федерального уровня «Дифференцированный подход к применению вакцины чумной живой при вакцинации контингентов риска на фоне обострения эпизоотической активности в природном очаге чумы», которые подразумевают выявление типа специфического иммунного ответа для каждого конкретного вакцинируемого ВЧЖ (отсутствие ответа, преимущественно гуморальный, смешанный и преимущественно клеточный) [Попова А.Ю. и др., 2021].

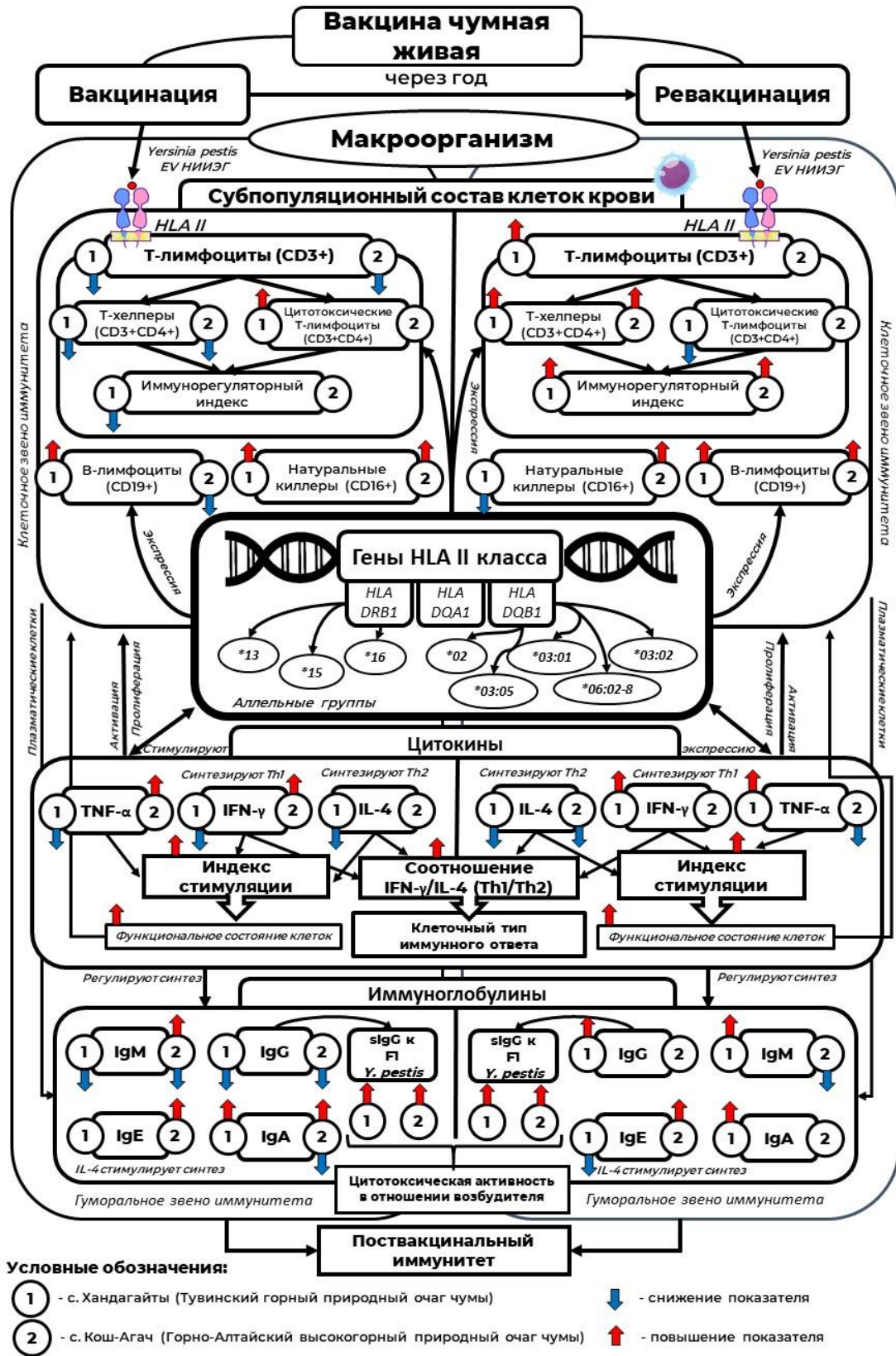


Рисунок 15 – Концептуальная схема ассоциации показателей иммунного статуса у вакцинированных/ревакцинированных против чумы людей с полиморфизмом генов HLA II класса

## ВЫВОДЫ

1. У вакцинированных против чумы добровольцев установлен фазный характер продукции основных классов иммуноглобулинов: снижение показателей содержания иммуноглобулинов (G, M и A) после вакцинации и увеличение после ревакцинации. Показатели общих IgG после ревакцинации коррелируют с высокими титрами специфических IgG к капсульному антигену F1 *Y. pestis* (более 1:320). Медианные значения уровня основных классов иммуноглобулинов варьируют в пределах физиологической нормы, что свидетельствует о безвредности ВЧЖ.

2. Динамика формирования специфических IgG к F1 чумного микроба находится в прямой зависимости от кратности предыдущих вакцинаций. Выявлены статистически значимые различия по количеству серопозитивных добровольцев через один и три месяца как после вакцинации, так и ревакцинации. Независимо от места проживания обследованных добровольцев (Тувинский горный или Горно-Алтайский высокогорный природные очаги чумы) установлен 100 % уровень серопревалентности через три месяца после ревакцинации ВЧЖ.

3. Динамика уровня В-клеток крови добровольцев после ревакцинации ВЧЖ характеризуется значимым повышением их относительного содержания (в 1,2 раза). Корреляционный анализ выявил связь количественных показателей этих клеток через месяц после вакцинации с уровнем IFN- $\gamma$ , а также содержанием В-лимфоцитов через три месяца после ревакцинации с повышенным содержанием IgG.

4. Повышение содержания В-лимфоцитов в 1,1-1,3 раза и НК-клеток в 1,1-1,8 раза, а также снижение Т-хелперов в крови (в 1,2 раза), сопровождающиеся понижением ИРИ (в 1,1-1,4 раза) также свидетельствуют о формировании адаптивного клеточного и гуморального иммунитета.

5. У вакцинированных против чумы лиц реакция иммунной системы направлена преимущественно по клеточному типу иммунного ответа, характеризующаяся индуцированной продукцией провоспалительных цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , ассоциированных с Th1-ответом. Повышение антиген-индуцированной продукции IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  у привитых ВЧЖ людей свидетельствует об отсутствии супрессорного влияния вакцины на организм человека.

