

# КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ГУМОРАЛЬНОГО И КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ЛИЦ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЧУМЫ

С.Н. Ключева<sup>1</sup>, С.А. Бугоркова<sup>1</sup>, А.Ю. Гончарова<sup>1</sup>, А.Л. Кравцов<sup>1</sup>, О.М. Кудрявцева<sup>1</sup>,  
Д.Н. Санджиев<sup>2</sup>, С.В. Конушева<sup>2</sup>, С.П. Савченко<sup>2</sup>, Б.А. Хасыкова<sup>2</sup>, Б.Л. Агапов<sup>3</sup>,  
С.А. Щербакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

<sup>2</sup> Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Калмыкия, г. Элиста, Россия

<sup>3</sup> ФКУЗ Астраханская противочумная станция, г. Астрахань, Россия

**Резюме.** В настоящее время продолжается поиск биомаркеров, свидетельствующих о наличии напряженно-противочумного иммунитета. Цель исследования — в динамике формирования противочумного ответа определить показатели клеточного и гуморального иммунитета у лиц, привитых вакциной чумной живой по эпидемическим показаниям, и охарактеризовать корреляционные взаимосвязи между ними. Были исследованы образцы крови от 114 человек, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы. С помощью коммерческих наборов определяли спонтанную и стимулированную конканавалином А продукцию цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  (Вектор-Бест, Россия) IL-17A (eBioscience, Австрия), иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA (Вектор-Бест, Россия) на иммуноферментном анализаторе «LAZURIT» (Dynex Technologies, США). Иммунофенотипирование лейкоцитов крови проводили с использованием меченых флуорохромами моноклональных антител Cyto-Stat CD45-FITC, CD4-PE, CD8-ECD, CD3-PC5 (Beckman Coulter, США) на проточном цитометре CyAn ADP (DakoCytomation, Дания). Анализ полученных данных установил ряд отличий по продукции определяемых цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-17) между группами ревакцинированных и впервые вакцинированных людей. Однако клетки крови людей, независимо от кратности прививки сохраняли свою функциональную реактивность и были способны активно секретировать большинство из анализируемых цитокинов (8 из 10) в ответ на стимуляцию конканавалином А. Установлены диагностически значимые для характеристики специфического противочумного ответа изменения концентрации IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  и IL-4. Для этих маркерных цитокинов выявлено наибольшее число корреляционных взаимосвязей как между собой, так и с изменением уровня других показателей: цитокинов, иммуноглобулинов, Т-клеток. Выявленные множественные корреляционные связи между показателями цитокинового и иммунного статусов свидетельствуют об активации как клеточного, так

## Адрес для переписки:

Ключева Светлана Николаевна  
410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46,  
ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный  
институт «Микроб».  
Тел.: 8 (452) 26-21-31. Факс: 8 (452) 51-52-12.  
E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru

## Contacts:

Svetlana N. Klyueva  
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46,  
Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe".  
Phone: +7 (452) 26-21-31. Fax: +7 (452) 51-52-12.  
E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru

## Библиографическое описание:

Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Гончарова А.Ю., Кравцов А.Л.,  
Кудрявцева О.М., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П.,  
Хасыкова Б.А., Агапов Б.Л., Щербакова С.А. Комплексный анализ  
корреляционных взаимосвязей между показателями гуморального  
и клеточного иммунитета у лиц, вакцинированных против чумы //  
Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 1. С. 135–146. doi: 10.15789/2220-  
7619-2019-1-135-146

## Citation:

Klyueva S.N., Bugorkova S.A., Goncharova A.Y., Kravtsov A.L.,  
Sandzhiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Khasykova B.A.,  
Agapov B.L., Shcherbakova S.A. Complex analysis of correlation  
interrelations between indicators of humoral and cellular immunity in persons  
vaccinated against plague // Russian Journal of Infection and Immunity =  
Infektsiya i immunitet, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 135–146. doi: 10.15789/2220-  
7619-2019-1-135-146

и гуморального звеньев противочумного иммунного ответа. Показана информативность применения комплексного анализа корреляционных взаимосвязей между показателями гуморального и клеточного иммунитета у лиц, вакцинированных против чумы для оценки у них уровня иммунологической эффективности (фактической привитости) вакцинации.

**Ключевые слова:** вакцинация, цитокины, иммуноглобулины, Т-клетки, корреляция, иммунный ответ.

## COMPLEX ANALYSIS OF CORRELATION INTERRELATIONS BETWEEN INDICATORS OF HUMORAL AND CELLULAR IMMUNITY IN PERSONS VACCINATED AGAINST PLAGUE

Klyueva S.N.<sup>a</sup>, Bugorkova S.A.<sup>a</sup>, Goncharova A.Y.<sup>a</sup>, Kravtsov A.L.<sup>a</sup>, Sandzhiev D.N.<sup>b</sup>, Konusheva S.V.<sup>b</sup>, Savchenko S.P.<sup>b</sup>, Khasyikova B.A.<sup>b</sup>, Agapov B.L.<sup>c</sup>, Shcherbakova S.A.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

<sup>b</sup> Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Kalmykia, Elista, Russian Federation

<sup>c</sup> Astrakhan Plague Control Station, Astrakhan, Russia

**Abstract.** At present, the search for biomarkers, which indicate the presence of tense antiplague immunity, is continuing. The aim of the study was to determine the parameters of cellular and humoral immunity in persons vaccinated with the plague vaccine according to epidemiological indications and to characterize the correlation interrelations between them in the dynamics of the antiplague response formation. Blood samples from 114 people living in the territory of the Pre-Caspian sandy natural plague foci were investigated. Using commercial kits, the production of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  (Vector-Best, Russia) IL-17A (eBioscience, Austria), immunoglobulins IgG, IgM, IgA (Vector-Best, Russia) was determined on the enzyme immunoassay analyzer LAZURIT (Dynex Technologies, США). Blood leukocyte immunophenotyping was carried out using fluorochrome-labeled monoclonal antibodies Cyto-Stat CD45-FITC, CD4-PE, CD8-ECD, CD3-PC5 (Beckman Coulter, США) on the CyAn ADP DakoCytomation flow cytometer (Denmark). Obtained data analysis revealed a number of differences in the production of detectable cytokines (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-17) between groups of vaccinated and first-vaccinated people. However, human blood cells, regardless of the multiplicity of the graft, retained their functional reactivity and were able to actively secrete the majority of the analyzed cytokines (8 of 10) in response to stimulation with concanavalin A. Diagnostically significant changes in the concentration of IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  and IL-4 were detected for the characteristics of a specific antiplague response. For these marker cytokines, the greatest number of correlations have been revealed, both with each other and with changes in the level of other parameters: cytokines, immunoglobulins, T cells. The revealed multiple correlation links between the cytokine and immune status indices indicate the activation of both the cellular and humoral components of the antiplague immune response. The informative value of the complex analysis application of correlation interrelations between the humoral and cellular immunity parameters is shown to assess the level of immunological efficacy (actual vaccination) of vaccination in persons vaccinated against plague.

**Key words:** vaccination, cytokines, immunoglobulins, T cells, correlation, immune response.

## Введение

На фоне прогнозируемого неблагоприятного эпизоотологического прогноза по чуме на территории Прикаспийского песчаного природного очага [7] проводился комплекс противоэпидемических мероприятий, включающий массовый охват населения, проживающего на данной территории, профилактической иммунизацией согласно Приказу от 21 марта 2014 г. № 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям». Специфическую профилактику осуществляли вакциной чумной живой (ВЧЖ) из штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, опыт применения которой на протяжении более 70 лет демонстрирует ее высокую эффективность для защиты людей от бубонной формы чумы [17].

