

СОПОСТАВЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОГО И ВТОРИЧНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ВАКЦИНАЦИЮ «ПРИОРИКС»

А.П. Топтыгина, В.А. Алешкин

ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

Резюме. С целью проследить и сопоставить особенности формирования, поддержания и функционирования иммунологической памяти, 20 здоровых детей, согласно российскому календарю прививок, были привиты вакциной Приорикс (корь, краснуха, паротит), а через 5 лет ревакцинированы той же вакциной. В сыворотке крови методом ИФА определяли специфические IgM, IgA и IgG антитела к кори, краснухе и паротиту, их avidность, а также субклассы специфических IgG. Показано, что специфический иммунный ответ на вакцину Приорикс формируется с участием антител трех классов: IgM, IgG и IgA. Антитела классов G и A сохраняются и на этапе иммунологической памяти, обнаруживая бустер-эффект при ревакцинации, особенно у лиц с низким уровнем антител. Первоначально низкая avidность антител постепенно повышается и достигает 60–70% для вирусов кори и краснухи и остается низкой у антител к эпидемическому паротиту. При ревакцинации avidность антител к кори, краснухе и эпидемическому паротиту не меняется. При первичном иммунном ответе основным является IgG3, также участвуют IgG1 и IgG4. На этапе поддержания иммунологической памяти и ответа на ревакцинацию превалирует IgG1, а IgG3- и IgG4-антитела становятся минорными.

Ключевые слова: корь, краснуха, паротит, иммунный ответ, специфические антитела, вакцинация, Приорикс.

Введение

Основным инструментом достижения результатов в объявленной ВОЗ программе по эрадикации кори и краснухи является активная вакцинация населения Земли против этих инфекций [4]. Однако даже в странах с высоким охватом прививками, таких как США, Франция, Великобритания, Германия, Израиль и другие, в последние годы стали отмечаться вспышки коревой инфекции [5]. Это связывают как с нарушениями в графике прививок, так и с первичными и вторичными вакцинальными неудачами [6]. Если первую причину можно устранить более строгим выполнением инструкций по вакцинации, то первичные вакцинальные неудачи (отсутствие формирования специфических антител на прививку) и вторичные вакцинальные неудачи (потеря защитных титров антител у ранее привитых) связаны с особенностями формирования и поддержания иммунологической

памяти на антигены вакцины. В этот динамически развивающийся процесс вносят свою лепту индивидуальные особенности функционирования иммунной системы привитых лиц. Целью настоящей работы было проследить и сопоставить на одной и той же группе обследованных лиц особенности формирования, поддержания и функционирования иммунологической памяти на примере вакцинации и ревакцинации Приорикс.

Материалы и методы

Под наблюдением в течение 5-и лет находилось 20 здоровых детей (8 мальчиков и 12 девочек). При первичном обследовании средний возраст составил 1 год 3 мес. Эти дети ранее не прививались против кори, краснухи и эпидемического паротита и не болели этими заболеваниями. Все дети были привиты однократно подкожно вакциной Приорикс (GlaxoSmithKline, Бельгия), содержащей живые вакцинные штаммы виру-

Авторы:

Топтыгина А.П., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Алешкин В.А., д.б.н., директор ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия.

Адрес для переписки:

Топтыгина Анна Павловна
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского.
Тел.: (495) 452-18-01 (служебн.); 8 916 389-66-04 (моб.). Факс: (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

поступила в редакцию 02.09.2013
принята к печати 14.10.2013

© Топтыгина А.П.,
Алешкин В.А., 2013

ТАБЛИЦА. ПОКАЗАТЕЛИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ВАКЦИНАЦИЮ И РЕВАКЦИНАЦИЮ «ПРИОРИКС» (M±SE)