6. Выраженность показателей клеточных (биомаркерные цитокины и соотношение IFN- $\gamma$ /IL-4) и гуморальных (основные и специфические Ig) факторов на отдельных этапах формирования поствакцинального иммунитета имеет статистически значимые различия между лицами мужского и женского пола, которые ассоциированы с особенностями гормонального фона.

7. Выявлена ассоциация аллельных групп \*02, \*03:01, \*03:02, \*03:03, \*05:02/\*05:04, \*06:01, \*06:02-8 гена *HLA-DQB1* с продукцией цитокинов IL-4 и IFN- $\gamma$  и содержанием Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток и В-лимфоцитов у добровольцев, вакцинированных ВЧЖ, которая свидетельствует о взаимосвязи полиморфизма генов HLA II класса с клеточными факторами противочумного иммунитета.

8. Анализ ассоциации генов HLA II с уровнем специфических IgG к F1 чумного микроба выявил потенциальную значимость аллелей гена *DRB1*\*09, \*13, \*14 и \*15 при формировании поствакцинального иммунитета к чуме. Аллельные варианты генов *DRB1*\*13 и \*15, а также *DQB1*\*02, \*03:01, \*03:02, \*03:05 и \*06:02-8 являются потенциальными генетическими маркёрами направленности и интенсивности иммунного ответа для таргетированного подхода к специфической профилактике в природных очагах чумы.

**ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ДМСО	–	диметилсульфоксид
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ж.м.к.	–	живые микробные клетки
ВЧЖ	–	вакцина чумная живая сухая
ЗФР	–	забуференный 0,9 % раствор хлорида натрия рН 7,2
ИКК	–	иммунокомпетентные клетки
ИП	–	индуцированные пробы
ИРИ	–	иммунорегуляторный индекс
ИС	–	индекс стимуляции
ИФА	–	иммуноферментный анализ
мг	–	микрограмм
МЕ	–	международная единица
мин	–	минута
м.к.	–	микробные клетки
МКАТ	–	моноклональный антитела
мкг/мл	–	микрограмм в миллилитре
мкл	–	микролитр
мл	–	миллилитр
МНС	–	major histocompatibility complex, главный комплекс гистосовместимости
нм	–	нанометры
НСТ	–	нитросиний тетразолий
об/мин	–	обороты в минуту
ОП	–	оптическая плотность
пг	–	пикограмм

ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
СП	–	спонтанные пробы
ТМБ	–	раствор тетраметилбензидина
у.е.	–	условная единица
ФСБ	–	фосфатно-солевой буферный раствор
ФСБ-Т	–	фосфатно-солевой буферный раствор с твином
ЭДТА	–	этилендиаминтетрауксусная кислота
CD	–	кластер дифференциации
HLA	–	human leucocyte antigens, лейкоцитарные антигены человека
IFN- $\gamma$	–	интерферон- $\gamma$
Ig	–	иммуноглобулин
IL	–	интерлейкин
Me	–	медиана
NK	–	натуральные киллерные клетки
Q25 %–Q75 %	–	интерквартильный размах
Th	–	Т-хелперы
TNF- $\alpha$	–	фактор некроза опухоли $\alpha$

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Афолина, Н.М. Об эффективности вакцинопрофилактики инфекций, общих для человека и животных, в рамках Календаря прививок по эпидемическим показаниям в Российской Федерации / Н.М. Афолина, И.В. Михеева // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2022. – Т. 21, № 1. – С. 37–46. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-37-46.
2. Балахонов, С.В. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном при родном очаге чумы. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята / С.В. Балахонов, М.В. Афанасьев, М.Ю. Шестопалов и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2013. – Т. 1. – С. 60–65. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65.
3. Балахонов, С.В. Горно-Алтайский природный очаг чумы: Ретроспективный анализ, эпизоотологический мониторинг, современное состояние. / С.В. Балахонов, В.М. Корзун. Новосибирск: Наука-Центр. – 2014. – 272 с.
4. Балахонов, С.В. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты / С.В. Балахонов, А.Ю. Попова, А.И. Мищенко и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 1. – С. 55–60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60.
5. Балахонов, С.В. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 2. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолированных штаммов / С.В. Балахонов, М.Б. Ярыгина, Е.Н. Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Витязева С.А.,

Остяк А.С., и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 4. – С. 51–55. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-51-55.

6. Бельский, Ю.П. Перспективы фармакологической регуляции активности макрофагов путем модуляции внутриклеточного сигнального каскада / Ю.П. Бельский, Н.В. Бельская, М.Г. Данилец и др. // Вестник Российской АМН. – 2009. – № 11. – С. 21–25.

7. Бидерман, Б.В. Репертуар HLA-аллелей у российских больных хроническим лимфолейкозом с неблагоприятным прогнозом / Б.В. Бидерман, Е.Б. Ликольд, А.Р. Абдрахимова, Е.А. Леонов Е.А. и др. // Гематология и трансфузиология. – 2020. – Т. 65, № 3. С. – 312–320. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-3-312-320.

8. Богачева, Н.В. Оценка иммунореактивности лиц, вакцинированных чумной, сибиреязвенной, бруцеллезной, туляремийной живыми сухими вакцинами и противоботулиническим трианатоксином, в зависимости от уровня иммунологической нагрузки / Н.В. Богачева, И.В. Дармов, А.С. Кучеренко и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2013. – № 6(73). – С. 79–84.

9. Богачева, Н.В. Экспериментальная оценка методом проточной цитофлюориметрии уровня клеточной иммунологической памяти у лиц, вакцинированных против чумы и сибирской язвы / Н.В. Богачева, А.В. Крючков, И.В. Дармов и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 11. – С. 48–53.

10. Богомолов, С.В. Система интерферона: современные представления о структуре, организации и роли в реализации иммунитета / С.В. Богомолов // Инфекционные болезни. – 2009. – Т. 7. – № 1. – С. 49–53.

11. Брико, Н.И. Оценка качества и эффективности иммунопрофилактики. Лечащий врач. 2012; 10: 57–64.

12. Бугоркова, С.А. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия / С.А. Бугоркова,

Т.Н. Шуковская, Н.И. Микшис и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – Т. 3, № 100. – С. 38–49. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50.

13. Бывалов, А.А., Кутырев В.В. Современное состояние проблемы совершенствования средств вакцинопрофилактики чумы / А.А. Бывалов, В.В. Кутырев // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2011. – № 2. – С. 97–104.