Учитывая ключевую роль клеточного иммунитета при чуме, важно знать защитные уровни

клеточных реакций у людей, формирующихся на ВЧЖ, что и определяет продолжающийся поиск биомаркеров, свидетельствующих о наличии напряженного противочумного иммунитета [3, 6]. Для многих вакцин (в том числе, ВЧЖ) решающее значение имеет оценка Т-клеточного звена иммунитета: определение количества и функционального состояния Th1-, Th2-, Т-регуляторных клеток, Т-клеток памяти, а также оценка продукции ассоциированных с этими клетками цитокинов [12]. Большое внимание уделяют изучению значения различных цитокинов в специфическом иммунном ответе при противочумной вакцинации [3, 5]. Цитокины — низкомолекулярные белки, которые продуцируются и секретируются преимущественно активированными клетками иммунной системы и участвуют в развитии иммунных реакций по клеточному или гуморальному типу. Иммунологические механизмы с участием Th1-, Th2-, Th17-клеток и продуцируемых этими кло-

нами регуляторных цитокинов при противочумной вакцинации являются ведущими, но недостаточно изученными [14, 18]. В этой связи перспективным является метод оценки функциональной активности клеток крови по спонтанной и митогенстимулированной продукции цитокинов, основанный на анализе супернатантов культур клеток крови после их кратковременного (суточного) культивирования с охарактеризованным индуктором. В последние годы в современной иммунодиагностике активно применяют метод *ex vivo* оценки, который позволяет характеризовать спонтанную продукцию цитокинов клетками крови, свидетельствующую о том, что клетки уже активированы *in vivo*, или индуцированную (*ex vivo*) в результате методических манипуляций, отражающую потенциальные функциональные возможности активации клеток [9]. Оптимальным для характеристики Т-клеточной активности является определение концентрации цитокинов в супернатантах культуры клеток при использовании в качестве охарактеризованного митогена конканавалина А (лектин, широко применяемый в иммунологии как Т-клеточный митоген), стимуляция которым позволяет создать условную модель реакции клеток на антигенное воздействие [4].

В иммунном ответе большое значение придается оценке реакции иммуноглобулинов (IgG, IgA и IgM), изменение концентрации которых, в совокупности с другими показателями, характеризует силу и направленность гуморального ответа на антиген.

Цель исследования — в динамике формирования специфического противочумного ответа определить ключевые показатели клеточного и гуморального иммунитета у лиц, вакцинированных ВЧЖ по эпидемическим показаниям, и охарактеризовать корреляционные взаимосвязи между ними.

## Материалы и методы

Обследованные лица составили 4 группы: I — 5 человек (впервые вакцинированные против чумы); II — 60 человек (однократно ревакцинированные); III — 31 человек (многократно ревакцинированные, более 3-х раз); IV — 18 человек (группа сравнения — не вакцинированные ВЧЖ).

От каждого участвующего в обследовании предварительно было получено письменное согласие на его проведение. Работа одобрена этическим комитетом при ФГБУ ВО Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского (протокол № 5 от 02.02.2016 г.). В работе использовали ВЧЖ производства ФКУЗ Ставропольский НИПЧИ (серия № 1-15, 12.03.2015–12.03.2018), представляющую собой лиофилизированную живую культуру вакцинного штамма чумного микро-

ба *Yersinia pestis* EV НИИЭГ со стабилизатором. Вакцинация проводилась подкожным способом в дозе  $3 \times 10^9$  микробных клеток в 0,15 мл в соответствии с инструкцией по применению препарата.

Для исследования кровь забирали из локтевой вены в объеме 9 мл до вакцинации (I, II, III, IV группы), а также через 1 и 6 месяцев после ее проведения (I, II и III группы). В работе были использованы пробирки, содержащие гепарин и активатор свертывания.

Для определения продукции цитокинов венозную кровь с антикоагулянтом (гепарин) разводили в соотношении 1:4 средой RPMI 1640 (ПанЭко, Россия), содержащей 100 мкг/мл гентамицина (ФГУП им. Н.А. Семашко, Россия). В качестве индуктора продукции цитокинов использовали стандартный Т-клеточный митоген конканавалин А (ПанЭко, Россия) в концентрации 15 мкг/мл. Опытные и контрольные образцы инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C. Затем клеточную суспензию осаждали центрифугированием при 400g в течение 15 мин, полученные образцы хранили до использования при –20°C.

Сыворотку получали из венозной крови, инкубированной в пробирках с Clot Activator «VACUTEST» при 37°C в течение 1 ч. После центрифугирования при 400g сыворотку крови отбирали в отдельные микропробирки и хранили до использования при –20°C.

Спонтанную и стимулированную конканавалином А продукцию цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов для определения IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), IL-17A (eBioscience, Австрия). В сыворотках крови определяли концентрации общих иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) согласно инструкциям компании-производителя. Исследования выполняли на автоматическом иммуноферментном анализаторе «LAZURIT» (Dynex Technologies, США) при длине волны 450 нм.

Имунофенотипирование лейкоцитов крови проводили с использованием четырехцветных реагентов меченых флуорохромами моноклональных антител Cyto-Stat CD45-FITC, CD4-PE, CD8-ECD, CD3-PC5 (Beckman Coulter, США). В микрообъемах гепаринизированной цельной крови устанавливали относительное количество суммарной популяции лимфоцитов Т-клетки (CD3<sup>+</sup>), Т-лимфоциты хелперы (Th, CD4<sup>+</sup>) и цитотоксические Т-лимфоциты (Tcyt, CD8<sup>+</sup>) на лазерном проточном цитометре CyAn ADP (Dako-Cytomation, Дания).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2016, Statistica 10.0 (StatSoft Inc., 2010).

Взаимосвязь между переменными определяли с помощью рангового корреляционного анализа по Спирмену. Корреляционные связи считали сильными при коэффициенте корреляции  $r = 0,7-1,0$ , умеренной (средней) силы — при  $r = 0,3-0,7$ , слабыми — при  $r = 0-0,3$ ,  $r$  с положительным знаком — прямая связь,  $r$  с отрицательным — обратная. Достоверность уровня различия сравниваемых величин оценивали с помощью парного  $t$ -критерия Стьюдента. Корреляцию считали достоверной при  $p \leq 0,05$ . Полученные данные представляли в виде медианы (Me) и квартильных отклонений (Q25; Q75).

## Результаты

Анализируемые 10 цитокинов по их биологическим функциям были отнесены к нескольким подгруппам (табл. 1). В то же время, учитывая полифункциональность многих цитокинов, а также возможность их продукции различными типами клеток, следует признать относительную условность такого разделения.

В ходе проведенного исследования установлено, что уровень изученных нами цитокинов у привитых против чумы лиц статистически значимо отличался от уровня не привитых. При исследовании Th1-ассоциированных цитокинов установлено, что через 1 месяц после очередной ревакцинации спонтанная продукция IFN $\gamma$  у всех привитых достоверно не отличалась от показателей в группе сравнения (рис. 1). Однако через 6 месяцев после прививки (II, III группы) было получено статистически достоверное снижение в среднем в 2,2 раза спонтанной продукции IFN $\gamma$  ( $p = 0,048$ ,  $p = 0,028$  соответственно). Достоверных изменений по показателям спонтанной продукции IL-2 в I и III группах во все

сроки исследования (до, через 1 и 6 месяцев после прививки) не наблюдалось, однако во II группе этот показатель был достоверно выше ( $p = 0,0000001$ ,  $p = 0,00002$ ,  $p = 0,000047$ ). Отмечено разнонаправленное изменение содержания Th2-ассоциированных цитокинов на поздних сроках (6 месяцев) после прививки (рис. 1). У привитых всех групп увеличивалась спонтанная продукция IL-10 ( $p = 0,047$ ,  $p = 0,0000001$ ,  $p = 0,00017$  соответственно) по отношению к аналогичным показателям у людей из группы сравнения. Противоположная тенденция наблюдалась по показателям IL-4, которые были достоверно снижены у всех привитых ВЧЖ в спонтанной продукции ( $p = 0,007$ ,  $p = 0,0418$ ,  $p = 0,0048$  соответственно). В группах привитых на ранних сроках (1 месяц) после прививки наблюдалось значительное снижение спонтанной продукции TNF $\alpha$  ( $p < 0,0001$ ), IL-1 $\beta$  ( $p < 0,000001$ ), IL-6 ( $p < 0,001$ ), IL-8 ( $p < 0,01$ ) в сравнении с аналогичными показателями непривитых лиц (рис. 2). Через 6 месяцев после прививки в III группе уровни TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$  также оставались достоверно сниженными в 2,1 ( $p = 0,0108$ ) и 2,5 ( $p = 0,0017$ ) раза соответственно. Показатели спонтанной продукции IL-6 и IL-8 в крови всех привитых значительно возрастали в среднем в 2,9 ( $p < 0,05$ ) и 16,4 ( $p < 0,001$ ) раза соответственно. Следует отметить различную реакцию провоспалительных цитокинов IL-17 и IL-18 в спонтанной продукции (рис. 1, 2). Если у всех привитых концентрация IL-17 к 6 месяцу исследования статистически достоверно возрастала ( $p < 0,005$ ), то концентрация IL-18 снижалась ( $p < 0,05$ )

Анализ полученных данных показал, что в продукции 6 цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-17) в группах ревакцинированных людей имеются отличия (рис. 1, 2) от по-