	Через 1 мес. после вакцинации	Через 1 год после вакцинации	Через 5 лет (до ревакцинации)	Через 1 нед. после ревакцинации	Через 6 нед. после ревакцинации	
Корь	IgM% (положительный)	80	0	0	0	
	IgG (Ме/мл)	1,219±0,182	1,773±0,198*	1,477±0,126	1,637±0,129	
	IgA (Ме/мл)	0,793±0,223	1,504±0,414	0,956±0,236	1,512±0,438	
	Авидность IgG%	29,7±1,2	72,3±1,7**	69,3±1,9	68,2±1,5	69,1±1,3
Краснуха	IgM% (положительный)	85	0	0	0	
	IgG (Ме/мл)	89,3±8,1	118,3±7,8*	117,7±9,7	122,6±6,1	150,6±5,2***
	IgA (Ме/мл)	25,68±15,5	52,96±19,6	20,7±10,5	23,3±8,9	29,5±9,9
	Авидность IgG%	25,3±1,6	70,5±1,8**	69,2±2,9	67,9±1,6	72,6±1,0
Паротит	IgM% (положительный)	65	0	0	0	
	IgG (Ме/мл)	31,25±7,0	42,68±11,3	35,8±5,9	81,1±7,8	96,9±6,3***
	IgA (Ме/мл)	25,173±8,1	37,78±14,2	28,4±9,9	57,8±11,6	50,5±11,9
	Авидность IgG%	4,1±0,8	6,4±0,7	7,8±1,7	20,5±3,9***	14,8±2,7***

Примечания. * p < 0,05 по сравнению со значением через 1 месяц; ** p < 0,01 по сравнению со значением через 1 месяц; *** p < 0,05 по сравнению со значением через 5 лет.

сов кори, краснухи и эпидемического паротита, а через 5 лет, согласно российскому календарю прививок, ревакцинированы однократно подкожно той же вакциной. Работа была одобрена этической комиссией Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, родители подписывали информированное согласие на участие детей в программе исследований.

Обследование проводили до вакцинации, через 1 месяц и через 1 год после нее, затем через 5 лет (перед ревакцинацией), через 1 неделю и через 6 недель после ревакцинации. В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли специфические IgM- и IgG-антитела к кори, краснухе и эпидемическому паротиту и их авидность (Euroimmun или Human, Германия). Отрицательными считали значения менее 0,01 Ме/мл для антигенов вируса кори и менее 15 Ме/мл для антигенов вирусов краснухи и эпидемического паротита. Защитными считали количество IgG антител, превышающее 0,200 Ме/мл для вирусов кори и 25 Ме/мл для вирусов краснухи и эпидемического паротита.

Субклассы специфических IgG-антител определяли методом ИФА в модификации [1]. При этом мы использовали 96-луночные панели, покрытые антигенами соответственно кори, краснухи или паротита от коммерческого набора для определения специфических IgG-антител (Euroimmun или Human, Германия). Сыворотки добавляли в разведении 1:50. В качестве конъюгата мы использовали меченные пероксидазой анти-IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 моноклональные антитела (Полигност, Санкт-Петербург) в концентрации 1 мкг/мл. Для сопоставления результатов различных опытов, мы использовали стандартную сыворотку, содержащую специфические антитела к кори, краснухе и паротиту всех четырех субклассов IgG. Та же технология была применена для определения специфических IgA-антител (клон 14A/1H9).

Полученные результаты были подвергнуты обработке методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической и ее стандартной ошибки (M±SE). О достоверности различий судили по критерию Стьюдента (t). Различия в частотах распределения специфических субклассов IgG анализировали методом χ^2 . Уровень p < 0,05 оценивался как значимый.