14. Витязева, С.А. Актуальные вопросы совершенствования специфической профилактики чумы и сибирской язвы / С.А. Витязева, С.В. Балахонов, В.И. Дубровина и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2014. – Т. 4, № 77. – С. 83–88.

15. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]. <https://www.who.int/ru> (дата обращения 12.06.2024 г.).

16. ВОЗ: разработка вакцин-кандидатов против чумы <https://www.who.int/publications/m/item/landscape-of-plague-vaccine-candidates>.

17. ГОСТ Р 53079.4-2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа.

18. Дальвадянц, С.М. Исследования по иммунизации против чумы. Сообщение 2. Иммунизирующая и ревакцинирующая активность препаратов для специфической профилактики чумы в экспериментах на морских свинках / С.М. Дальвадянц, И.А. Дятлов, С.А. Еремин, В.В. Кутырев // Проблемы особо опасных инфекций. – 2003. – Вып. 86. – С. 123–132.

19. Девдариани, З.Л. Реактивность, серологические и аллергические показатели иммунитета у людей, привитых подкожно различными дозами чумной живой сухой вакцины: Автореферат дис. на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. (14.00.36). Всесоюз. науч.-исслед. противочумный ин-т «Микроб», Саратов. 1977. – 15 с.

20. Дмитриева, Л.А. Особенности синтеза цитокинов у больных с коксартрозами при эндопротезировании тазобедренного сустава / Л.А. Дмитриева, Е.Ю. Коршунова, З.В. Кошкарёва // Иммунология. – 2005. – № 2. – С. 38–40.
21. Дубровина, В.И. Влияние комплексного антигенного препарата *Yersinia pestis* EV на функциональную активность клеток фагоцитарной системы в эксперименте / В.И. Дубровина В.И., Е.П. Голубинский, С.А. Витязева и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2008. – № 97. – С. 56–60.
22. Дубровина, В.И. Чума: вопросы патогенеза и иммуногенеза / В.И. Дубровина, Ж.А. Коновалова, С.А. Витязева и др. Иркутск: ИНЦХТ. 2016. – 56 с.
23. Дятлов, И.И. Стратегия оценки поствакцинального иммунитета против туляремии и чумы / И.И. Дятлов, В.В. Фирстова, Н.Л. Бондаренко и др. // Аллергология и иммунология. – 2016. Т. 17, № 2. – С. 112–114.
24. Дятлов, И.А. Вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (ВЧММ) / И.А. Дятлов, А.А. Анисимов, М.В. Храмов и др. // Бактериология. – 2018. – Т. 3, № 1. – С. 74–75.
25. Дятлов, И.А. Достижения в вакцинологии по созданию средств специфической профилактики опасных инфекций / И.А. Дятлов // Бактериология. – 2025. – Т. 10, № 1. – С. 5–7.
26. Зверев, В.В. Вакцины и вакцинация: национальное руководство / Под ред. В.В. Зверева, В.В., Б.Ф. Семенова, Р.М. Хаитова. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2011. – 880 с.
27. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2008. – 549 с. ISBN 978-5-93929-171-2.
28. Ключева, С.Н. Комплексный анализ корреляционных взаимосвязей между показателями гуморального и клеточного иммунитета у лиц, вакцинированных против чумы / С.Н. Ключева, С.А. Бугоркова, А.Ю. Гончарова и др. // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9, № 1. – С. 135-146. – DOI 10.15789/2220-7619-2019-1-135-146.

29. Ковальчук, Л.В. Клиническая иммунология и аллергология / Л.В. Ковальчук, Л.В. Банковская, Р.Я. Мешкова. – 2012. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 640 с.
30. Кравцов, А.Л. Определение экспрессии FcγRIIIb (CD16) на поверхности нейтрофилов крови привитых против чумы людей / А.Л. Кравцов, С.А. Бугоркова, С.Н. Ключева и др. // Молекулярная медицина. – 2020. – Т. 18, № 2. – С. 33–38.
31. Кудрявцева, О.М. Выявление ассоциаций генов HLA II класса главного комплекса гистосовместимости с особенностями иммунного ответа у лиц, вакцинированных живой чумной вакциной в Республике Калмыкия / О.М. Кудрявцева, Т.Н. Щуковская, Н.И. Микшис и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – № 3. – С. 95–99. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-3-95-99>
32. Кудрявцева, О.М. Ассоциация показателей функциональной активности маркеров Th1 и Th2 иммунитета с полиморфизмом генов HLA у лиц, вакцинированных против чумы / О.М. Кудрявцева, С.А. Бугоркова, Т.Н. Щуковская и др. // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 315–324. doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-315-324.
33. Кудрявцева, О.М. Информационное обеспечение мониторинга поствакцинального иммунитета против чумы / О.М. Кудрявцева, В.А. Кожевников, Ю.И. Ящечкин, С.А. Бугоркова // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2021. – Т. 20, № 3. С. 76–82. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-3-76-82.
34. Куклева, Л.М. Адгезины возбудителя чумы / Л.М. Куклева // Проблемы особо опасных инфекций. – 2018. – № 2. – С. 14–22.
35. Куклева, Л.М., Бойко А.В. Активатор плазминогена – многофункциональный белок возбудителя чумы / Л.М. Куклева, А.В. Бойко // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 3. С. 13–20.
36. Куличенко, А.Н. Использование антигенспецифических клеточных тестов *in vitro* для оценки формирования поствакцинального противочумного иммунитета / А.Н. Куличенко, Абзаева Н.В., Гостищева С.Е. и др. // Инфекция и

иммунитет. – 2017. – Т. 7., № 2. – С. 203-208. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-2-203-208.

37. Куница, Т.Н. Чума (эпидемиология, клиника, лабораторная диагностика, лечение и профилактика). Руководство для врачей / Т.Н. Куница. М.: Перо. – 2021. – 184 с.

38. Кутырев, В.В. Обеспечение эпидемиологического благополучия по чуме в условиях обострения эпизоотической обстановки в Прикаспийском песчаном природном очаге в 2014 г. / В.В. Кутырев, А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2015. № 4. – С. 22–29.

39. Ляпин, М.Н. Предложения по совершенствованию нормативно-правового регулирования в области обращения патогенных биологических агентов в Российской Федерации / М.Н. Ляпин, Т.А. Костюкова, И.Ю. Сухоносков и др. // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 1–2. – С. 7–8.

40. Медуницын, Н.В. Вакцинология / Н.В. Медуницын. – Изд. 3-е, перераб. и доп. – Москва : Триада-Х, 2010. – 506 с. ISBN 5-8949-0008-6.