**Таблица 1. Классификация цитокинов по биологическим функциям [Симбирцев А.С., 2013]**

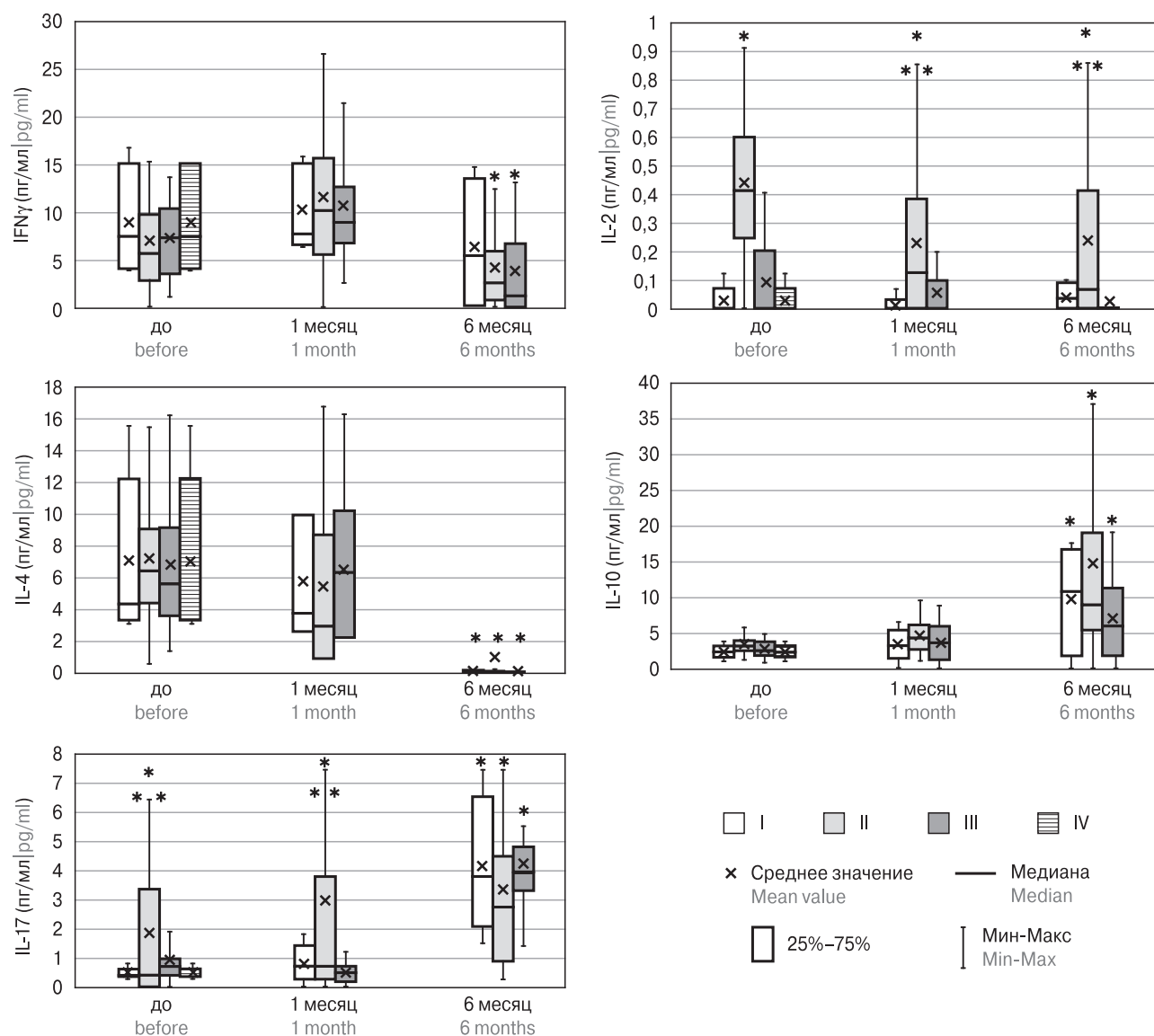
Table 1. Classification of cytokines by biological functions [Simbirtsev A.S., 2013]

Группа цитокинов Group of cytokines	Цитокины Cytokines	Основные биологические функции Basic biological functions
Th1	IFN $\gamma$	<b>Активация клеточного иммунитета</b> Activation of cellular immunity
	IL-2	
Th2	IL-4	<b>Активация гуморального иммунитета</b> Activation of humoral immunity
	IL-10	
Th17	IL-17A	<b>Активация синтеза провоспалительных цитокинов</b> Activation of the synthesis of proinflammatory cytokines
Провоспалительные цитокины Proinflammatory cytokines	TNF $\alpha$	<b>Провоспалительное действие, регуляция апоптоза и межклеточного взаимодействия иммунокомпетентных клеток</b> Proinflammatory action, regulation of apoptosis and intercellular interaction of immunocompetent cells
	IL-1 $\beta$	<b>Провоспалительное действие, активация специфического иммунитета</b> Proinflammatory effect, activation of specific immunity
	IL-18	
	IL-6	<b>Иммунорегуляторное действие</b> Immunoregulatory action
Хемокины Chemokines	IL-8	<b>Регуляция хемотаксиса различных типов лейкоцитов</b> Regulation of chemotaxis of different types of leukocytes

казателей в группе впервые вакцинированных. Выявленные отличия связаны с повышением спонтанной продукции IL-2 ( $p = 0,000003$ ), IL-17 ( $p = 0,044$ ) на ранних (1 месяц) сроках после ревакцинации у лиц II группы. При обследовании привитых через 6 месяцев установлено достоверное увеличение Кона-стимулированной продукции IL-4 ( $p = 0,000001$ ), IL-6 ( $p = 0,000001$ ) во II группе, при достоверном снижении во II и III группе TNF $\alpha$  ( $p = 0,0406$ ,  $p = 0,015$  соответственно), IL-1 $\beta$  ( $p = 0,0058$ ,  $p = 0,0189$  соответственно).

Для характеристики функциональной активности клеток, продуцирующих исследуемые цитокины, рассчитывали индекс стимуляции (ИС) — как отношение концентрации цитокинов в Кона-стимулированных культурах к уровню их спонтанной продукции. Были выявлены различия в способности Кона стимулировать продукцию цитокинов в крови людей в зависимости от кратности вакцинации (табл. 2).

Результаты показали, что ИС IL-6 увеличился у лиц II ( $p = 0,014$ ) и III групп ( $p = 0,003$ )



**Рисунок 1. Спонтанная продукция Th1-, Th2- и Th17-ассоциированных цитокинов в крови людей до и после введения вакцины чумной живой**

Figure 1. The spontaneous production of Th1, Th2 and Th17-associated cytokines in human blood before and after administration of the live plague vaccine

**Примечания.** I — впервые вакцинированные; II — однократно ревакцинированные; III — многократно ревакцинированные; IV — группа сравнения (не вакцинированные ВЧЖ); \* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в группе сравнения; \*\* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в I группе ( $p < 0,05$ ).

Notes. I — for the first time vaccinated; II — once-revaccinated; III — repeatedly revaccinated; IV — comparison group (not vaccinated); \* — reliability compared to the same indicator in the comparison group; \*\* — reliability compared to the same indicator in group I ( $p < 0.05$ ).