Результаты и обсуждение

Все дети до вакцинации были серонегативны. Через 1 месяц после прививки не у всех детей были обнаружены специфические IgM-антитела. Так IgM-антител к эпидемическому паротиту не обнаруживалось у 7-и привитых

детей, к кори — у 4-х и к краснухе — у 3-х детей (табл.). Специфические IgG-антитела также были обнаружены не у всех. На вирус кори не выработал специфических IgG-антител 1 человек, на краснуху также 1 человек и на эпидемический паротит — 4 человека. Следует отметить, что это были разные люди, то есть один и тот же ребенок мог высоко ответить на корь и не ответить на паротит, и наоборот. Авидность этих антител была низкая. Специфические IgA обнаружены на все три вируса. Отмечены большие межиндивидуальные различия в количестве специфических IgA, от полного отсутствия до очень высокого уровня, что отразилось в более высоких значениях стандартной ошибки. Через год специфических IgM обнаружено не было. Отмечалась тенденция на повышение количества специфических IgG- и IgA-антител, по сравнению с соответствующими значениями в 1 месяц, а для IgG против кори и краснухи эти различия были значимы ($p < 0,05$). Эти антитела стали высокоавидными для вирусов кори и краснухи ($p < 0,01$) и остались низкоавидными для вируса эпидемического паротита. Все дети имели защитные титры антител к кори и краснухе. Четыре ребенка, не имевших IgG-антител к вирусу эпидемического паротита через месяц после прививки, продемонстрировали защитные титры при определении через год после прививки, однако один ребенок потерял защитные титры IgG-антител против паротита, хотя имел их через месяц после вакцинации.

Через 5 лет после вакцинации IgM-антитела не были обнаружены, а IgG и IgA сохранились, хотя и в меньшем количестве, чем через год после вакцинации. При этом все наблюдаемые дети сохранили защитные титры IgG-антител к кори, и краснухе, а у двоих детей не было защитных титров IgG-антител к паротиту. Интересно, что у одного из них IgG-антитела были ниже защитного уровня, но присутствовали IgA-антитела в высоком титре. Возможно, такое распределение специфических антител объясняет известную ситуацию, когда серонегативный привитой не заболевает при контакте с больным. Дело в том, что «серонегативность» определяют по количеству специфических IgG, тогда как специфические IgA не учитываются, а ведь это вполне компетентные антитела, способные связать антиген. Кроме того, секреторный вариант IgA-антител — это защита слизистых, которые и являются входными воротами для вирусов [3].

У ревакцинированных детей не выявлялись специфические антитела класса IgM. Специфические IgA-антитела сохранились в небольшом количестве после прививки, и при ревакцинации наблюдался бустер-эффект, однако из-за большой межиндивидуальной ва-

риабельности в количестве антител эти различия оказались не значимыми. Специфические IgG-антитела при ревакцинации повышались у детей, имевших исходно более низкий уровень, а у тех индивидов, которые имели высокий уровень антител на момент ревакцинации, происходило лишь транзитное повышение на 7-й день после введения прививки и в дальнейшем все возвращалось к исходному высокому уровню антител. При этом был отмечен бустер-эффект, в среднем по группе, для IgG против краснухи и эпидемического паротита ($p < 0,05$). Два ребенка, потерявшие защитные титры IgG-антител к вирусу эпидемического паротита, в результате ревакцинации повысили количество специфических IgG до защитного уровня. Интересно, что авидность антител к вирусам кори и краснухи после ревакцинации не изменилась, а авидность к вирусу эпидемического паротита значимо повысилась ($p < 0,05$), хотя и осталась низкой.