41. Микшис, Н.И. Современное состояние проблемы разработки вакцин для специфической профилактики чумы / Н.И. Микшис, В.В. Кутырев // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019. – № 1. – С. 50-63. – DOI 10.21055/0370-1069-2019-1-50-63.

42. МУ 3.1/4.2.4065-24 «Эпидемиологический надзор в природных очагах чумы на территории Российской Федерации: мониторинг, диагностика, профилактика», утвержденные руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 27.09.2024 г.

43. Никулин, Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса / Б.А. Никулин. Москва: ГЭОТАР-Медиа. – 2008. – 376 с.

44. Пальцев, М.А. Иммуногенетика человека и биобезопасность / М.А. Пальцев, Р.М. Хаитов, Л.П. Алексеев. М.: Медицина. – 2007. – 143 с.

45. Патент № 2248217 RU, МПК7 А 61 К 39/02. Способ получения иммуногенного препарата из *Yersinia pestis* EV / Е.Ю. Марков, Е.П. Голубинский, С.Г. Саппо и др. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. – № 2003115185/13; Заявлено. 22.05.2003; Оpubл. 20.03.2005, Бюл. – № 8. – 5 с.

46. Подладчикова, О.Н. Современные представления о молекулярных механизмах патогенеза чумы / О.Н. Подладчикова // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – № 3. – С. 3–40.

47. Половинкина, В.С. Исследование диагностической значимости субклеточных фракций чумного микроба для оценки выраженности иммунного ответа / В.С. Половинкина, В.В. Войткова, В.Б. Николаев и др. // Медицина труда и экология человека. – 2019. – № 4. – С. 34–38. DOI: 10.24411/2411-3794-2019-10045.

48. Попов, Н.В. Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по чуме в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2020-2025 гг. / Попов, Н.В., Ерошенко Г.А., Карнаухов И.Г. и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. № 1. – С. 43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.

49. Попов, Н.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2008-2017 гг. и прогноз на 2018 г. / Н.В. Попов, А.А. Кузнецов, А.Н. Матросов и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2018. – № 1. – С. 50–55. DOI.org/10.21055/0370-1069-2018-1-50-55.

50. Попова, А.Ю. Координация мероприятий противочумных учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2016 г. / А.Ю. Попова, В.В. Кутырев В.В., С.В. Балахонов С.В. и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 4. – С. 5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-5-12.

51. Попова, А.Ю. Специфическая профилактика чумы: состояние и перспективы / Под ред. А.Ю. Поповой, В.В. Кутырев. Саратов: Амирит. – 2021. – 304 с.

52. Приказ Министерства здравоохранения РФ № 125н от 21.03.2014 «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям».
53. Роит, А. Иммунология / А. Роит, Дж. Ростофф, Д. Мейл. – Москва: Мир. – 2000. – 592 с.
54. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», Москва. – 2021. – 1092 с.
55. Сароянц, Л.В. HLA-антигены при лепроматозной лепре / Л.В. Сароянц, И.С. Полянская, Л.П. Алексеев и др. // Вестн. дерматол. венерол. – 1992. – № 4. – С. 18–19.
56. Фирстова, В.В. Иммунологические аспекты чумы / В.В. Фирстова, И.А. Дятлов, А.В. Караулов // Иммунология. – 2016; Т. 37, № 1. – С. 61–63. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1-61-63.
57. Хаитов, Р.М. Иммуногеномика и генодиагностика человека / Р.М. Хаитов, Л.П. Алексеев, Д.Ю. Трофимов. М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2017. – 256 с. ISBN 978-5-9704-4139-8
58. Хаитов, Р.М. Иммунология: атлас / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин. Москва: ГЭОТАР-Медиа. – 2011. – 624 с.
59. Шмелькова, Т.П. Влияние биологических свойств чумного микроба на развитие апоптоза лейкоцитов крови человека в системе *in vitro* / Т.П. Шмелькова, А.Л. Кравцов, Т.Н. Щуковская и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2007. – Т. 1, № 93. – С. 85–89.
60. Щуковская, Т.Н. Индуцированная продукция IFN- $\gamma$  и IL-4 как показатель функциональной активности Th1- и Th2-клеток у вакцинированных против чумы людей / Т.Н. Щуковская, Е.А. Смолькова, Т.П. Шмелькова и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 6 (61). – С. 78–83.
61. Ярилин, А.А. Иммунология / А.А. Ярилин. – 2010 – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 752 с.

62. Abramov, V.M. Binding of LcrV protein from *Yersinia pestis* to human T-cells induces apoptosis, which is completely blocked by specific antibodies / V.M. Abramov, I.V. Kosarev, V.L. Motin et al. // Int. J. Biol. Macromol. – 2019. – № 122. – P. 1062–1070. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.054.
63. Aikimbayev, A.M. The epidemiological surveillance of highly pathogenic diseases in Kazakhstan / A.M. Aikimbayev, T.V. Meka-Mechenko, G.A. Temiraliyeva, J. Y. Bekenov // NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. – 2010. – P. 15–20. – DOI 10.1007/978-90-481-9637-1\_2.
64. Almajid, F.M. Lymphocyte activation test for diagnosis of seronegative brucellosis in humans / F.M. Almajid // Indian journal of pathology & microbiology. – 2011. – V. 54, № 4. – P. 775–781. DOI:10.4103/0377-4929.91499.
65. Amedei, A. Role of immune response in *Yersinia pestis* infection / A. Amedei, E. Niccolai, L. Marino, M.M. D'Elia // J. Infect. Dev. Ctries. – 2011. – V. 5, № 9. – P. 628–639.
66. Anderson, D.M. Pneumonic plague pathogenesis and immunity in Brown Norway rats / D.M. Anderson, N.A. Ciletti, H. Lee-Lewis et al. // The American journal of pathology. – 2009. – V. 174, № 3. – P. 910–21. DOI: 10.2353/ajpath.2009.071168.
67. Andersson, J.A. Identification of New Virulence Factors and Vaccine Candidates for *Yersinia Pestis* / J.A. Andersson, J. Sha, T.E. Erova // Front. Cell Infect. Microbiol. – 2017. – № 7. – P.448. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00448.
68. Anisimov, A.P. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis* / A.P. Anisimov, L.E. Lindler // Pier Clin. Microbiol. Rev. – 2004. – № 17. – P. 434–464. DOI: 10.1128/CMR.17.2.434-464.2004.
69. Anisimov, A.P. Live Plague Vaccine Development: Past, Present, and Future / A.P. Anisimov, A.S. Vagaiskaya, A.S. Trunyakova, S.V. Dentovskaya // Vaccines (Basel). – 2025. – V. 13, № 1. – P. 66. DOI:10.3390/vaccines13010066.