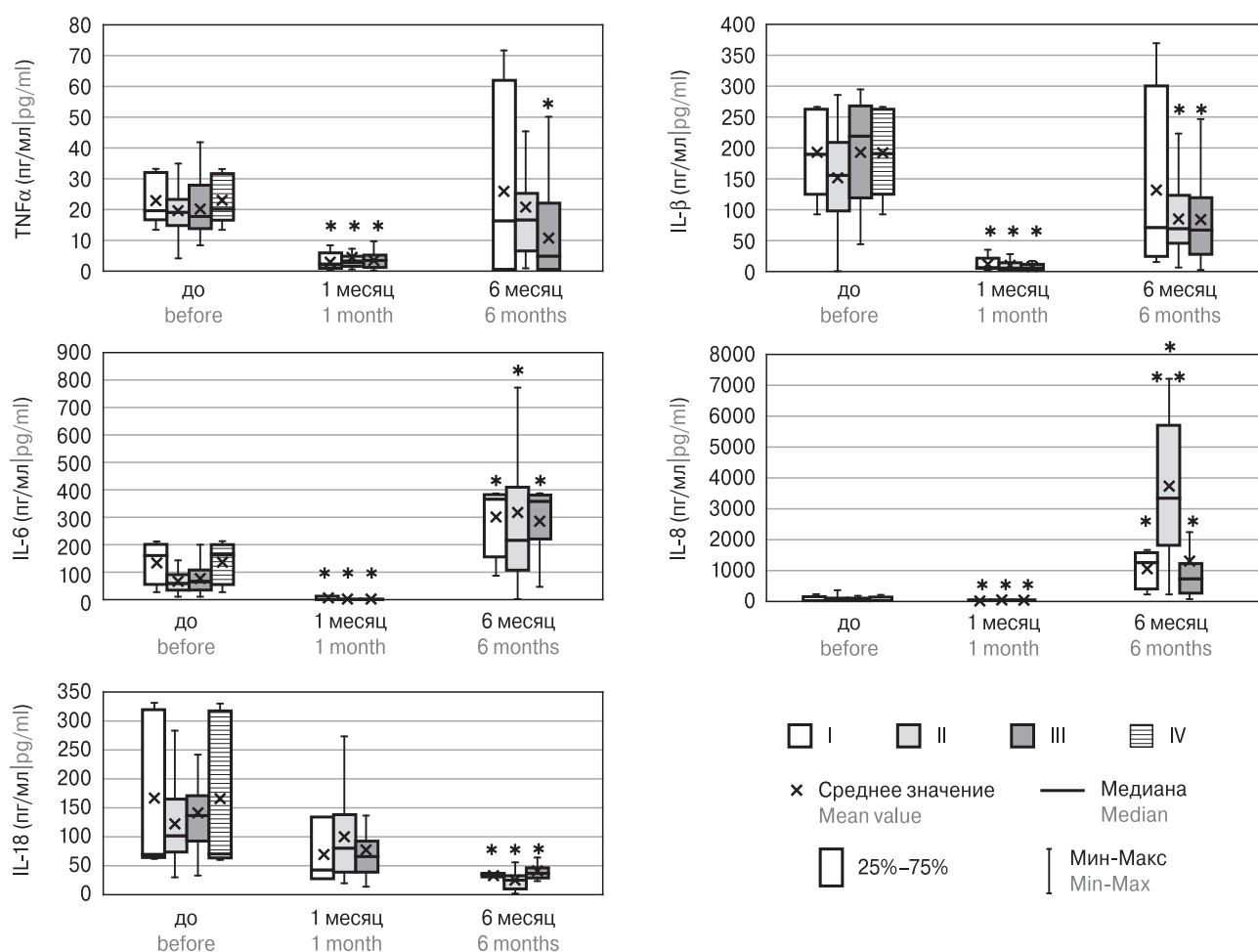
через 1 месяц после вакцинации по сравнению с показателями в I группе. Исследование через 6 месяцев позволило выявить у лиц II группы достоверное повышение ИС IL-6 ( $p = 0,003$ ), IL-4 ( $p = 0,047$ ), и IL-17A ( $p = 0,005$ ), а у лиц II и III групп — ИС IL-2 ( $p = 0,0039$ ,  $p = 0,015$  соответственно) и TNF $\alpha$  ( $p = 0,02$ ,  $p = 0,0059$  соответственно). Через 6 месяцев ИС IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-17 во всех группах значительно превышал ( $p < 0,05$ ) соответствующие значения в группе сравнения.

При оценке взаимосвязей между цитокинами ранговым анализом по Спирмену выявлены корреляционные зависимости до вакцинации в I группе между IFN $\gamma$  и IL-1 $\beta$  ( $r = -0,9$ ,  $p = 0,037$ ), IL-18 и IL-1 $\beta$  ( $r = 0,9$ ,  $p = 0,037$ ), во II группе — между IFN $\gamma$  и IL-4 ( $r = 0,717$ ,  $p < 0,00001$ ), IL-10

и IL-4 ( $r = 0,802$ ,  $p < 0,00001$ ), в III группе — между IFN $\gamma$  и IL-4 ( $r = 0,606$ ,  $p = 0,0002$ ), TNF $\alpha$  и IL-4 ( $r = 0,667$ ,  $p = 0,000041$ ).

Через 1 месяц обнаружены корреляции в I группе между IFN $\gamma$  и IL-1 $\beta$  ( $r = -0,9$ ,  $p = 0,037$ ), IL-10 и IL-1 $\beta$  ( $r = -0,9$ ,  $p = 0,037$ ), во II группе — между IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  ( $r = 0,612$ ,  $p = 0,00003$ ), IFN $\gamma$  и IL-10 ( $r = 0,639$ ,  $p < 0,00001$ ), TNF $\alpha$  и IL-10 ( $r = 0,574$ ,  $p = 0,00001$ ), IL-10 и IL-4 ( $r = 0,734$ ,  $p < 0,00001$ ), в III группе — между IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  ( $r = 0,758$ ,  $p < 0,00001$ ), IFN $\gamma$  и IL-10 ( $r = 0,786$ ,  $p < 0,00001$ ), TNF $\alpha$  и IL-10 ( $r = 0,836$ ,  $p < 0,00001$ ), IL-10 и IL-4 ( $r = 0,609$ ,  $p = 0,0001$ ).

Через 6 месяцев в I группе корреляционных зависимостей не выявлено. Корреляции выявлены во II группе между IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  ( $r = 0,788$ ,  $p < 0,00001$ ), IFN $\gamma$  и IL-4 ( $r = 0,573$ ,  $p = 0,000005$ ),



**Рисунок 2. Спонтанная продукция провоспалительных цитокинов в крови людей до и после введения вакцины чумной живой**

Figure 2. Spontaneous production of proinflammatory cytokines in human blood before and after administration of live plague vaccine

**Примечания.** I — впервые вакцинированные; II — однократно ревакцинированные; III — многократно ревакцинированные; IV — группа сравнения (не вакцинированные ВЧЖ); \* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в группе сравнения; \*\* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в I группе ( $p < 0,05$ ).

Notes. I — for the first time vaccinated; II — once-revaccinated; III — repeatedly revaccinated; IV — comparison group (not vaccinated); \* — reliability compared to the same indicator in the comparison group; \*\* — reliability compared to the same indicator in group I ( $p < 0,05$ ).

IFN $\gamma$  и IL-10 ( $r = 0,527$ ,  $p = 0,00004$ ), TNF $\alpha$  и IL-4 ( $r = 0,438$ ,  $p = 0,000864$ ), TNF $\alpha$  и IL-10 ( $r = 0,685$ ,  $p < 0,00001$ ), в III группе — между IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  ( $r = 0,643$ ,  $p = 0,0003$ ), IFN $\gamma$  и IL-4 ( $r = 0,509$ ,  $p = 0,003$ ), IFN $\gamma$  и IL-10 ( $r = 0,464$ ,  $p = 0,008$ ), TNF $\alpha$  и IL-4 ( $r = 0,455$ ,  $p = 0,009$ ), TNF $\alpha$  и IL-10 ( $r = 0,785$ ,  $p < 0,00001$ ). Таким образом, наибольшее число корреляционных связей обнаружено для IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-4 и IL-10.

Для определения сдвига функционального баланса в системе Th1/Th2 клеток использовали оценку соотношения концентраций биомаркеров Th1- и Th2-ассоциированных цитокинов — IFN $\gamma$ /IL-4. Уровень продукции IFN $\gamma$  используют в качестве показателя напряженности специфического (Th1) клеточного иммунного ответа [8], а IL-4 — гуморального иммунного ответа [5]. Анализ динамического равновесия в системе Th1 и Th2 показал, что в группе сравнения и I группе до вакцинации ВЧЖ у 60% обследованных лиц преобладал смешанный Th1- и Th2-тип иммунного ответа. Доля вакцинированных с преимущественно клеточным или гуморальным типом была схожей — 20 и 20% соответственно. Во II и III группах для 51,6 и 35% исследуемых было характерно развитие иммунного ответа по клеточному типу, 35,5 и 51,6% — гуморальному, а у 12,9 и 13,3% — смешанному. Через 1 месяц после ревакцинации установлено повышение активности Th1, что сопровождается увеличением синтеза IFN $\gamma$ . Через 6 месяцев тенденция преобладания биомаркера клеточного иммунного ответа сохраняется. В этот срок в среднем у 89,9% обследованных лиц происходило резкое снижение выработки IL-4 и, соответственно, увеличение соотношения IFN $\gamma$ /IL-4.

При сравнительном анализе показателей основных классов иммуноглобулинов в сыворотках крови людей установлено (рис. 3), что через 1 месяц после прививки у лиц II и III группы уровень IgG превосходил показатели группы сравнения ( $p = 0,003$  и  $p = 0,00028$  соответственно), а через 6 месяцев — у лиц III группы ( $p = 0,000001$ ).