Интересные результаты были получены при анализе спектров субклассов специфических IgG-антител (см. рис.). Прежде всего, обращает на себя внимание полное отсутствие специфических антител IgG2 субкласса после первичной вакцинации на все три вируса, содержащихся в вакцине. Возможно, отсутствие специфических антител субкласса IgG2 у маленьких детей объясняется тем, что в процессе постнатального развития иммунной системы человека различные субклассы IgG созревают не одновременно. Было показано, что формирование IgG2 субкласса антител существенно отстает от IgG3 и IgG1. Годовалый ребенок пока еще не способен синтезировать антитела IgG2 [2]. Однако по мере взросления, такая возможность постепенно формируется и у детей старшего возраста появляются антитела субкласса IgG2 [7]. Через 1 месяц после вакцинации в противокоревом иммунном ответе преобладали IgG3-антитела. Они составили 62,2% от общего количества противокоревых IgG антител, IgG1-субкласс составил 35,5%, а IgG4 практически не отличался от нуля. Антительный ответ против вирусов краснухи и эпидемического паротита был представлен преимущественно IgG1 и IgG3 субклассами (55,3 и 43,9% для краснухи и 47,4 и 52,6% для паротита). Через год преобладающим субклассом оказался IgG1, который составил 73,6% для кори, 78,8% для краснухи и 93,2% для паротита от всего специфического IgG-ответа на данные вирусы. Через 5 лет после первичной вакцинации, перед ревакцинацией, картина была приблизительно такой же: основным субклассом в специфическом ответе был IgG1, составивший 79,2% ответа на корь, 79% — на краснуху и 78,4% — на вирус эпидемического паротита. При иммунном ответе на ревакцинацию также