70. Baril, L. Can we make human plague history? A calltoaction / L. Baril, X. Vallès, N.C. Stenseth // *BMJ Glob. Health.* – 2019. – V. 4, № 6. – P. 1–4. DOI: 10.1136/bmjgh-2019-001984.

71. Bashaw, J. Development of in vitro correlate assays of immunity to infection with *Yersinia pestis* // J. Bashaw, S. Norris, S. Weeks et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2007. – V. 14, № 5. – P. 605–616. DOI: 10.1128/CVI.00398-06.

72. Budanova, A.A. In silico studies at the stages of designing modern means of plague immunoprophylaxis / A.A. Budanova, T.N. Shchukovskaya // *Problems of Particularly Dangerous Infections.* – 2022. – № 3. – P. 6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-6-13. (In Russian)

73. Butler, T. Plague into the 21st century / T. Butler // *Clin. Infect. Dis.* – 2009. – V. 49, № 5. – P. 736–742. DOI: 10.1086/604718.

74. Butler, T. Plague history: Yersin's discovery of the causative bacterium in 1894 enabled, in the subsequent century, scientific progress in understanding the disease and the development of treatments and vaccines / T. Butler // *Clinical Microbiology and Infection.* – 2014. – V. 20, № 3. – P. 202–209. DOI: 10.1111/1469-0691.12540.

75. Byvalov, A.A. *Yersinia* outer membrane vesicles as potential vaccine candidates in protecting against plague / A.A. Byvalov, I.V. Konyshchev, V.N. Uversky et al. // *Biomolecules.* – 2020. – № 10. – P. 1694. DOI: 10.3390/biom10121694.

76. Caillat-Zucman, S. Distinct HLA class II alleles determine antibody response to vaccination with hepatitis B surface antigen / S. Caillat-Zucman, J.J. Gimenez, F. Wambergue et al. // *Kidney Int.* – 1998. – V. 53, № 6. – P. 1626–1630. DOI: 10.1046/j.1523-1755.1998.00909.x.

77. Campbell, R.D. Map of the human MHC / R.D. Campbell, J. Trowsdale // *Immunol Today.* – 1993. – V. 14, № 7. – P. 349–352. DOI: 10.1016/0167-5699(93)90234-C.

78. Chung, L.K. *Yersinia* versus host immunity: how a pathogen evades or triggers a protective response / L.K. Chung, J.B. Bliska // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2016. – № 29. – P. 56–62. DOI: 10.1016/j.mib.2015.11.001.
79. Cote, C.K. Protection elicited by attenuated live *Yersinia pestis* vaccine strains against lethal infection with virulent *Y. pestis* / C.K. Cote, S.S. Biryukov, C.P. Klimko et al. // *Vaccines.* – 2021. – № 9. – P. 161. DOI: 10.3390/vaccines9020161.
80. Daenthanasanmak, A. Integrase-defective lentiviral vectors encoding cytokines induce differentiation of human dendritic cells and stimulate multivalent immune responses *in vitro* and *in vivo* / A. Daenthanasanmak, G. Salguero, S. Borchers et al. // *Vaccine.* – 2012. – V. 30, № 34. – P. 5118–5131. DOI:10.1016/j.vaccine.2012.05.063.
81. Davies, M.L. Sex Differences in Immune Protection in Mice Conferred by Heterologous Vaccines for Pneumonic Plague / M.L. Davies, S.S. Biryukov, N.O. Rill et al. // *Front. Immunol.* – 2024 – № 15. P. 1397579. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1397579.
82. Demeure, C.E. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics / C.E. Demeure, O. Dussurget, G. Mas Fiol, A.S. Le Guern et al. // *Genes Immun.* – 2019. – V. 20, № 5. – P. 357–370.
83. Dendrou, C. HLA variation and disease / C. Dendrou, J. Petersen, J. Rossjohn, et al. // *Nat Rev Immunol.* 2018. – № 18. – P. 325–339. DOI.org/10.1038/nri.2017.143
84. Dentovskaya, S.V. Two Isoforms of *Yersinia pestis* Plasminogen Activator Pla: Intraspecies Distribution, Intrinsic Disorder Propensity, and Contribution to Virulence / S.V. Dentovskaya, M.E. Platonov, T.E. Svetoch et al. // *PLoS One.* – 2016. – V. 11, № 12. – P. 1–24. DOI: 10.1371/journal.pone.0168089.
85. Di, D. Challenging ancient DNA results about putative HLA protection or susceptibility to *Yersinia pestis* / D. Di, J. Simon Thomas, M. Currat et al. // *Mol. Biol. Evol.* – 2022. – V. 39, № 4. ID msac073. DOI: 10.1093/molbev/msac073.
86. Do, Y. Induction of pulmonary mucosal immune responses with a protein vaccine targeted to the DEC-205/CD205 receptor / Y. Do, A.M. Didierlaurent, S. Ryu et

al. // *Vaccine*. – 2012. – V. 30, № 45. – P. 6359–6367. DOI:10.1016/j.vaccine.2012.08.051.

87. Du, Y. Role of fraction 1 antigen of *Yersinia pestis* in inhibition of phagocytosis / Y. Du, R. Rosqvist, A. Forsberg // *Infect. Immun.* – 2002. – V. 70, № 3. – P. 1453–1460. DOI: 10.1128/IAI.70.3.1453-1460.2002.

88. Eichelberger, K.R. Inhibition of neutrophil primary granule release during *Yersinia pestis* / K.R. Eichelberger, G.S. Jones, W.E. Goldman // *Pulmonary Infection. mBio*. – 2019. – V. 10, № 6. – P. 1–14. DOI: 10.1128/mBio.02759-19.

89. Elvin, S.J. Stat 4 but not Stat 6 mediated immune mechanisms are essential in protection against plague / S.J. Elvin, E.D. Williamson // *Microb. Pathog.* – 2004. – V. 37, № 4. – P. 177–184. DOI: 10.1016/j.micpath.2004.06.009.

90. Faurez, F. Biosafety of DNA vaccines: New generation of DNA vectors and current knowledge on the fate of plasmids after injection / F. Faurez, D. Dory, V. Le Moigne et al. // *Vaccine*. – 2010. – V. 28, № 23. – P. 3888–3895. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.03.040

91. Feng, J. Construction of a live-attenuated vaccine strain of *Yersinia pestis* EV76-B-SHU $\Delta$ pla and evaluation of its protection efficacy in a mouse model by aerosolized intratracheal inoculation / J. Feng, Y. Deng, M. Fu et al. // *Front. Cell Infect. Microbiol.* – 2020. – № 10. P.473. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00473.