Отмечены различия в продукции иммуноглобулинов между группами. Показано, что через 1 месяц у лиц II группы уровень IgG был в 1,4 раза выше ( $p = 0,0487$ ), а в III группе — IgG ( $p = 0,012$ ) в 1,5 раза и IgA ( $p = 0,0263$ ) в 1,8 раза превышали показатели I группы. Через 6 месяцев уровень IgG у лиц III группы в 1,5 раза превышал ( $p = 0,0007$ ) аналогичный показатель I группы. Следует отметить, что уровни IgG, IgM и IgA варьировали в пределах референсных значений (5,3–17,0; 0,5–3,0 и 0,8–4,0 мг/мл соответственно).

В ходе рангового анализа до вакцинации обнаружена достоверная корреляционная зависимость умеренной силы во II группе между IgM и IgA ( $r = 0,566$ ,  $p = 0,000002$ ), в III группе — между IgG и IgM ( $r = 0,512$ ,  $p = 0,0031$ ). Через 1 ме-

**Таблица 2. Индекс стимуляции (ИС) цитокинов в крови людей, вакцинированных против чумы**  
Table 2. Index of stimulation (IC) of cytokines in the blood of people vaccinated against plague

Цитокин	ИС, Ме (Q25;Q75)															
	До вакцинации/Before vaccination						Срок забора крови/Term of blood sampling									
	I		II		III		IV		I		II		III		6 месяцев/6 months	
IFN $\gamma$	1,0 (0,89;1,38)	1,06 (0,67;1,53)	1,18 (0,78;1,42)	1,2 (0,83;1,06)	1,15 (0,92;1,45)	0,96 (0,61;1,65)	1,27 (0,88;1,72)	84,93 (54,8;365,77)**	111,2 (48,08;284,8)*	39,74 (32,1;69,89)*						
TNF $\alpha$	0,91 (0,83;1,07)	1,02 (0,88;1,2)	1,11 (0,96;1,29)	1,63 (0,89;1,28)	1,4 (1,07;2,26)	1,13 (0,84;1,39)	1,27 (0,68;1,63)	8,68 (5,19;12,27)**	9,7 (5,51;22,32)**	9,88 (7,62;35,5)**						
IL-1 $\beta$	0,98 (0,075;1,01)	1,19 (0,99;1,35)	1,16 (1,01;1,33)	0,94 (0,06;0,7)	1,24 (0,65;1,81)	1,15 (0,71;1,91)	1,95 (1,0;2,55)	1,06 (1,0;12,86)	1,02 (0,54;2,53)	1,44 (1,07;3,67)						
IL-2	0,82 (0,66;1,37)	1,03 (0,85;1,22)	0,82 (0,34;1,25)	0,92 (0,7;1,23)	1,53 (0,81;2,25)	1,67 (0,84;2,83)	1,67 (0,9;3,83)	255,07 (225,71;284,44)**	285,18 (137,93;570,89)**	315,0 (279,7;529,0)**						
IL-4	0,73 (0,43;0,99)	1,0 (0,74;1,3)	0,89 (0,75;1,02)	0,89 (0,51;0,83)	1,18 (1,04;1,4)	0,86 (0,69;1,21)	1,02 (0,45;1,51)	9,52 (4,64;69,7)**	18,05 (1,75;109,72)**	2,67 (1,67;17,77)*						
IL-6	1,17 (1,12;1,21)	1,27 (1,14;1,45)	1,25 (0,91;1,56)	1,42 (1,34;1,56)	0,07 (0,03;0,12)	1,05 (0,47;3,12)	3,15 (0,93;23,65)**	1,0 (0,97;2,69)	2,38 (1,6;6,43)**	1,03 (1,03;1,72)						
IL-8	1,6 (1,18;2,08)	1,13 (1,05;1,22)	1,28 (1,12;1,46)	2,1 (1,16;2,38)	0,72 (0,71;0,96)	1,06 (0,91;3,5)	1,08 (0,91;1,82)	4,95 (4,05;16,12)	1,92 (1,1;3,43)	7,36 (4,92;17,12)**						
IL-10	1,04 (0,89;1,16)	1,03 (0,93;1,21)	0,85 (0,73;1,16)	1,44 (0,83;1,22)	1,22 (1,17;1,63)	0,96 (0,82;1,21)	1,14 (0,79;1,6)	8,4 (6,71;12,28)**	5,56 (2,85;9,76)**	7,05 (3,48;10,88)**						
IL-17A	1,0 (0,87;3,46)	0,9 (0,68;1,08)	1,28 (1,02;1,6)	1,3 (0,97;2,16)	0,8 (0,22;2,33)	1,3 (0,9;1,57)	2,0 (1,1;3,7)	30,74 (14,29;52,82)**	54,77 (31,73;98,56)**	32,43 (16,21;42,81)**						
IL-18	0,79 (0,75;0,96)	0,96 (0,84;1,14)	0,98 (0,82;1,12)	0,99 (0,8;1,0)	1,17 (0,99;1,31)	0,92 (0,78;1,02)	1,05 (0,91;1,3)	1,03 (0,98;1,08)	1,17 (0,88;1,86)	1,01 (0,96;1,11)						

**Примечания.** I — впервые вакцинированные; II — однократно ревакцинированные; III — многократно ревакцинированные; IV — группа сравнения (не вакцинированные ВЧЖ); \* - достоверность по сравнению с аналогичным показателем в группе сравнения; \*\* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в I группе ( $p < 0,05$ ).  
Notes. I — for the first time vaccinated; II — once-revaccinated; III — repeatedly revaccinated; IV — comparison group (not vaccinated); \* — reliability compared to the same indicator in the comparison group; \*\* — reliability compared to the same indicator in group I ( $p < 0,05$ ).

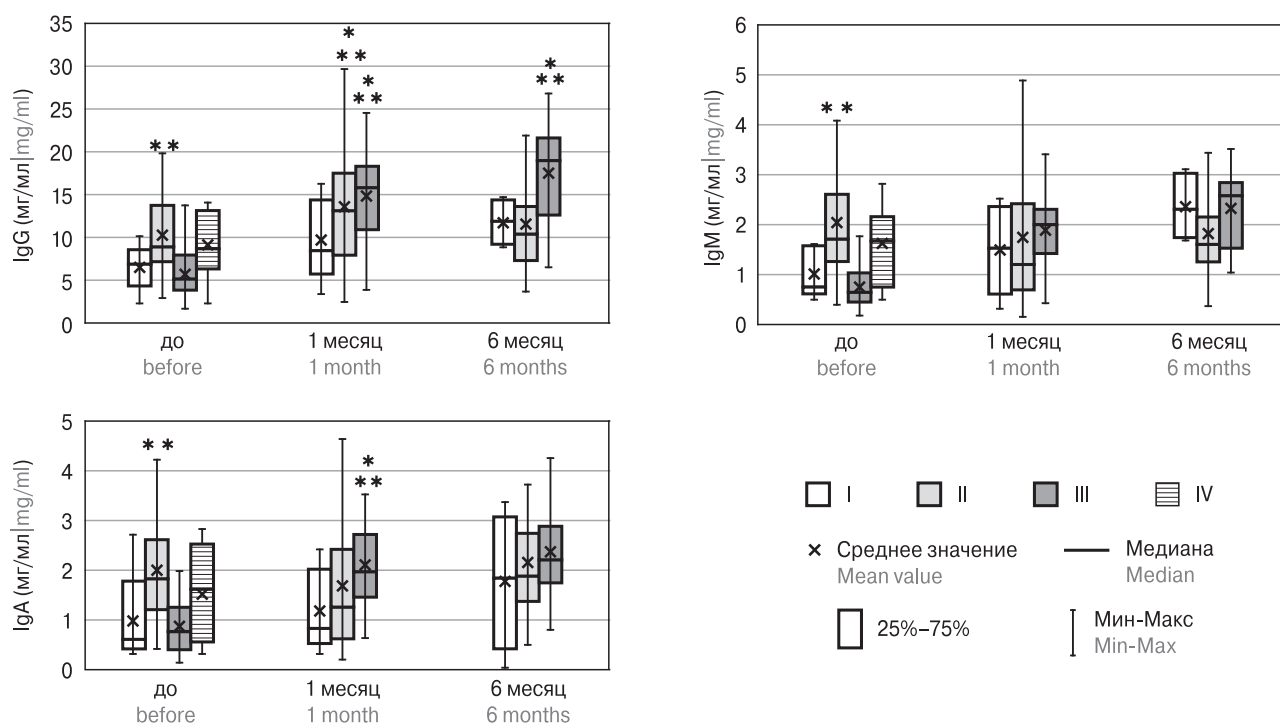
сяц после ревакцинации корреляция умеренной силы выявлена во II группе между IgM и IgA ( $r = 0,518$ ,  $p = 0,00013$ ). Через 6 месяцев корреляций не обнаружено.