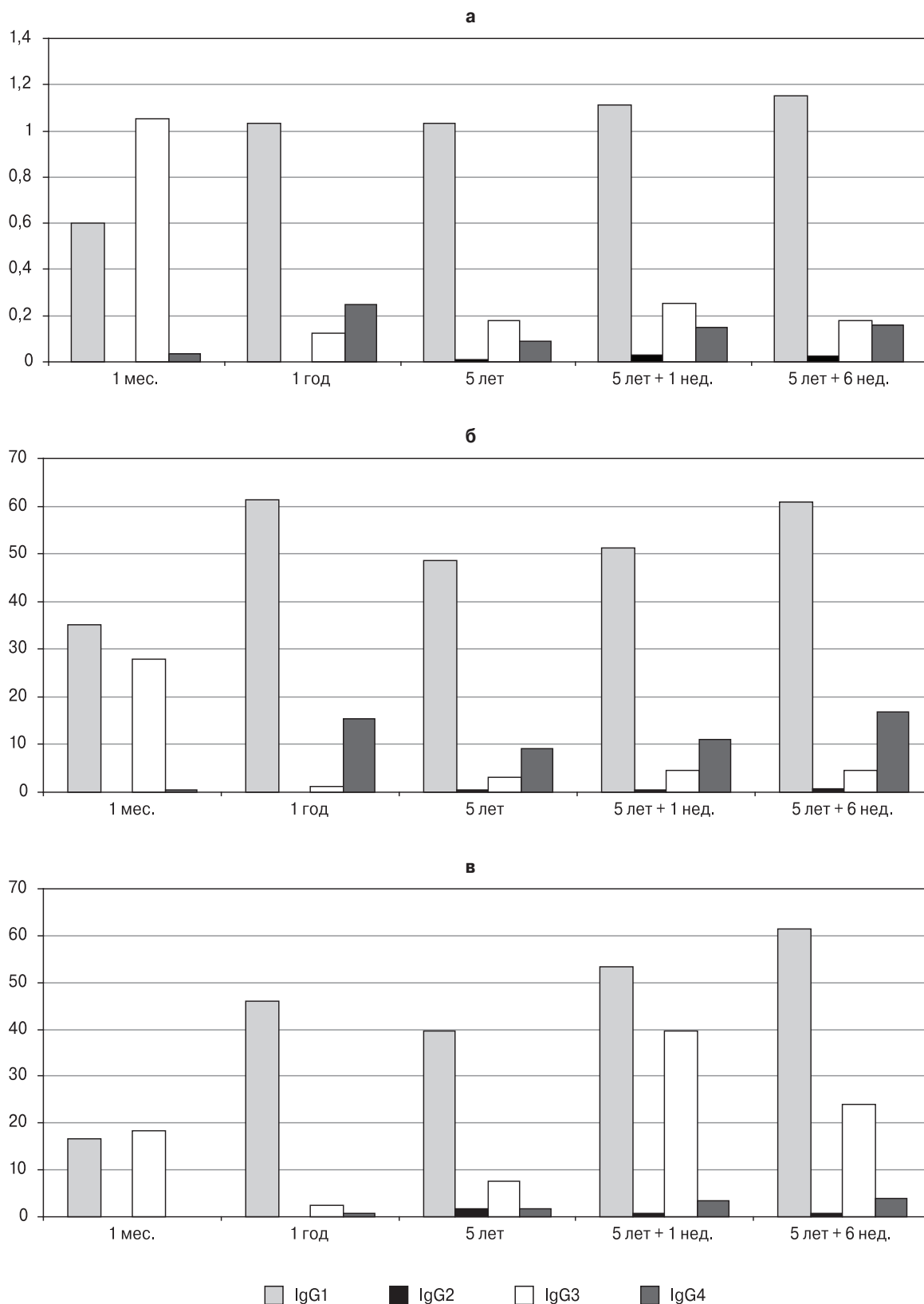


Рисунок. Изменение во времени спектра субклассов специфических IgG антител в сыворотке крови детей после вакцинации и ревакцинации (через 5 лет) вакциной «Приорикс»

а — специфические IgG-антитела против вируса кори;

б — специфические IgG-антитела против вируса краснухи;

в — специфические IgG-антитела против вируса эпидемического паротита.

Примечание. По оси абсцисс — время после вакцинации «Приорикс», по оси ординат — количество IgG в Ме/мл.

преобладал IgG1 субкласс, однако отмечалась тенденция на увеличение IgG3 субкласса, а при ответе на вирус эпидемического паротита, такое увеличение оказалось значимым ($p < 0,01$). Спустя 6 недель после ревакцинации IgG1 субкласс составил 75,9% иммунного IgG-ответа на вирус кори, 73,5% на вирус краснухи и 68,2% ответа на вирус эпидемического паротита. Различия в спектре субклассов специфического IgG-ответа через месяц после первичной вакцинации и через год и более после вакцинации, а также ревакцинации рассчитанные методом χ^2 для каждого вируса, входящего в вакцину, оказались высоко значимыми ($p < 0,0001$; χ^2 для кори = 331,9; χ^2 для краснухи = 296,1; χ^2 для паротита = 483,6).

Таким образом, было показано, что специфический иммунный ответ на вакцину Приорикс формируется с участием антител трех классов: IgM, IgG и IgA. Антитела классов G

и А сохраняются и на этапе иммунологической памяти, обнаруживая бустер-эффект при ревакцинации, особенно у лиц с низким уровнем гуморального иммунного ответа. Первоначально низкая avidность антител постепенно повышается и достигает 60–70% для вирусов кори и краснухи и остается низкой у антител к эпидемическому паротиту. При ревакцинации avidность антител к кори и краснухе не меняется, а к эпидемическому паротиту хотя и повышается, но все-таки остается низкой. Превалирующим субклассом при первичном иммунном ответе является IgG3, также участвуют IgG1 и IgG4. По мере созревания иммунного ответа на первый план выходят антитела IgG1-субкласса, а IgG3- и IgG4-антитела становятся минорными. На этапе поддержания иммунологической памяти и ответа на ревакцинацию такой спектр субклассов антител сохраняется.

Список литературы

1. Топтыгина А.П., Пухальский А.Л., Мамаева Т.А., Алешкин В.А. Спектр субклассов противокоревых иммуноглобулинов G у лиц, перенесших корь // Бюлл. exper. биол. — 2004. — Т. 137, № 3. — С. 293–295.
2. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Копыльцова Е.А., Алешкин В.А. Возрастные особенности формирования гуморального звена иммунного ответа у детей // Медицинская иммунология. — 2012. — Т. 14, № 4–5. — С. 289–294.
3. Ярилин А.А. Иммунология. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — С. 752.

Ссылки 4–7 см. в References (с. 364). See References for numbers 4–7 at p. 364.

Infekciã i immunitet (Infection and Immunity)
2013, vol. 3, no. 4, pp. 359–364

SHORT COMMUNICATIONS

COMPARISON OF THE PRIMARY AND SECONDARY HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO VACCINATION BY “PRIORIX”

G.N. Gabrichevsky Research Institut for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Топтыгина А.П., Алиошкин В.А.

Abstract. Twenty healthy children were vaccinated, and then in a 5 years they were revaccinated with Priorix (measles, mumps, rubella vaccine), according to the national immunization calendar. The aim of the study was to observe and compare the shaping and maintenance of immunological memory. Specific IgM, IgA, IgG antibodies in serum, and their subclasses as well as antibodies avidity were tested by ELISA. It was demonstrated that IgM, IgG, and IgA antibodies shaped primary immune response to Priorix. Booster-effect was found in IgG and IgA antibodies in response to revaccination. Low avidity of antibodies in primary immune response changed to the high avidity (60–70%) antibodies of memory response to measles and rubella, and remained low for antimumps antibodies. IgG3 subclass was predominant, and IgG1 and IgG4 subclasses were involved in primary immune response. At the stage of immunological memory IgG1 was predominant and IgG3 and IgG4 became minor.

Key words: measles, rubella, mumps, immune response, specific antibodies, vaccination, Priorix.

Authors:

Топтыгина А.П. ✉, PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Cytokine, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology.

25212, Russian Federation, Moscow, Admiral Makarov str., 10.

Phone: (495) 452-18-01 (office); +7 916 389-66-04 (mobile). Fax: (495) 452-18-30.

E-mail: toptyginaanna@rambler.ru;

Алиошкин В.А., PhD, MD (Biology), Director, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

References

1. Toptygina A.P., Pukhal'skiy A.L., Mamaeva T.A., Aleshkin V.A. Spektr subclassov protivokorevykh immunoglobulinov G u lits, perenesshikh kor' [Measles virus specific IgG subclass in early and late infections]. *Byullyuten' eksperimental'noy biologii — Bull. Exp. Biol.*, 2004, vol. 137, no. 3, pp. 293–295.
2. Toptygina A.P., Semikina E.L., Kopyl'tsova E.A., Aleshkin V.A. Vozrastnye osobennosti formirovaniya gumoral'nogo zvena immunnogo otveta u detey [Age-dependent features of evolving humoral immunity in children]. *Meditsinskaya immunologiya — Medical Immunology*, 2012, vol. 14, no. 4–5, pp. 289–294.
3. Yarilin A.A. Immunologiya [Immunology]. Moscow, GEOTAR-Media, 2010, 752 p.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Multistate measles outbreak associated with an international youth sporting event — Pennsylvania, Michigan and Texas. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep*, 2008, vol. 57, pp. 169–173.
5. Hickman C.J., Hyde T.B., Sowers S.B., Mercader S., McGrew M., Williams N.J., Beeler J.A., Audet S., Kiehl B., Nandy R., Tamin A., Bellini W.J. Laboratory characterization of measles virus infection in previously vaccinated and unvaccinated individuals. *J. Infect. Dis.*, 2011, vol. 204, suppl. 1, pp. 549–558.
6. Orenstein W.A., Strebel P.M., Papania M., Sutter R.W., Bellini W.J., Cochi S.L. Measles eradication: is it in our future? *Am. J. Public Health*, 2000, vol. 90, pp. 1521–1525.
7. Toptygina A.P., Pukhalsky A.L., Alioshkin V.A. IgG subclass profile of antimeasles response in vaccinated children and adults with measles history. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 2005, vol. 12, no. 7, pp. 845–847.

Received 02.09.2013

Accepted 24.10.2013