92. Feodorova, V.A. Humoral and cellular immune responses to *Yersinia pestis* Pla antigen in humans immunized with live plague vaccine / V.A. Feodorova, A.M. Lyapina, M.A. Khizhnyakova et al. // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2018. – V. 12, № 6. – P. 1–14. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006511.

93. Feodorova, V.A. Russian vaccines against especially dangerous bacterial pathogens / V.A. Feodorova, L.V. Sayapina, M.J. Corbel, V.L. Motin // *Emerg Microb Infect.* – 2014. – № 3. – P. – e86. DOI: .org/10.1038/emi.2014.82.

94. Fisman, D.N. Effect of age on immunologic response to recombinant hepatitis B vaccine: A meta-analysis / D.N. Fisman, D. Agrawal, K. Leder // *Clin Infect Dis.* – 2002. – V. 35, № 11. – P. 1368–1375. DOI: <https://doi.org/10.1086/344271>.
95. Hammamieh, R. Temporal progression of pneumonic plague in blood of nonhuman primate: a transcriptomic analysis / R. Hammamieh, S. Muhie, R. Borschel et al. // *PLoS One.* – 2016. – V. 11, № 3. – P. e0151788. DOI: [10.1371/journal.pone.0151788](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151788).
96. Hartley, L. The efficacy, safety, and immunogenicity of plague vaccines: a systematic literature review / L. Hartley, S. Harold, E. Hawe // *Curr. Res. Immunol.* – 2023. – № 4. – P. 100072. DOI: [10.1016/j.crimmu.2023.100072](https://doi.org/10.1016/j.crimmu.2023.100072).
97. Hill, A.V. Genetic susceptibility to malaria and other infectious diseases: from the MHC to the whole genome / A.V. Hill // *Parasitology.* – 1996. – № 112 (Suppl). – P. S75–S84. DOI: [10.1017/s003118200007668x](https://doi.org/10.1017/s003118200007668x).
98. Hinnebusch, B.J. Ecological Opportunity, Evolution, and the Emergence of Flea-Borne Plague / Hinnebusch, B.J., Chouikha I., Sun Y.C. // *Infect. Immun.* – 2016. – V. 84, № 7. – P. 1932–1940. DOI: [10.1128/IAI.00188-16](https://doi.org/10.1128/IAI.00188-16).
99. Hinnebusch, B.J. Role of the *Yersinia pestis* Ail protein in preventing a protective polymorphonuclear leukocyte response during bubonic plague / B.J. Hinnebusch, C.O. Jarrett, J.A. Callison et al. // *Infect. Immun.* – 2011. – V. 79, № 12. – P. 4984–4989. DOI: [10.1128/IAI.05307-11](https://doi.org/10.1128/IAI.05307-11).
100. Hinnebusch, J. Murine toxin of *Yersinia pestis* shows phospholipase D activity but is not required for virulence in mice / J. Hinnebusch, P. Cherepanov, Y. Du et al. // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2000. – V. 290, № 4-5. – P. 483–487. DOI: [10.1016/S1438-4221\(00\)80070-3](https://doi.org/10.1016/S1438-4221(00)80070-3).
101. Jefferson, T. Vaccines for preventing plague / T. Jefferson, V. Demicheli, M. Pratt // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2000. – V. 1998, № 2. – P. CD000976. DOI: [10.1002/14651858.CD000976](https://doi.org/10.1002/14651858.CD000976).

102. Kislichkina, A.A. Rational Taxonomy of *Yersinia pestis* / A.A. Kislichkina, M.E. Platonov, A.S. Vagaiskaya et al. // Mol. Genet. Microbiol Virol. – 2019. – № 34. – P. 110–117. DOI: 10.3103/S0891416819020058.
103. Koller, B.H. Chromosomal organization of the human major histocompatibility complex class I gene family / B.H. Koller, D.E. Geraghty, R. de Mars et al. // J. Exp. Med. – 1989. – № 169. – P. 469–480. DOI: 10.1084/jem.169.2.469.
104. Kolodziejek, A.M. *Yersinia pestis* Ail: multiple roles of a single protein. Front / A.M. Kolodziejek, C.J. Hovde, S.A. Minnich // Cell Infect. Microbiol. – 2012. – V. 2, № 103. – P. 1–10. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00103.
105. Kopylov P.Kh. [A nucleotide sequence encoding an immunogenic lcrV(G113) polypeptide that elicits a protective immune response against *Yersinia pestis*; recombinant plasmid DNA pETV-I-3455 encoding the immunogenic LcrV(G113) polypeptide; recombinant *Escherichia coli* strain BL21(DE3)/pETV-I-3455, producer of the immunogenic polypeptide LcrV(G113); polypeptide LcrV(G113) and method for its production]. Patent for the invention in the Russian Federation No. 2439155, publ. 01/10/2012. / P.Kh. Kopylov, I.V. Bakhteeva, A.P. Anisimov et al. // Bull. No. 1.
106. Lambert, N.D. Polymorphisms in HLA-DPB1 are associated with differences in rubella virus-specific humoral immunity after vaccination / N.D. Lambert, I.H. Haralambieva, R.B. Kennedy et al. // J. Infect. Dis. – 2015. – V. 211, № 6. – P. 898–905. DOI: 10.1093/infdis/jiu553.
107. Lambkin, R. Human genetics and responses to influenza vaccination: clinical implications / R. Lambkin, P. Novelli, J. Oxford, C. Gelder // Am. J. Pharmacogenomics: genomics-related research in drug development and clinical practice. – 2004. – V. 4, № 5. – P. 293–208. DOI: 10.2165/00129785-200404050-00002.
108. Lei, C. *Yersinia pestis* Antibiotic Resistance: A Systematic Review / C. Lei, Kumar S. PHRP. – 2022. – № 13. – P. 24–36. DOI: 10.24171/j.phrp.2021.0288.

109. Levy, Y. T cells play an essential role in anti-F1 mediated rapid protection against bubonic plague / Y. Levy, Y. Flashner, A. Tidhar et al. // *Vaccine*. – 2011. – V. 29, № 4. – P. 6866–6873. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.07.059.

110. Li, B. Humoral and cellular immune responses to *Yersinia pestis* infection in long-term recovered plague patients / B. Li, C. Du, L. Zhou et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2012. – V. 19, № 2. – P. 228–234. DOI: 10.1128/CVI.05559-11.

111. Li, B. Interaction between *Yersinia pestis* and the host immune system / B. Li, R. Yang // *Infect. Immun.* – 2008. – V. 76, № 5. – P. 1804–1811. DOI: 10.1128/IAI.01517-07.

112. Li, B. Antibody profiling in plague patients by protein microarray / B. Li, D. Zhou, Z. Wang et al. // *Microbes Infect.* – 2008. – V. 10, № 1. – P. 45–51. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.10.003.

113. Li, D. *Yersinia* YopT inhibits RLH-mediated NF- $\kappa$ B and IRF3 signal transduction / D. Li, H. Wang, P. Zhang et al. // *Microbiol Immunol.* – 2020. V. 64, № 11 – P. 768-777. DOI:10.1111/1348-0421.12842.

114. Lin, J.S. IL-17 contributes to cell-mediated defense against pulmonary *Yersinia pestis* infection / J.S. Lin, L.W. Kummer, F.M. Szaba, S.T. Smiley // *J. Immunol.* – 2011. – V. 186, № 3. – P. 1675–1684. DOI: 10.4049/jimmunol.1003303.

115. Lin, J.S. *Yersinia pestis* YopE contains a dominant CD8 T cell epitope that confers protection in a mouse model of pneumonic plague / J.S. Lin, F.M. Szaba, L.W. Kummer // *J. Immunol.* – 2011. – V. 187, № 2. – P. 897–904. DOI: 10.4049/jimmunol.1100174.

116. Liu, Z. Association Between Human Leukocyte Antigen Class I and II Diversity and Non-virus-associated Solid Tumors / Z. Liu, A. Hildesheim // *Front. Genet.* – 2021. – № 12. P. – 675860. DOI: 10.3389/fgene.2021.675860.

117. Loeffler-Wirth, H. Homozygosity in any HLA locus is a risk factor for specific antibody production: the taboo concept 2.0 / H. Loeffler-Wirth, C. Lehmann, N.

Lachmann, I. Doxiadis // Immunol. – 2024. – № 15. – P. 1384823. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1384823.

118. Lukashevsky, R.A. Pathogenesis of *Yersinia pestis* infection in BALB/c mice: effects on host macrophages and neutrophils / R.A. Lukashevsky, D.J. Kenny, R. Taylor et al. // Infect Immun. – 2005. – № 11. – P. 7142–7150. DOI: 10.1128/IAI.73.11.7142-7150.2005.

119. Mc Kiernan, S.M. Distinct MHC class I and II alleles are associated with hepatitis C viral clearance? Originating from a single source / S.M. Mc Kiernan, R. Hagan, M. Curry et al. // Hepatology. – 2004. – V. 40, № 1. – P. 108–114. DOI: 10.1002/hep.20261.

120. McDonald, K.S. Influence of HLA supertypes on susceptibility and resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection / K.S. McDonald, K.R. Fowke, J. Kimani et al. // J. Infect. Dis. – 2000. – V. 181, № 5. – P. 1581–1589. DOI: 10.1086/315472.

121. Mead, P.S. Plague in Madagascar – A Tragic Opportunity for Improving Public Health / P.S. Mead // N Engl. J. Med. – 2018. – Vol. 378, № 2. – P. 106–108. DOI: 10.1056/NEJMp1713881.

122. Motta, P. Association of HLA-DQ and HLA-DR alleles with susceptibility or resistance to HIV-1 infection among the population of Chaco Province / P. Motta, K. Marinic, A. Sorrentino et al. // Argentina. Medicina (B Aires). – 2002. – V. 62, № 3. – P. 245–248.

123. Musson, J.A. Repertoire of HLA-DR1-restricted CD4 T-cell responses to capsular Caf1 anti-gen of *Yersinia pestis* in human leukocyte antigen transgenic mice / J.A. Musson, R. Ingram, G. Durand, S. Ascough, E.L. Waters et al. // Infect Immun. – 2010. – V. 78, № 10. – P. 4356–4362. DOI: 10.1128/IAI.00195-10.

124. Nothelfer, K. Pathogen manipulation of B cells: the best defence is a good offence / K. Nothelfer, P.J. Sansonetti, A. Phalipon // Nat. Rev. Microbiol. – 2015. – V. 13, № 3. – P. 173–184. DOI: 10.1038/nrmicro3415.

125. Ovsyannikova, I.G. Human leukocyte antigen and cytokine receptor gene polymorphisms associated with heterogeneous immune responses to mumps viral vaccine / I.G. Ovsyannikova, R.M. Jacobson, N. Dhiman et al. // *Pediatrics*. – 2008. – V. 121, № 5. – P. 1091–1099. DOI: 10.1542/peds.2007-1575.

126. Ovsyannikova, I.G. Consistency of HLA associations between two independent measles vaccine cohorts: a replication study / I.G. Ovsyannikova, V.S. Pankratz, R.A. Vierkant et al. // *Vaccine*. – 2012. – V. 30, № 12. – P. 2146–2152. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.01.038.

127. Ovsyannikova, I.G. Human leukocyte antigens and cellular immune responses to anthrax vaccine adsorbed / I.G. Ovsyannikova, V.S. Pankratz, R.A. Vierkant et al. // *Infect Immun*. – 2013. – V. 81, № 7. – P. 2584–2591. DOI: 10.1128/IAI.00269-13.

128. Parent, M.A. Cell-mediated protection against pulmonary *Yersinia pestis* infection / M.A. Parent, K.N. Berggren, L.W. Kummer et al. // *Infect. Immun*. – 2005. – V. 73, № 11. – P. 7304–7310. DOI: 10.1128/IAI.73.11.7304-7310.2005.

129. Parent, M.A. Gamma interferon, tumor necrosis factor alpha, and nitric oxide synthase 2, key elements of cellular immunity, perform critical protective functions during humoral defense against lethal pulmonary *Yersinia pestis* infection / M.A. Parent, L.B. Wilhelm, L.W. Kummer et al. // *Infect. Immun*. – 2006. – V. 74, № 6. – P. 3381–3386. DOI: 10.1128/IAI.00185-06.

130. Pha, K. *Yersinia* type III effectors perturb host innate immune responses / K. Pha, L. Navarro // *World J. Biol. Chem.* – 2016. – V. 7, № 1. – P. 1–13. DOI: 10.4331/wjbc.v7.i1.1.

131. Philipovskiy, A.V. Vaccination with live *Yersinia pestis* primes CD4 and CD8 T cells that synergistically protect against lethal pulmonary *Y. pestis* infection / A.V. Philipovskiy, S.T. Smiley // *Infection and Immunity*. – 2007. – № 75. – P. 878–885. DOI: 10.1128/IAI.01529-06.

132. Rascovan, N. Emergence and Spread of Basal Lineages of *Yersinia pestis* during the Neolithic Decline / N. Rascovan, K.G. Sjögren, K. Kristiansen et al. // *Cell*. – 2019. – V. 176, № 1-2. – P. 295–305. DOI: 10.1016/j.cell.2018.11.005.

133. Raué, H.P. Cytokine-mediated programmed proliferation of virus-specific CD8(+) memory T cells / H.P. Raué, C. Beadling, J. Haun, M.K. Slifka // *Immunity*. – 2013. – V. 38, № 1. – P. 131–139. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.09.019.

134. Sagiyeu, Z. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014-2015 / Z. Sagiyeu, A. Berdibekov, T. Bolger et al. // *PLoS ONE*. – 2019. – V. 14, № 6 – P. e0218366. DOI: 10.1371/journal.pone.0218366.

135. Shattock, R.J. A Self-Amplifying RNA Vaccine Provides Protection in a Murine Model of Bubonic Plague / R.J. Shattock, V. Andrianaivoarimanana, P.F. McKay, et al. // *Front. Microbiol.* – 2023. – № 14. – P. 1247041. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1247041.

136. Smiley, S.T. Current challenges in the development of vaccines for pneumonic plague / S.T. Smiley // *Expert. Rev. Vaccines*. – 2008. – V. 7, № 2. – P. 209–221. DOI: 10.1586/14760584.7.2.209.

137. Smiley, S.T. *Yersinia pestis* Pla Protein Thwarts T Cell Defense against Plague / S.T. Smiley, F.M. Szaba, L.W. Kummer et al. // *Infect. Immun.* – 2019. – V. 87, № 5. – P. 1–12. DOI: 10.1128/IAI.00126-19.

138. Sun, Y.C. Retracing the Evolutionary Path that Led to Flea-borne Transmission of *Yersinia pestis* / Y.C. Sun, C.O. Jarrett, C.F. Bosio, B.J. Hinnebusch // *Cell Host Microbe*. – 2014. – V. 15, № 5. – P. 578–586. DOI: 10.1016/j.chom.2014.04.003.

139. Sun, W. Plague Vaccines: status and future. In: Yang R., Anisimov A., editors. *Yersinia pestis: Retrospective and Perspective*. Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2016. V. 918. – P. 313–360.

140. Sun, W. Plague Vaccine: recent advances and prospects / W. Sun, A.K. Singh // *NPJ Vaccines*. – 2019. – № 4. – P. 11. DOI: 10.1038/s41541-019-0105-9.

141. Szaba, F.M. TNF $\alpha$  and IFN $\gamma$  but not perforin is critical for CD8 T cell-mediated protection against pulmonary *Yersinia pestis* infection / F.M. Szaba, L.W. Kummer, D.K. Duso et al. // PLoS Pathog. – 2014. – V. 10, № 5. – P. 1–12. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004142.

142. Tian, G. Comparison of virulence between the *Yersinia pestis* microtus 201, an avirulent strain to humans, and the vaccine strain EV in rhesus macaques, macaca mulatta / G. Tian, Z. Qi, Y. Qiu et al. // Hum. Vaccin. Immunother. – 2014. – № 10. – P. 3552–3560. DOI: 10.4161/hv.35119.

143. Verma, S.K. Plague vaccine development: current research and future trends. / S.K. Verma, U. Tuteja // Front Immunol. – 2016. – V. 14, № 7. – P. 602. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00602.

144. Wang, X. Serum cytokine responses in primary pneumonic plague patients / X. Wang, Z. Wang, Z. Guo et al. // Clinical and vaccine immunology: CVI. – 2011. – V. 18, № 1. – P. 184–186. DOI: 10.1128/CVI.00386-10.

145. Wang, X. Live-attenuated *Yersinia pestis* vaccines / X. Wang, X. Zhang, D. Zhou, R. Yang // Expert. Rev. Vaccines. – 2013. – № 12. – P. 677–686. DOI: 10.1586/erv.13.42.

146. Wang, X. Induction of protective antiplague immune responses by self-adjuvanting bionanoparticles derived from engineered *Yersinia pestis* / X. Wang, A.K. Singh, X. Zhang, W. Sun // Infect. Immun. – 2020. – № 88. – P. e00081-20. DOI: 10.1128/IAI.00081-20.

147. Wiegering, V. Age-related changes in intracellular cytokine expression in healthy children / V. Wiegering, M. Eyrich, C. Wunder et al. // Eur Cytokine Netw. – 2009. – V. 20, № 2. – P. 75-80. DOI: 10.1684/ecn.2009.0149.

148. Williamson, E.D. Progress on the research and development of plague vaccines with a call to action / E.D. Williamson, P.B. Kilgore, E.K. Hendrix. // NPJ Vaccines. – 2024. – V. 9 № 1. – P. 162. DOI:10.1038/s41541-024-00958-1.

149. Williamson, E.D. Kinetics of the immune response to the (F1 + V) vaccine in models of bubonic and pneumonic plague / E.D. Williamson, A.J. Stagg, S.M. Eley et al. // *Vaccine*. – 2007. – 25 № 6. – P.1142–1148. DOI:10.1016/j.vaccine.2006.09.052.
150. Yang, K. *Yersinia pestis* Interacts with SIGNR1 (CD209b) for Promoting Host Dissemination and Infection / K. Yang, Y. He, C.G. Park et al. // *Front. Immunol.* – 2019. – V. 10, № 96. – P. 1–15. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00096.
151. Zhang, S.S. Plasminogen activator Pla of *Yersinia pestis* utilizes murine DEC-205 (CD205) as a receptor to promote dissemination / S.S. Zhang, C.G. Park, P. Zhang, et al. // *J. Biol. Chem.* – 2008. – V. 283, № 46. – P. 31511–31521. DOI: 10.1074/jbc.M804646200.
152. Zietz, B.P. The history of the plague and the research on the causative agent *Yersinia pestis* / B.P. Zietz, H. Dunkelberg // *Int. J. Hyg. Env. Health.* – 2004. – № 207. – P. 165–178. DOI: 10.1078/1438-4639-00259.
153. Zvi, A. Novel CTL epitopes identified through a *Y. pestis* proteome-wide analysis in the search for vaccine candidates against plague / A. Zvi, S. Rotem, A. Zauberaman et al. // *Vaccine*. – 2017. – V. 35, № 44. – P. 5995–6006. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.05.092. Epub 2017 Jun 9. PMID: 28606812.