Определенные корреляционные взаимоотношения были выявлены между цитокинами и иммуноглобулинами. Через 1 месяц после вакцинации в I группе определялась корреляционная зависимость между  $IFN\gamma$  и IgG,  $IFN\gamma$  и IgM ( $r = 0,9$ ,  $p = 0,037$ ), в III группе — между IL-6 и IgG ( $r = 0,637$ ,  $p = 0,00013$ ),  $IFN\gamma$  и IgM ( $r = 0,479$ ,  $p = 0,0063$ ), IL-6 и IgA ( $r = 0,402$ ,  $p = 0,0246$ ), IL-8 и IgA ( $r = 0,366$ ,  $p = 0,0428$ ). На поздних сроках иммунного ответа (6 месяцев) умеренная степень корреляционного взаимодействия выявлялась во II группе между IL-2 и IgG ( $r = 0,323$ ,  $p = 0,017$ ), IL-4 и IgG ( $r = -0,431$ ,  $p = 0,0011$ ), в III группе — между  $IFN\gamma$  и IgA ( $r = -0,454$ ,  $p = 0,017$ ). По итогам данного анализа наибольшее число выявленных корреляционных взаимосвязей установлено для  $IFN\gamma$  и IgG.

Методом проточной цитофлуориметрии было проведено определение относительного содержания субпопуляций Т-клеток в крови лиц до и после применения ВЧЖ (табл. 3). Через 1 ме-

сяц у всех привитых отмечено повышение количества Т-лимфоцитов хелперов ( $CD4^+$ ) по сравнению с аналогичными показателями в группе сравнения (соответственно  $p = 0,02$ ,  $p = 0,0002$ ,  $p = 0,0018$ ). Кроме того, через 1 месяц после прививки количество Т-клеток ( $CD3^+$ ) во II ( $p = 0,0128$ ) и III группах ( $p = 0,0015$ ) достоверно превосходило аналогичные показатели, зарегистрированные через 6 месяцев после прививки.

Далее был установлен ряд зависимостей между содержанием Т-клеток и концентрациями цитокинов. В I группе до и через 1 месяц после вакцинации установлена обратная корреляционная зависимость между IL-1 $\beta$  и  $CD8^+$  Т-лимфоцитами ( $r = -0,9$ ,  $p = 0,037$ ). Корреляционная связь умеренной силы выявлена во II группе между IL-1 $\beta$  и  $CD4^+$  Т-лимфоцитами до вакцинации ( $r = 0,368$ ,  $p = 0,0418$ ) и через 1 ( $r = -0,339$ ,  $p = 0,049$ ), 6 месяцев ( $r = 0,310$ ,  $p = 0,0223$ ) после вакцинации, а также в III группе до вакцинации ( $r = -0,424$ ,  $p = 0,019$ ). Обнаружена взаимосвязь между IL-4 и  $CD3^+$  Т-лимфоцитами до вакцинации в I группе ( $r = -0,900$ ,  $p < 0,037$ ), через 6 месяцев — во II ( $r = -0,317$ ,  $p = 0,0192$ ) и III группах ( $r = -0,535$ ,  $p = 0,0247$ ).



**Рисунок 3. Уровень основных классов иммуноглобулинов (IgG, IgM и IgA) у людей до и после введения вакцины чумной живой**

Figure 3. The level of the main classes of immunoglobulins (IgG, IgM and IgA) in humans before and after the introduction of live plague vaccine

**Примечания.** I — впервые вакцинированные; II — однократно ревакцинированные; III — многократно ревакцинированные; IV — группа сравнения (не вакцинированные ВЧЖ); \* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в группе сравнения; \*\* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в I группе ( $p < 0,05$ ).

Notes. I — for the first time vaccinated; II — once-revaccinated; III — repeatedly revaccinated; IV — comparison group (not vaccinated); \* — reliability compared to the same indicator in the comparison group; \*\* — reliability compared to the same indicator in group I ( $p < 0,05$ ).



**Таблица 3. Относительное содержание субпопуляций Т-клеток в крови лиц, привитых против чумы**  
 Table 3. The relative content of T-cell subpopulations in the blood of persons vaccinated against the plague

Группа Group	Срок после вакцинации в месяцах Term after vaccination in months	Исследуемый показатель, % (M±m) The indicator studied, % (M±m)		
		Th (CD4 <sup>+</sup> )	Tcvt (CD8 <sup>+</sup> )	Т-клетки (CD3 <sup>+</sup> ) T-cells (CD3 <sup>+</sup> )
I	0	34,004±3,1	30,89±2,31	68,58±4,12
	1	43,308±3,04*	25,502±1,52	70,98±3,9
	6	35,73±5,57	24,92±2,91	64,32±5,18
II	0	40,64±0,89	26,46±0,84	70,347±1,23
	1	44,59±0,96*	27,83±1,46	72,66±2,05**
	6	39,01±0,99	29,31±0,85	66,87±1,0
III	0	38,85±1,61	26,41±1,4	68,07±1,78
	1	43,43±1,43*	24,55±1,34	71,32±1,76**
	6	37,507±1,8	23,825±2,35	62,51±1,99
IV	0	33,06±2,8	29,76±2,03	67,43±3,74
<b>Референтные границы нормы от производителя моноклональных антител</b> Reference norm limits from the manufacturer of monoclonal antibodies		35–50	25–35	58–85

**Примечания.** I — впервые вакцинированные; II — однократно ревакцинированные; III — многократно ревакцинированные; IV — группа сравнения (не вакцинированные ВЧЖ); \* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в группе сравнения; \*\* — достоверность по сравнению с аналогичным показателем в I группе ( $p < 0,05$ ).

Notes. I — for the first time vaccinated; II — once-revaccinated; III — repeatedly revaccinated; IV — comparison group (not vaccinated); \* — reliability compared to the same indicator in the comparison group; \*\* — reliability compared to the same indicator in group I ( $p < 0.05$ ).

Во все сроки исследования корреляционных зависимостей между показателями уровня иммуноглобулинов и реакцией Т-клеток не установлено.

## Обсуждение

Выявленное нами изменение содержания цитокинов у большинства людей свидетельствует об адекватной иммунной перестройке организма в ответ на введение ЖЧВ. Анализ полученных данных установил ряд отличий по продукции изученных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-17) между группами ревакцинированных и впервые вакцинированных людей. Выявленные отличия связаны с повышением спонтанной продукции Th1- (IL-2), Th17-ассоциированных цитокинов (IL-17) и КонА-стимулированной продукции Th2 (IL-4), а также провоспалительного цитокина IL-6 у однократно ревакцинированных лиц. Уменьшение стимулированной продукции провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), наблюдавшееся у людей однократно или многократно ревакцинированных, возможно свидетельствует о некотором снижении резервных возможностей для функциональной активации клеток иммунной системы (нейтрофилов, макрофагов) в ответ на многократное поступление антигена. В динамике продукции остальных четырех цитокинов (IFN $\gamma$ , IL-8, IL-10, IL-18), независимо от кратности прививки, существенных отличий не выявлено. Однако проведенные исследования показали, что клетки крови людей, независимо

от кратности применения ЖЧВ, сохраняют свою функциональную реактивность и, также как клетки у лиц впервые встречающихся с чумным микробом вакцинного штамма, способны активно секретировать большинство (8) из анализируемых нами цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-17A) в ответ на стимуляцию агонистом TLR2 — конканавалином А [16].

Существенное превышение концентрации IFN $\gamma$  по сравнению с IL-2 и TNF $\alpha$  при противочумной вакцинации обусловлено, вероятно, его выраженной полифункциональностью — противовирусная и иммуномодулирующая активность и обеспечение регуляции клеточной пролиферации [8]. В отличие от интерферонов I (IFN $\alpha/\beta$ ) и III (IFN $\lambda$ ) типов, продуцируемых различными клетками человеческого организма в основном в ответ на вирусную инфекцию, продукция IFN $\gamma$ , являющегося единственным представителем II типа интерферонов, специфична для активированных клеток иммунной системы: Th-1, цитотоксических лимфоцитов, натуральных киллеров и антигенпрезентирующих клеток. Кроме непосредственного действия на системы репродукции вирусов, IFN $\gamma$  является важным медиатором иммунитета, отражающим взаимосвязь между макрофагами и лимфоцитами, регуляцию клеточного и гуморального иммунитета, что позволяет отнести его к семейству иммунорегуляторных цитокинов.

При анализе группы Th2-ассоциированных цитокинов привлекло внимание значительное преобладание спонтанной и КонА-стимулированной продукции IL-10 над уровнем про-

дукции IL-4 в более поздний срок иммунного ответа (6 месяцев). Возможно, это обусловлено их однонаправленным характером стимуляции гуморального иммунитета или особенностями влияния на подавление активности провоспалительных цитокинов макрофагами для поддержания нормального баланса регуляции воспалительных процессов у здорового человека. Кроме того, IL-10 является ингибитором пролиферации Т-лимфоцитов, вызываемой аллергеном или митогеном в культуре мононуклеарных клеток, ингибирует синтез цитокинов моноцитами, вызывает дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки, подавляет синтез воспалительных цитокинов [4].

Повышение ИС Th1- (IFN $\gamma$ , IL-2), Th2- (IL-4, IL-10), Th17-ассоциированных цитокинов (IL-17), провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  свидетельствует об увеличении резервных функциональных возможностей клеток иммунной системы в ответ на ВЧЖ. Общим для IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-18 было отсутствие подъема ИС, что, вероятно, связано с общей направленностью их биологических функций [1].

Изначально высокие уровни IL-18, IL-1 $\beta$  и IL-4 до прививки ВЧЖ связаны как с про-, так и противовоспалительной активностью IL-18. Известно о плейотропных эффектах IL-18 в отношении многих типов клеток и его влиянии на секрецию различных по своей функциональной направленности медиаторов. Есть данные о стимулирующем действии IL-18 на продукцию провоспалительного IL-1 $\beta$  и противовоспалительного IL-4 [13].

Отличие в реакции иммуноглобулинов на первичное и повторное применение ВЧЖ, обусловлено более быстрым повышением уровня IgG. Эффекторные функции антител связаны с особенностями Fc-фрагментов и поэтому различаются у разных классов и подклассов иммуноглобулинов. На мембранах многих клеток, особенно лейкоцитов, экспрессированы рецепторы для Fc-фрагментов иммуноглобулинов — FcR [12]. Многие цитокины, такие как IFN $\gamma$ , G-CSF, TGF $\beta$ , стимулируют экспрессию и функции Fc $\gamma$ R, а IL-4, TNF $\alpha$  — угнетают. Таким образом, повышение количества общих иммуноглобулинов после ревакцинации свидетельствует об адекватном иммунном ответе на специфическую стимуляцию, сопровождающуюся выработкой антител, что указывает на развитие гуморального ответа в ответ на ВЧЖ. Наличие множественных корреляционных зависимостей между концентрацией в крови ряда цитокинов и иммуноглобулинов (IFN $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IgG, IgM, IgA) свидетельствует о развитии не только клеточного, но и гуморального иммунного ответа на ВЧЖ.

Согласно существующему представлению, тип иммунного ответа может быть классифицирован на основании продуцируемых специ-

фическими клетками Т-хелперами цитокинов. Т-хелперы 1 класса (Th-1) продуцируют IL-2, IFN $\gamma$  и координируют клеточный иммунный ответ. Т-хелперы 2 (Th-2) класса координируют, в основном, гуморальный иммунный ответ, продуцируя IL-4, IL-10, IL-13 и другие цитокины [11]. Увеличение продукции IFN $\gamma$  в ответ на вакцинацию свидетельствует о повышении активности Th1-клеток и активации клеточного звена противочумного иммунитета.

В ранее проведенных нами исследованиях были выявлены наиболее информативные цитокины-маркеры (IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ ) для оценки уровня противочумного клеточного иммунного ответа [3]. Опираясь на данные настоящего исследования к вышеперечисленным цитокинам можно отнести и IL-4. Именно эти цитокины (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-4) имеют наибольшее активирующее действие на иммунный ответ, коррелируя между собой, с концентрациями других цитокинов, иммуноглобулинов, Т-клетками. IFN $\gamma$  является важнейшим провоспалительным цитокином, продукция которого ассоциирована с активированными Т-лимфоцитами и натуральными киллерами (CD16 $^+$ ). TNF $\alpha$  считают одним из наиболее важных факторов защиты хозяина, ранним источником которого являются макрофаги, нейтрофилы и дендритные клетки. Основная функция IL-4 — это контроль пролиферации, дифференцировки и функций В-лимфоцитов, то есть антительного ответа.

Большинство из известных на сегодняшний день цитокинов ассоциированы с Т-клетками и другими клеточными типами (гранулоцитами, макрофагами, фибробластами, В-клетками). Продукция основной части цитокинов начинается после антигенной или митогенной стимуляции Т-клеток и является, таким образом, одним из показателей функциональной зрелости этих клеток. Однако некоторые цитокины продуцируются и наивными Т-клетками. Увеличение относительного количества CD4 $^+$  лимфоцитов у всех обследованных респондентов в ответ на прививку может свидетельствовать об активации хелперной популяции лимфоцитов, что согласуется с данными ранее проведенных исследований, отметивших значимое повышение Th1-лимфоцитов — клеток иммунологической памяти (CD45 $^+$ CD4 $^+$ CD62L $^-$ CD45RA $^-$ CD45RO $^+$ ) на ВЧЖ [2].

Наличие корреляционных взаимосвязей между IL-1 $\beta$ , IL-4, CD4 $^+$ , CD8 $^+$ , CD3 $^+$  указывает на формирование как провоспалительной, так и противовоспалительной составляющей при развитии противочумного иммунного ответа. Известно, что IL-1 $\beta$  является главным медиатором развития местной воспалительной реакции и острофазового ответа на уровне организма при вакцинации [10]. Кроме того, IL-1 $\beta$ , продуцируемый нейтрофилами, макрофагами, естественными киллерами, стимулирует врожденное звено

иммунитета, воздействуя на функциональную активность Т- и В-лимфоцитов. IL-4 является основным фактором в определении дифференцировки стимулированных антигеном наивных CD4<sup>+</sup> Т-клеток в Th2 [15]. Отсутствие взаимосвязей между количеством иммуноглобулинов и Т-клетками доказывает ведущую роль клеточного звена иммунной системы в формировании и реализации противочумного иммунитета.

Таким образом, характер выявленных взаимосвязей между рядом цитокинов, иммуноглобулинов и субпопуляциями Т-лимфоцитов свидетельствует об информативности применения корреляционного анализа для характеристики формирования поствакцинального противочумного иммунитета и оценки уровня иммунологической эффективности (фактической привитости) ВЧЖ.

## Список литературы/References

1. Белова О.В., Арион В.Я., Сергиенко В.И. Роль цитокинов в иммунологической функции кожи // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2008. № 1. С. 41–55. [Belova O.V., Arion V.Ya., Sergienko V.I. Role of cytokines in immunological function of the skin. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2008, no. 1, pp. 41–55. (In Russ.)]
2. Богачева Н.В., Крючков А.В., Дармов И.В., Воробьев К.А., Печенкин Д.В., Елагин Г.Д., Колесников Д.П. Экспериментальная оценка методом проточной цитофлюориметрии уровня клеточной иммунологической памяти у лиц, вакцинированных против чумы и сибирской язвы // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. № 11. С. 48–53. [Bogatcheva N.V., Kryutchkov A.V., Darmov I.V., Vorobiyev K.A., Petchenkin D.V., Elagin G.D., Kolesnikov D.P. The experimental evaluation with flow cytofluorimetry technique of the level of cellular immunologic memory in persons vaccinated against plague and anthrax. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2013, no. 11, pp. 48–53. (In Russ.)]
3. Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Хасыкова Б.А., Щербакова С.А. Оценка уровня гуморального и клеточного иммунитета после ревакцинации против чумы лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага // Медицинская иммунология. 2018. Т. 20, № 2. С. 241–250. [Klyueva S.N., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Sandzhiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Khasykova B.A., Shcherbakova S.A. Evaluation of humoral and cellular immunity level among persons living in the Caspian natural sandy focus territory after anti-plague revaccination. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, vol. 20, no. 2, pp. 241–250. doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-241-250 (In Russ.)]
4. Коненков В.И., Авдошина В.В., Ракова И.Г., Смольникова М.В., Гельфгат Е.Л. Комплексная оценка уровня ConA-индуцированной продукции цитокинов в культуре мононуклеарных клеток периферической крови здоровых лиц // Медицинская иммунология. 2006. Т. 8, № 4. С. 517–522. [Konenkov V.I., Avdoshina V.V., Rakova I.G., Smolninkova M.V., Gelfgat E.L. Multiplex evaluation of ConA-induced production of twelve cytokines in the cultures of mononuclear cells from peripheral blood of healthy subjects. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2006, vol. 8, no. 4, pp. 517–522. doi: 10.15789/1563-0625-2006-4-517-522 (In Russ.)]
5. Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Носков А.К., Мищенко А.И., Балахонov С.В. Оценка иммунологической эффективности вакцинации против чумы в активном природном очаге. Сообщение 1. Цитокиновый и иммуноглобулиновый статус // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017. Т. 16, № 2 (93). С. 45–49. [Korytov K.M., Voytkova V.V., Dubrovina V.I., Noskov A.K., Mishchenko A.I., Balakhonov S.V. Immunological Efficiency of Plague Vaccination in the Active Natural Focus. Report 1. Cytokine and immunoglobulin status. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2017, vol. 16, no. 2 (93), pp. 45–49. (In Russ.)]
6. Куличенко А.Н., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Ракитина Е.Л., Пономаренко Д.Г., Костюченко М.В. Использование антигенспецифических клеточных тестов in vitro для оценки формирования поствакцинального противочумного иммунитета // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 2. С. 203–208. [Kulichenko A.N., Abzaeva N.V., Gostischeva S.E., Rakitina E.L., Ponomarenko D.G., Kostuchenko M.V. Using the antigen-specific cell in vitro tests to assess the formation of post-vaccination immunity antiplague. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, vol. 7, no. 2, pp. 203–208. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-203-208 (In Russ.)]
7. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Безсмертный В.Е., Топорков В.П., Попов Н.В., Кабин В.В., Яшкулов К.Б., Бамматов Д.М., Ковтунов А.И., Санджиев Д.Н., Зенкевич Е.С., Гражданов А.К., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Шарова И.Н., Лопатин А.А., Григорьев М.П., Куличенко А.Н. Обеспечение эпидемиологического благополучия по чуме в условиях обострения эпизоотической обстановки в Прикаспийском песчаном природном очаге в 2014 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2015. № 4. С. 22–29. [Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Y.V., Pakskina N.D., Bezsmertny V.E., Toporkov V.P., Popov N.V., Kabin V.V., Yashkulov K.B., Bammatov D.M., Kovtunov A.I., Sandzhiev D.N., Zenkevich E.S., Grazhdanov A.K., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Sharova I.N., Lopatin A.A., Grigor'ev M.P., Kulichenko A.N. Provision of epidemiological welfare on plague under aggravation of epizootic situation in the Pre-Caspian sandy natural plague focus in 2014. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2015, vol. 4, pp. 22–29. doi: 10.21055/0370-1069-2015-4-22-29 (In Russ.)]
8. Луцкий А.А., Жирков А.А., Лобзин Д.Ю., Рао М., Алексеева Л.А., Мейерер М., Лобзин Ю.В. Интерферон-γ: биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа // Журнал инфектологии. 2015. Т. 7, № 4. С. 10–22. [Lutckii A.A., Zhirkov A.A., Lobzin D.Yu., Rao M., Alekseeva L.A., Maeurer M., Lobzin Y.V. nterferon-γ: biological function and application for study of cellular immune response. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2015, vol. 7, no. 4, pp. 10–22. doi: 10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22 (In Russ.)]

9. Рыжикова С.Л., Дружинина Ю.Г., Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А. Стандартизация методики определения продукции цитокинов клетками крови ex vivo // Клиническая лабораторная диагностика. 2011. № 11. С. 49–53. [Ryzhikova S.L., Druzhinina Yu.G., Ryabicheva T.G., Varaksin N.A. The standardization of technique of detection of blood cells cytokine production ex vivo. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2011, no. 11. pp. 49–53. (In Russ.)]
10. Симбирцев А.С. Интерлейкин-1: от эксперимента в клинику // Медицинская иммунология. 2001. Т. 3, № 3. С. 431–438. [Interleukin-1: from experiment to clinic. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2001, vol. 3, no. 3, pp. 431–438. (In Russ.)]
11. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал. 2013. Т. 13, № 3. С. 18–41 [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and noninfectious human diseases. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal = Medical Academic Journal*, 2013, vol. 13, no. 3, pp. 18–41. (In Russ.)]
12. Фрейдлин И.С. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функции // Медицинская иммунология. 2005. Т. 7, № 4. С. 347–354. [Freidlin I.S. Regulatory T-cells: origin and function. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2005, vol. 7, no. 4, pp. 347–354. doi: 10.15789/1563-0625-2005-4-347-354 (In Russ.)]
13. Якушенко Е.В., Лопатникова Ю.А., Сенников С.В. Интерлейкин 18 и его роль в иммунном ответе // Медицинская иммунология. 2005. Т. 7, № 4. С. 355–364. [Yakushenko E.V., Lopatnikova J.A., Sennikov S.V. IL-18 and immunity. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2005, vol. 7, no. 4, pp. 355–364. doi: 10.15789/1563-0625-2005-4-355-364 (In Russ.)]
14. Lin J.S., Kummer L.W., Szaba F.M., Smiley S.T. IL-17 contributes to cell-mediated defense against pulmonary *Yersinia pestis* infection. *J. Immunol.*, 2011, vol. 186, no. 3, pp. 1675–1684. doi: 10.4049/jimmunol.1003303
15. Silva-Filho J.L., Caruso-Neves C., Pinheiro A.A.S. IL-4: an important cytokine in determining the fate of T cells. *Biophys. Rev.* 2014, vol. 6, no. 1, pp. 111–118. doi: 10.1007/s12551-013-0133-z
16. Sodhi A., Tarang S., Kesharwani V. Concanavalin A induced expression of Toll-like receptors in murine peritoneal macrophages in vitro. *Int. Immunopharmacol.*, 2007, vol. 7, no. 4, pp. 454–463. doi: 10.1016/j.intimp.2006.11.014
17. Sun W., Roland K.L., Curtiss R. Developing live vaccines against *Yersinia pestis*. *J. Infect. Dev. Ctries*, 2011, vol. 5, no. 9, pp. 614–627.
18. Wang X., Wang Z., Guo Z., Wei B., Tian F., Yu S., Wang H., Wang H., Yang R. Serum cytokine responses in primary pneumonic plague patients. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2011, vol. 18, no. 1, pp. 184–186. doi:10.1128/CVI.00386-10

**Авторы:**

**Ключева С.Н.**, к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;

**Бугоркова С.А.**, д.м.н., зав. отделом иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;

**Гончарова А.Ю.**, к.м.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;

**Кравцов А.Л.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;

**Кудрявцева О.М.**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;

**Санджиев Д.Н.**, руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Калмыкия и Главный государственный санитарный врач по Республике Калмыкия, г. Элиста, Россия;

**Конушева С.В.**, зам. руководителя Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Калмыкия, заместитель главного государственного санитарного врача по Республике Калмыкия, г. Элиста, Россия;

**Савченко С.П.**, начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Калмыкия, г. Элиста, Россия;

**Хасыкова Б.А.**, заместитель начальника ТО «Северо-Восточный» Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Калмыкия в Черноземельском районе, г. Элиста, Россия;

**Агапов Б.Л.**, врио директора ФКУЗ Астраханская противочумная станция, г. Астрахань, Россия;

**Щербаклова С.А.**, д.б.н., зам. директора по научной и экспериментальной работе ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия.

**Authors:**

**Klyueva S.N.**, PhD (Biology), Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

**Bugorkova S.A.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

**Goncharova A.Yu.**, PhD (Medicine), Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

**Kravtsov A.L.**, PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

**Kudryavtseva O.M.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

**Sandzhiev D.N.**, Head of Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Kalmykia, Main State Sanitary Doctor of the Republic of Kalmykia, Elista, Russian Federation;

**Konusheva S.V.**, Deputy Head, Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Kalmykia, Deputy Main State Sanitary Doctor of the Republic of Kalmykia, Elista, Russian Federation;

**Savchenko S.P.**, Head of Epidemiological Surveillance, Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Kalmykia, Elista, Russian Federation;

**Khasykova B.A.**, Deputy Head of the Territorial Department "North-East", Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Kalmykia, Elista, Russian Federation;

**Agapov B.L.**, Temporary Duty Director, Astrakhan Plague Control Station, Astrakhan, Russian Federation;

**Shcherbakova S.A.**, PhD, MD (Biology), Deputy Director, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation.