

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, Н.И. Микшис,
А.Ю. Гончарова, С.Н. Ключева, С.А. Щербаклова

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Резюме. На территории Российской Федерации для иммунизации людей по эпидемическим показаниям используется живая аттенуированная вакцина, созданная на основе штамма *Y. pestis* линии НИИЭГ. Препарат характеризуется высокой эффективностью, однако колебания индивидуальных значений адаптивного иммунитета в ответ на вакцинацию диктуют необходимость установления генов, контролирующей вариативность иммунного ответа. Немаловажную роль в этом процессе играет полиморфизм генов HLA (Human Leukocyte Antigen). В ходе нашего исследования определены гаплотипы HLA II класса HLA-DRB1, HLA-DQA1 и HLA-DQB1 у 120 людей, проживающих на территории Прикаспийского природного очага чумы, иммунизированных против чумы. Выявлена корреляция групп аллелей HLA-DRB1*01 ($p = 0,03$), HLA-DRB1*03 ($p = 0,01$), HLA-DRB1*07 ($p = 0,01$) и HLA-DRB1*11 ($p = 0,05$) с продукцией цитокина IL-10. Корреляция с продукцией цитокина TNF α была выявлена у групп аллелей HLA-DRB1*04 ($p = 0,05$) и DRB1*12 ($p = 0,01$). Полученные результаты показывают, что полиморфизм генов HLA II класса может оказывать влияние на уровень секреции цитокинов в ответ на иммунизацию против чумы. Изучение генов, регулирующих продукцию факторов иммунитета, позволит улучшить понимание механизмов, лежащих в основе вариаций иммунного ответа после вакцинации, а также будет способствовать прогнозированию иммуногенности и эффективности разрабатываемых вакцинных препаратов.

Ключевые слова: специфическая профилактика чумы, полиморфизм генов HLA, иммунологическая эффективность.

AN ASSOCIATION BETWEEN PARAMETERS OF Th1 AND Th2 CELL-RELATED FUNCTIONAL ACTIVITY AND HLA GENE POLYMORPHISM IN INDIVIDUALS AFTER ANTI-PLAGUE VACCINATION

Kudryavtseva O.M., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Mikshis N.I., Goncharova A.Yu., Klyueva S.N., Shcherbakova S.A.

Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russian Federation

Abstract. In the Russian Federation, *Y. pestis* NIEEG strain-based live attenuated vaccine is used for immunization against plague on epidemiological indications, displaying high efficiency. However, individual fluctuations in adaptive immunity

Адрес для переписки:

Кудрявцева Ольга Михайловна
410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46,
ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (8452) 26-21-31 (служебн.). Факс: 8 (452) 51-52-12.
E-mail: 3030774@mail.ru; rusrap@microbe.ru

Contacts:

Olga M. Kudryavtseva
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46,
Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe».
Phone: +7 (8452) 26-21-31 (office). Fax: +7 (452) 51-52-12.
E-mail: 3030774@mail.ru; rusrap@microbe.ru

Библиографическое описание:

Кудрявцева О.М., Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Микшис Н.И.,
Гончарова А.Ю., Ключева С.Н., Щербаклова С.А. Ассоциация показателей
функциональной активности маркеров Th1 и Th2 иммунитета
с полиморфизмом генов HLA у лиц, вакцинированных против чумы //
Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 2. С. 315–324. doi: 10.15789/2220-
7619-2019-2-315-324

Citation:

Kudryavtseva O.M., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Mikshis N.I.,
Goncharova A.Yu., Klyueva S.N., Shcherbakova S.A. An association between
parameters of Th1 and Th2 cell-related functional activity and HLA gene
polymorphism in individuals after anti-plague vaccination // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2019, vol. 9, no. 2,
pp. 315–324. doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-315-324

after vaccination necessitate conducting a search for genes underlying variability of developing immune response. Of note, HLA (Human Leukocyte Antigen) gene polymorphism plays an important role in this process. In our study, we identified HLA class II haplotypes for HLA-DRB1, HLA-DQA1, and HLA-DQB1 in 120 residents of the territory of Pre-Caspian natural plague focus, who were immunized against plague. In addition, level of TNF α production correlated with detecting allelic groups HLA-DRB1*04 ($p = 0.05$) and DRB1*12 ($p = 0.01$). The data obtained show that HLA class II gene polymorphism can affect the level of cytokine secretion in response to plague immunization. Examining the genes regulating immune factor production will allow to get better insight into the mechanisms underlying immune response variations after vaccination as well as contribute to predicting immunogenicity and efficiency of developing vaccine preparations.

Key words: *specific plague prophylaxis, HLA gene polymorphism, immunological efficacy.*

Чума — острое инфекционное заболевание, относящееся к группе особо опасных карантинных инфекций (ООИ). Успехи, достигнутые в прошлом столетии в области профилактики и лечения ООИ позволяют стабильно поддерживать благополучную эпидемиологическую обстановку по заболеваемости чумой. Вместе с тем население, проживающее на территории природных очагов чумы в Российской Федерации, ежегодно подвергается риску заражения. Общая площадь участков, на которых в 2008–2017 гг. были выявлены эпизоотии чумы среди грызунов, составила более 1,9 тыс. км² [6]. Ситуация осложняется случаями заболевания чумой в сопредельных с Россией государствах, а также вероятностью завоза особо опасного инфекционного заболевания через транспортные и торговые потоки из стран Юго-Восточной Азии. Таким образом, при отсутствии санитарных противоэпидемических и профилактических мероприятий, чума может представлять реальную опасность и в настоящее время.

Согласно Национальному календарю профилактических прививок, в случае обострения эпидемиологической ситуации население Российской Федерации, проживающее на энзоотических по чуме территориях, подлежит вакцинации [5]. В качестве профилактического препарата используется вакцина чумная живая (ВЧЖ) на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, вызывающая развитие иммунитета длительностью до года. Плановым прививкам подлежат дети с 2 лет и взрослые, проживающие на энзоотических по чуме территориях, а также лица, работающие с живыми культурами возбудителя чумы.

При изучении функциональной активности клеточных и гуморальных факторов иммунитета у вакцинированных ВЧЖ людей наряду с общими тенденциями отмечают колебания индивидуальных показателей — продукции специфических антител (отсутствие 100% сероконверсии), цитокинового ответа, продолжительности периода сохранения иммунологической памяти и ряда других параметров [2, 7]. Принято считать, что иммунный ответ как результат активации или подавления IR-генов (Immune response genes) является тщатель-

но регулируемым процессом, формирующим иммунитет против инфекций. Полагают, что IR-гены входят в систему генов человеческого лейкоцитарного антигена (HLA — Human Leukocyte Antigen) главного комплекса гистосовместимости (МНС — Major Histocompatibility Complex) или тесно связаны с ней [24].

Несмотря на то что изучение влияния системы HLA на иммунный статус человека проводят уже более 20 лет, механизм этого взаимодействия полностью не изучен. Однако можно констатировать, что иммуногенетический статус влияет на эффективность специфического иммунного ответа, равно как и на характер течения самого заболевания, а исследование генетических маркеров повышает прогностическую ценность иммунологических исследований [2]. К настоящему времени выявлены ассоциации между особенностями HLA-фенотипа или гаплотипа и функциональной активностью защитных систем макроорганизма (иммуноглобулинов, цитокинов, компонентов комплемента и т.д.) [13, 20, 27]. Обнаружены популяционные и этнические особенности ассоциаций комплекса HLA с различными инфекционными заболеваниями, такими как острые респираторно-вирусные инфекции, вирусные гепатиты, а также бактериальные инфекции [10, 12, 26]. Однако поиск ассоциаций гаплотипов HLA с инфекционными заболеваниями усложнен, так как даже сформированные по признаку национальной принадлежности популяционные группы содержат разнообразный спектр вариантов генов HLA. Кроме того, необходимо помнить, что гены HLA — не единственный фактор, определяющий степень выраженности иммунного ответа, кроме него необходимо учитывать множество других предикторов, таких как пол, возраст, сопутствующие заболевания.

Ассоциация генов HLA с развитием специфического противочумного иммунитета в настоящее время является малоизученной областью. Связь между ответной реакцией организма на вакцинацию и фенотипом HLA была обнаружена при иммунизации вирусными вакцинами — против оспы, гриппа, кори, краснухи и эпидемического паротита [15, 17, 18, 23, 24]. Опубликованы данные по ассоциации между

различными гаплотипам HLA класса I (HLA-A) и класса II (HLA-DQA1 и HLA-DQB1) и клеточными иммунными реакциями у лиц, иммунизированных американской химической сибирезвеной вакциной AVA [19].

Целью нашего исследования было изучение полиморфизма генов MHC HLA класса II у лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы, вакцинированных (ревакцинированных) по эпидемическим показаниям ВЧЖ, и поиск ассоциаций HLA-гаплотипов с особенностями развития у них иммунных реакций.

Материалы и методы

Индикаторные группы. Клинические лабораторные исследования выполняли в соответствии с лицензией на медицинскую деятельность № ФС-64-01-001706 от 05.03.2015 г., выданной Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития, на осуществление медицинской деятельности РосНИПЧИ «Микроб».

В исследовании приняли участие 120 добровольцев (44 мужчины и 76 женщин), проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы: город Астрахань — 40 человек (25 мужчин и 15 женщин), Республика Калмыкия (жители Лаганского и Черноземельского районов) — 80 человек (19 мужчин и 61 женщина). Медиана возраста составила 40 (33; 47) лет. Критерием включения в исследование было отсутствие противопоказаний к вакцинации ВЖЧ, а также возраст от 18 до 60 лет. Предварительно было проведено анкетирование людей индикаторной группы, от каждого волонтера было получено информированное согласие для участия в исследовании.

Иммунизация вакциной живой чумной. Все исследуемые лица были вакцинированы ВЧЖ (лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, накожного скарификационного нанесения и ингаляций, производство ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, серии 2–16 и 3–15), однократно накожно в дозе $2,4 \times 10^9$ живых микробных клеток в 0,15 мл (в соответствии с инструкцией по применению). Вакцинацию осуществляли в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами «Профилактика чумы» СП 3.1.7.2492-09.

Взятие и транспортировка крови для исследования. Взятие крови у лиц, подлежащих вакцинации (ревакцинации) ВЖЧ, проводили до и через 1, 6 и 12 месяцев после иммунизации ВЧЖ. Манипуляции по забору крови выполнял сертифицированный персонал медицинской организации, имеющей лицензию

на этот вид медицинской деятельности в соответствии с инструкцией по забору биологического материала для исследования иммунного статуса человека (Приказ Минздрава РФ № 380 от 25.12.97). В соответствии со стандартом ГОСТ Р 53079.4-2008 забор венозной крови осуществляли в вакуумные пробирки Vacutest K1MA (Италия), содержащие антикоагулянт (гепарин 20 МЕ на мл или К3ЭДТА 3,6 мг).

Получение проб для определения спонтанной и митогениндуцированной продукции маркерных цитокинов, их транспортировка и хранение. Для оценки уровня 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 один из опытных образцов вносили T-клеточный митоген конканавалин А (Sigma, США), в концентрации 15 мкг/мл, в контрольный — физиологический раствор. Опытный и контрольный образцы инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C. Далее клетки осаждали центрифугированием при 1500 об./мин (400g) в течение 15 мин. Полученные супернатанты замораживали, и хранили до исследования при температуре –20°C. Для количественного определения маркерных цитокинов IFN γ , TNF α , IL-4, IL-10 и IL-17 использовали сертифицированные наборы реагентов (Вектор-Бест, Россия или eBioscience, Австрия) в соответствии с инструкцией по их применению. Учет результатов осуществляли на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Lazurite» (Dynex Technologies Inc., США).

Типирование генов гистосовместимости человека (HLA) II класса DRB1, DQA1 и DQB1 методом амплификации ДНК. Для исследования использовали венозную кровь человека с антикоагулянтом К3-ЭДТА. ДНК выделяли с помощью сертифицированного комплекта реагентов «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» (ДНК-Технология, Россия) в соответствии с инструкцией по применению. Типирование генов главного комплекса гистосовместимости проводили методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе ДТ-Прайм (ДНК-Технология, Россия) с применением комплектов реагентов HLA-ДНК-ТЕХ для детекции аллелей локусов DQA1, DQB1 и DRB1 (ДНК-Технология, Россия).

Статистические методы исследования. Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью стандартного пакета прикладных программ «Statistica 10.0 (StatSoft Inc.)», в котором использовали модуль непараметрической ранговой корреляции Спирмена (Spearman, r) и дисперсионный анализ. Характер зависимости между аллельным полиморфиз-

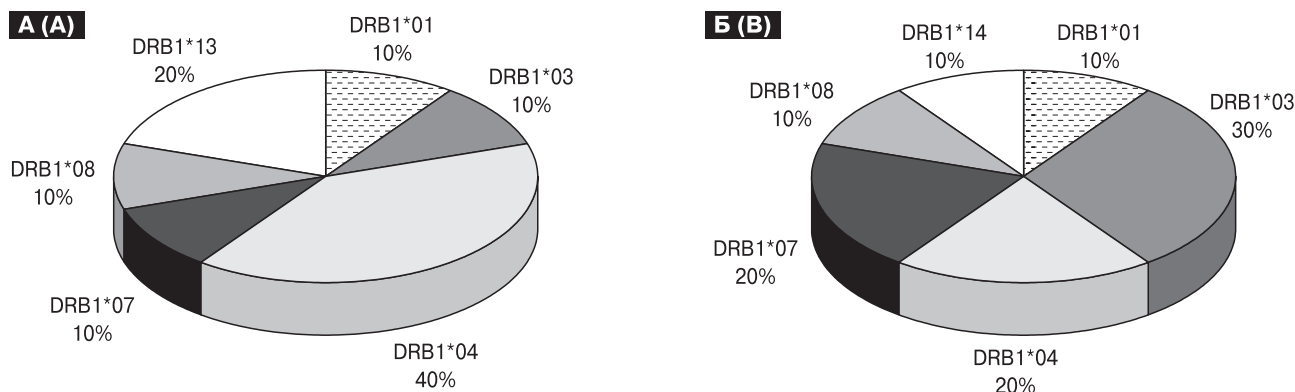


Рисунок 1. Соотношение аллелей локуса HLA-DRB1 у вакцинированных ВЧЖ людей в Лаганском (А) и Черноземельском (Б) районах Республики Калмыкия, %, n = 20

Figure 1. HLA-DRB1 locus allele ratio in individuals vaccinated with live-attenuated vaccine in the Lagansky (A) and Chernozemelsky (B) regions of the Republic of Kalmykia, %, n = 20

мом локусов HLA и продукцией цитокинов определяли методом регрессионного анализа. Интервальную оценку коэффициента корреляции (доверительный интервал) отображали линейным уравнением регрессии. Корреляцию считали достоверной при $p \leq 0,05$. Аллели генов HLA группировали в гаплотипы и суммировали с использованием медиан и межквартильных диапазонов.

Результаты

Нами были определены гаплотипы MHC класса II: HLA-DRB1, HLA-DQA1 и HLA-DQB1 улиц, вакцинированных (ревакцинированных) по эпидемическим показаниям ВЧЖ среди жителей Лаганского (г. Лагань) и Черноземельского (п. Артезиан) районов Республики Калмыкия и города Астрахань. На начальных этапах в исследовании приняли участие 20 человек (17 женщин и 3 мужчин, в возрасте от 24 до 53 лет, проживающих г. Лагань и п. Артезиан. Медиана

возраста составила 46,3 (41–50,5) лет. Основная часть группы (85%) была представлена калмыками, но среди обследованных были русские (10%) и татары (5%).

В ходе экспериментов по определению гаплотипов HLA класса II была выявлена разница в распределении аллельных вариантов локуса DRB1 по районам проживания. Из 13 предполагаемых вариантов в Лаганском районе преобладала группа аллелей DRB1*04, в Черноземельском — DRB1*03. Реже встречались группы DRB1*01, *08, *07, *13 и *14 (рис. 1).

Для характеристики иммунологической перестройки в организме иммунизированных ВЧЖ лиц проводили оценку уровней продукции Th1- (IFN γ , TNF α), Th2- (IL-4, IL-10) и Th17- (IL-17) ассоциированных цитокинов. Было отмечено, что продукция цитокинов в исследованных группах различалась по районам проживания. Через 1 месяц после второй ревакцинации у респондентов из Черноземельского района отмечали более высокие уровни про-

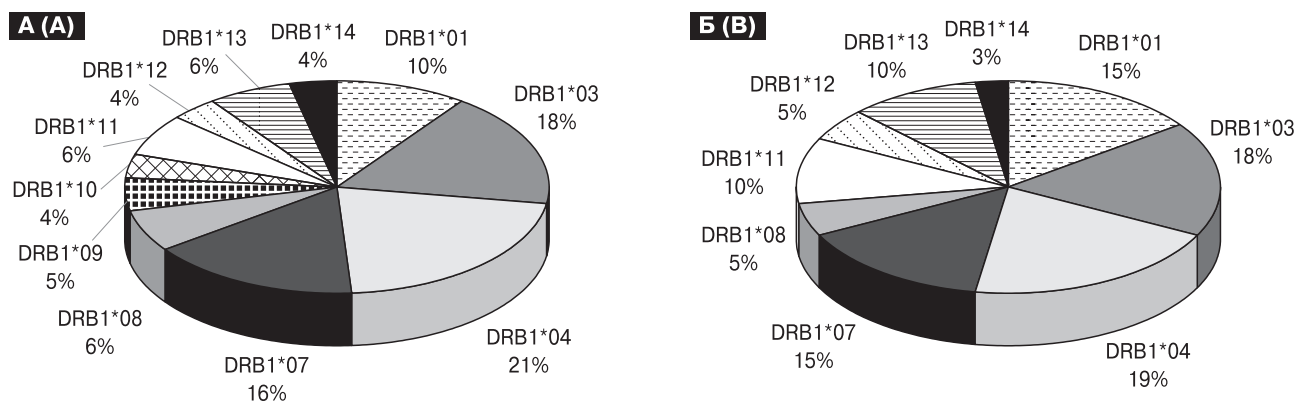


Рисунок 2. Соотношение аллелей локуса HLA- DRB1 у вакцинированных людей в Черноземельском районе Республики Калмыкия (А) и в г. Астрахань (Б), %, n = 100

Figure 2. HLA-DRB1 locus allele ratio in individuals vaccinated in the Chernozemelsky region of the Republic of Kalmykia (A) and in City of Astrakhan (B), %, n = 100

дукции IL-4 и IFN γ . В эти же сроки у жителей Лаганского района отмечали более высокие уровни продукции TNF α и IL-10 [4].

Дальнейшая работа по изучению связи полиморфизма генов MHC HLA II класса с продукцией Th1- и Th2-ассоциированных цитокинов при вакцинации ВЧЖ предполагала расширение охвата обследуемых лиц. На следующем этапе в исследовании приняли участие еще 60 человек из Черноземельского района Республики Калмыкия и 40 человек из города Астрахань, вакцинированных ВЧЖ по эпидемическим показаниям. Общее число волонтеров составило 120 человек, 80 из которых — жители Лаганского и Черноземельского районов Калмыкии и 40 человек — жители города Астрахань. Основная группа была представлена калмыками (50%), русскими (22,5%) и казахами (15,8%), присутствующие среди обследованных лиц татары, даргинцы, кумыки, армяне составляли от 1 до 5%.

В результате типирования по 13 группам аллелей гена HLA-DRB1 у жителей Черноземельского района чаще других были отмечены аллели HLA-DRB1*04, *03, *07, *01. У жителей города Астрахани данные группы аллелей также встречались чаще других, примерно в том же соотношении (рис. 2).

При проведении комплексного иммунологического исследования не было отмечено значительной разницы между показателями Th1- (IFN γ , TNF α), Th2- (IL-4, IL-10) и Th17- (IL-17) ассоциированных цитокинов у обследованных людей как в Республике Калмыкия, так и в г. Астрахань.

При анализе связей гаплотипов HLA DRB1-DQA1-DQB1 с продукцией Th1- и Th2-ассоциированных цитокинов была выявлена корреляция ($r = 0,44$) продукции цитокина IL-10 с группами аллелей гена HLA-DRB1 у жителей Астрахани ($p = 0,0049$). Также нами была выявлена корреляция групп аллелей гена HLA-DRB1 с уровнем продукции цитокина TNF α , ($r = 0,45$) с достоверностью $p = 0,0005$ у всех обследуемых лиц. Скрининг продукции IFN γ , IL-4 и IL-17 не позволил выявить статистически достоверной взаимосвязи с гаплотипами HLA-DRB1-DQA1-DQB1.

На следующем этапе проводили более детальный анализ ассоциации аллелей локусов HLA II класса с продукцией цитокинов IL-10 и TNF α . Корреляция наблюдаемого уровня IL-10 была выявлена с группами аллелей HLA-DRB1*01 ($p = 0,03$), HLA-DRB1*03 ($p = 0,01$), HLA-DRB1*07 ($p = 0,01$) и HLA-DRB1*11 ($p = 0,05$) (табл.).

Среди указанных групп аллелей более высокая продукция IL-10 наблюдалась у лиц с гаплотипами HLA-DRB1*0104-DQA1*0101,0301-

DQB1*0501 ($Me = 83,4$), HLA-DRB1*0315-DQA1*01,0501-DQB1*02 ($Me = 26,5$).

Детальный анализ корреляционных связей выявил ассоциацию групп аллелей HLA-DRB1*04 с продукцией цитокина TNF α ($p = 0,05$). Значения TNF α у этой группы в среднем были выше, чем у остальных волонтеров ($Me = 17,4$). Группа аллелей HLA-DRB1*12 ассоциировалась ($p = 0,01$) с несколько меньшей продукцией TNF α ($Me = 12,8$).

Обсуждение

Ключевым маркером формирования противочумного иммунитета является активация клеточного звена иммунной системы. Ситуацию *in vivo* наиболее адекватно отражает активация различных типов иммунокомпетентных клеток, продуцирующих ряд биомаркерных цитокинов. Изменение характера секреции цитокинов позволяет получить информацию о формировании иммунного ответа по Th1-, Th2- или смешанному типу. Однако необходимо помнить, что первичный иммунный ответ начинается с образования комплекса Т-зависимого антигенного пептида и HLA-рецептора на поверхности антигенпрезентирующей клетки. Именно этот комплекс и распознается Т-лимфоцитом [8]. Полиморфизм генов системы MHC HLA находится в сложной ассоциации с генами, продукты которых вовлечены в ответы иммунной системы [22]. Поиск ассоциаций между полиморфизмом генов MHC HLA и продукцией цитокинов — биомаркеров Th1- и Th2-опосредованных типов иммунного ответа у людей после вакцинации (ревакцинации) ВЧЖ представляет интерес, поскольку оценка баланса между уровнем секреции различных биомаркерных цитокинов косвенно характеризует эффективность специфического ответа иммунитета у вакцинированных лиц [9].

Обнаруженная нами ассоциация варианта HLA-DRB1*01 с продукцией IL-10 при вакцинации ВЧЖ согласуются с данными литературы [16]. Так, при изучении взаимодействия Т-клеток гуманизированных мышей со встроенным в геном локусом HLA-DRB1 с эпитопами антигена Caf1 *Y. pestis* авторами было отмечено, что лучший Т-клеточный ответ вызывал эпитоп Caf1, ассоциированный с геновариантом HLA-DRB1*01. Кроме того, при изучении связи полиморфизма HLA и реакции цитокинов на иммунизацию вакциной против кори было выявлено, что полиморфизм HLA-DRB1 оказывает влияние на продукцию биомаркеров иммунного ответа, в том числе IL-10 при иммунизации [20]. Ген IL10 локализован на 1 хромосоме (1q31–32) [3, 11]. Продукт гена — противо-

Таблица. Индуцированная продукция цитокинов IL-10 и TNF у обследованных лиц после вакцинации (ревакцинации)

Table. IL-10 and TNF induced production in individuals after plaque vaccination (revaccination)

Галлотипы HLA DRB1-DQA1-DQB1 Haplotypes HLA DRB1-DQA1-DQB1	n = 120	Продукция IL-10 IL-10 production		Продукция TNF TNF production	
		Me (Q25–Q75)	p	Me (Q25–Q75)	p
DRB1*01	14	4,45 (2,5–37,5)	0,03	4,45 (2,5–37,5)	0,03
*0104-*0101,0301-*0501	2	83,4 (4,6–237,4)		83,4 (4,6–237,4)	
*0107-*0101,0201-*02,0501	6	3,65 (2,2–54,1)		3,65 (2,2–54,1)	
*0108-*0101-*0501	2	5,55 (2,9–34,3)		5,55 (2,9–34,3)	
*0111-*0101,0501-*0302,0501	2	35,1 (2,6–60,5)		35,1 (2,6–60,5)	
*0115-*0101,0102-*0501,0602-8	2	4,75 (4,4–40,1)		4,75 (4,4–40,1)	
DRB1*03	21	4,9 (2,5–33,8)	0,01	4,9 (2,5–33,8)	0,01
*0304-*0301,0501-*02	2	2,7 (0,7–46,3)		2,7 (0,7–46,3)	
*0307-*0201,0501-*02,02	7	6,4 (3,5–33,9)		6,4 (3,5–33,9)	
*0309-*0301,0501-*0303	2	25,7 (0,8–77,9)		25,7 (0,8–77,9)	
*0310-*0101,0501-*02,0501	1	5,0 (2,5–13,4)		5,0 (2,5–13,4)	
*0311-*0501,0501-*02,0301	1	2,3 (1,4–3,3)		2,3 (1,4–3,3)	
*0312-*0501,0601-*02,0301	1	6,2 (3,6–52,5)		6,2 (3,6–52,5)	
*0314-*0501-*02	3	6,1 (2,55–43,2)		6,1 (2,55–43,2)	
*0315-*01,0501-*02	4	26,5 (3,7–79,9)		26,5 (3,7–79,9)	
DRB1*04	25	6,3 (3,2–34,8)	0,74	6,3 (3,2–34,8)	0,74
*0404-*0301-*0301	3	5,8 (3–31,7)		5,8 (3–31,7)	
*0407-*0201,0301-*0203	2	5,2 (3–45,3)		5,2 (3–45,3)	
*0408-*0301-*03	4	9,4 (5,3–68,1)		9,4 (5,3–68,1)	
*0410-*0101,0301-*0302,0501	1	76,7 (11,1–219,1)		76,7 (11,1–219,1)	
*0411-*0301,0501-*0301,0302	3	13,8 (3,2–46,3)		13,8 (3,2–46,3)	
*0412-*0103,0601-*0301,0301	1	2,9 (2,5–31,7)		2,9 (2,5–31,7)	
*0413-*0301-*03	3	4,4 (3,3–30,6)		4,4 (3,3–30,6)	
*0414-*0301-*03	2	31,9 (3,2–55,7)		31,9 (3,2–55,7)	
*0415-*0102,0301-*0602-8	4	9,7 (3,8–134,1)		9,7 (3,8–134,1)	
*0416-*0102,0301-*03,0502/0504	2	15,7 (2,9–61,5)		15,7 (2,9–61,5)	
DRB1*07	19	5,1 (2,7–22,14)	0,01	5,1 (2,7–22,14)	0,01
*0708-*0103,0201-*02,0601	1	4,9 (4,2–44,6)		4,9 (4,2–44,6)	
*0709-*0201,0301-*02,0303	2	4,8 (3,2–38,9)		4,8 (3,2–38,9)	
*0711-*0201,0501-*02,0303	5	4,5 (3,0–48,2)		4,5 (3,0–48,2)	
*0713-*0103,0201-*0303,0602-8	6	4,9 (2,6–35,5)		4,9 (2,6–35,5)	
*0714-*0201-*02	3	16,9 (5,6–66,1)		16,9 (5,6–66,1)	
*0715-*0102,0201-*02,0602-8	2	22,1 (1,5–64,3)		22,1 (1,5–64,3)	

Гаплотипы HLA DRB1-DQA1-DQB1 Haplotypes HLA DRB1-DQA1-DQB1	n = 120	Продукция IL-10 IL-10 production		Продукция TNF TNF production	
		Me (Q25–Q75)	p	Me (Q25–Q75)	p
DRB1*08	7	5,6 (2,5–54,7)	0,59	5,6 (2,5–54,7)	0,59
*0808-*0301/0401-*0302/0401	2	5,1 (3,5–39,3)		5,1 (3,5–39,3)	
*0811-*0301,0501-*0301,0302	1	62,3 (36,8–88,9)		62,3 (36,8–88,9)	
*0813-*0103,0103-*0601,0602-8	1	5,4 (2,1–31,1)		5,4 (2,1–31,1)	
*0815-*0102/0301-*0602-8	3	15,7 (2,3–84,7)		15,7 (2,3–84,7)	
DRB1*09	4	5,3 (3,4–9,1)	0,68	5,3 (3,4–9,1)	0,68
*0913-*0103,0301-*0303,0602-8	1	5,6 (3,4–10,1)		5,6 (3,4–10,1)	
*0914-*0101,0301-*0303,0502/0504	2	6,2 (2,9–23,4)		6,2 (2,9–23,4)	
*0915-*0103,0301-*0303,0601	1	15,7 (5,4–26,2)		15,7 (5,4–26,2)	
DRB1*10	3	4 (3,3–17,5)	0,66	4 (3,3–17,5)	0,66
*1010-*0101,0101-*0501,0501	1	5,2 (3,7–83,5)		5,2 (3,7–83,5)	
*1011-*0103,0301-*0301,0501	1	35,1 (2,4–67,8)		35,1 (2,4–67,8)	
*1012-*0101,0501-*0301,0501	1	14,2 (3,3–25,2)		14,2 (3,3–25,2)	
DRB1*11	9	4,7 (3–14,6)	0,05	4,7 (3–14,6)	0,05
*1111-*0101,0501-*0301,0503	1	5,1 (3,6–38,1)		5,1 (3,6–38,1)	
*1112-*0501-*0301,0301	3	4,8 (3,4–42,7)		4,8 (3,4–42,7)	
*1113-*0501-*0301,0602-8	3	3,5 (2,3–64,79)		3,5 (2,3–64,79)	
*1115-*0102,0501-*0301,0602-8	1	3,8 (3,6–24,9)		3,8 (3,6–24,9)	
*1116-*0102,0501-*0301,0502/0504	1	3,1 (0,2–102,4)		3,1 (0,2–102,4)	
DRB1*12	5	4,2 (2,5–10,1)	0,79	4,2 (2,5–10,1)	0,79
*1213-*0102,0301-*0302,0602-8	1	6,3 (1,9–60,7)		6,3 (1,9–60,7)	
*1214-*00501-*0301	2	3,4 (2,5–86,8)		3,4 (2,5–86,8)	
*1215-*0102/0103,0601-*0301	2	5,55 (3,2–60,39)		5,55 (3,2–60,39)	
DRB1*13	9	5 (3,4–34,4)	0,77	5 (3,4–34,4)	0,77
*1312-*0102,0102-*0602-8	1	5,4 (3,7–39,18)		5,4 (3,7–39,18)	
*1313-*0102,0103-*0602-8	2	14,8 (2,8–34,5)		14,8 (2,8–34,5)	
*1314-*0101,0301-*0502/0504,0602-8	1	4,1 (3,4–63,1)		4,1 (3,4–63,1)	
*1315-*0102/0103-*0602-8	4	8,9 (2,9–42)		8,9 (2,9–42)	
*1316-*0102/0103-*0502/0504,0602-8	1	2,8 (2,1–107,9)		2,8 (2,1–107,9)	
DRB1*14	4	12,9 (3,55–60,34)	0,74	12,9 (3,55–60,34)	0,74
*1415-*0102-*0602-8	3	17,8 (4,1–64,39)		17,8 (4,1–64,39)	
*1416-*0101,0102-*0502/0504	1	6,5 (3,5–69,8)		6,5 (3,5–69,8)	

воспалительный цитокин IL-10 оказывает влияние на экспрессию антигенов HLA класса II на макрофагах, увеличивает количество продуцирующих IL-4 Т-клеток и повышает выживаемость и пролиферацию В-клеток и, следовательно, производство антител [14].

Выявленная нами ассоциация аллелей гена HLA DRB1 с продукцией TNF α вполне закономерна, так как ген TNF входит в кластер генов главного комплекса гистосовместимости на 6 хромосоме (6p23-q12) [11]. Более того, установлено неравновесие по сцеплению между рядом точечных мутаций гена TNF и аллелями MHC [3]. Возможно, выявленная нами ассоциация более высокой продукции TNF α с присутствием в геноме аллели DRB1*04 у людей, вакцинированных ВЧЖ, также связана с полиморфизмом гена TNFA. Цитокин TNF α играет одну из ключевых ролей в формировании иммунитета — активирует макрофаги и способствует презентации антигенов посредством HLA класса II.

Выявление ассоциаций аллелей HLA с иммунными реакциями на вакцинацию может способствовать отбору иммунодоминантных эпитопов, которые инициируют иммунные реакции. Современные методологии позволяют выявлять эпитопы, образующие комплекс со специальной структурой HLA-рецептора. Изучение именно этих эпитопов обозначило новое направление в конструировании субъединичных вакцин [25]. Показано, что молекулами, представляющими антигены Т-клеткам, являются HLA-DR [21]. Таким образом, иммуногенность и протективность разрабатываемых вакцин должны быть определены в контексте полиморфизмов HLA-DR.

Сведения об эпитопах антигенов возбудителя чумы, ассоциированных с развитием Т-клеточного иммунного ответа, немногочисленны. С использованием биоинформационных ресурсов было отобрано 178 эпитопов, входящих в состав 113 белков *Y. pestis*, потенциально способных вызывать специфический ответ CD8 Т-клеток [28]. Полученные знания о новых

иммуногенных эпитопах *Y. pestis* внесут вклад в определение рационального дизайна будущих вакцин.

Заключение

Таким образом, нами определены аллельные варианты гаплотипов MHC II класса HLA-DRB1, HLA-DQA1 и HLA-DQB1 у людей, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы. Выявлена ассоциация указанных гаплотипов с показателями биомаркеров Th1- и Th2-опосредованного иммунного ответа на вакцинацию ВЧЖ. Полученные результаты показывают, что полиморфизм генов HLA-DRB1, HLA-DQA1 и HLA-DQB1 может оказывать влияние на уровень секреции цитокинов.

Дальнейшее изучение генов, принимающих участие в регуляции уровня продукции основных факторов иммунитета, наряду с иммунологическими методами, позволит улучшить понимание механизмов, лежащих в основе вариаций иммунного ответа после вакцинации. Выявление связи аллельного полиморфизма генов HLA с показателями маркеров клеточного и гуморального звеньев иммунитета способствует отбору иммунодоминантных Т-клеточных эпитопов, что позволит повысить иммуногенность и эффективность разрабатываемых вакцинных препаратов.

Благодарности

Руководство и специалисты ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» выражают искреннюю благодарность руководству и сотрудникам Управления Роспотребнадзора по Республике Калмыкия, ФКУЗ «Элистинская противочумная станция», ФКУЗ «Астраханская противочумная станция» за организацию, регулярную помощь и участие в сборе материала для исследований.

Список литературы/References

1. Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н., Микшиш Н.И., Ключева С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Бембеева Е.С., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17, № 3 (100). С. 38–49. [Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Mikshis N.I., Klyueva S.N., Kudryavtseva O.M., Kravtsov A.L., Goncharova A.Yu., Kozhevnikov V.A., Sandzhiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Bembeeva E.S., Shcherbakova S.A., Kutyrer V.V. Comprehensive immunological study of persons vaccinated with live plague vaccine living on the territory of the Pre-Caspian sand foci of the plague in the Republic of Kalmykia. *Epidemiologiya i vaksino-profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2018, vol. 17, no. 3 (100), pp. 38–49. doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50 (In Russ.)]
2. Зверев В.В., Семенов Б.Ф., Хаитов Р.М. Вакцины и вакцинация: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 880 с. [Zverev V.V., Semenov B.F., Khaitov R.M. Vaccines and vaccinations: national guidelines. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2011. 880 p. (In Russ.)]

3. Конненков В.И. Смольникова М.В. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов // Медицинская Иммунология. 2003. Т. 5, № 1–2. С. 11–28. [Konnenkov V.I., Smolnikova M.V. Structural bases and functional significance of allelic polymorphism of genes of human cytokines and their receptors. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2003, vol. 5, no. 1–2, pp. 11–28. (In Russ.)]
4. Кудрявцева О.М., Щуковская Т.Н., Микшис Н.И., Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Хасыкова Б.А., Щербаква С.А. Выявление ассоциаций генов HLA II класса главного комплекса гистосовместимости с особенностями иммунного ответа у лиц, вакцинированных живой чумной вакциной в Республике Калмыкия // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 3. С. 95–99. [Kudryavtseva O.M., Shchukovskaya T.N., Mikshis N.I., Klyueva S.N., Bugorkova S.A., Sanjiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Khasykova B.A., Shcherbakova S.A. Identification of associations of HLA class II genes of the main histocompatibility complex with immune response characteristics in persons vaccinated with live plague vaccine in the Republic of Kalmykia. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2017, no. 3, pp. 95–99. doi: 10.21055/0370-1069-2017-3-95-99 (In Russ.)]
5. Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям. Приказ Министерства здравоохранения РФ № 125н, 2014. [On the approval of the national calendar of preventive vaccinations and the calendar of preventive vaccinations for epidemiological indications. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 125n, 2014]
6. Попов Н.В., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Вершинин С.А., Косилко С.А., Иннокентьева Т.М., Григорьев М.П., Дегтярев Д.Ю., Герасименко Е.В., Дубянский В.М., Шилов М.М., Топорков В.П., Зенкевич Е.С., Попов В.П., Лопатин А.А., Безсмертный В.Е., Балахонov С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2008–2017 гг. и прогноз на 2018 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2018. № 1. С. 50–55. [Popov N.V., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Vershinin S.A., Kosilko S.A., Innokent'eva T.M., Grigor'ev M.P., Degtyarev D.Yu., Gerasimenko E.V., Dubyansky V.M., Shilov M.M., Toporkov V.P., Zenkevich E.S., Popov V.P., Lopatin A.A., Bezsmertny V.E., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutuyev V.V. Epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2008–2017 and forecast for 2018. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2018, no. 1, pp. 50–55. doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55 (In Russ.)]
7. Фирстова В.В., Калмантаева О.В., Горбатов А.А., Кравченко Т.Б., Тюрин Е.А., Бондаренко Н.Л., Дятлов И.А., Караулов А.В. Оценка специфического гуморального и клеточного иммунитета у людей, периодически вакцинирующихся против чумы // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2015. № 3. С. 62–68. [Firstova V.V., Kalmantaeva O.V., Gorbатов A.A., Savchenko T.B., Tjurin E.A., Bondarenko N.L., Dyatlov I.A., Karaulov A.V. Specific humoral and cellular immunity in humans periodically vaccinated against plague. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2015, no. 3, pp. 62–68. doi: 10.14427/jipai.2015.3.62 (In Russ.)]
8. Хаитов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы: учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 280 с. [Khaitov R.M. Immunology: structure and functions of the immune system: a textbook. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 280 p. (In Russ.)]
9. Щуковская Т.Н., Смолькова Е.А., Шмелькова Т.П., Ключева С.Н., Бугоркова С.А. Индуцированная продукция IFN и IL-4 как показатель функциональной активности Th1- и Th2-клеток у вакцинированных против чумы людей // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. Т. 6, № 61. С. 78–83. [Shchukovskaya T.N., Smolkova E.A., Shmelkova T.P., Klyueva S.N., Bugorkova S.A. Induced production of IFN and IL-4 as an indicator of functional activity human Th1 and Th2 cells after plague vaccination. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2011, vol. 6, no. 61, pp. 78–83. (In Russ.)]
10. Blackwell J.M., Jamieson S.E., Burgner D. HLA and infectious diseases. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2009, vol. 22, no. 2, pp. 370–385. doi: 10.1128/CMR.00048-08
11. Campbell R.D., Trowsdale J. Map of the human MHC. *Immunol. Today*, 1993, vol. 14, no. 7, pp. 349–352. doi: 10.1016/0167-5699(93)90234-C
12. Hohler T., Reuss E., Evers N., Dietrich E., Rittner C., Freitag C.M., Vollmar J., Schneider P.M., Fimmers R. Differential genetic determination of immune responsiveness to hepatitis B surface antigen and to hepatitis A virus: a vaccination study in twins. *Lancet*, 2002, vol. 360, no. 9338, pp. 991–995. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11083-X
13. Jin P., Wang E. Polymorphism in clinical immunology – from HLA typing to immunogenetic profiling. *J. Translat. Med.*, 2003, vol. 1, no. 1, pp. 8–19. doi: 10.1186/1479-5876-1-8
14. Kikuchi K., Lian Z.X., Kimura Y., Selmi C., Yang G.X., Gordon S.C., Invernizzi P., Podda M., Coppel R.L., Ansari A.A., Ikehara S., Miyakawa H., Gershwin M.E. Genetic polymorphisms of toll-like receptor 9 influence the immune response to CpG and contribute to hyper-IgM in primary biliary cirrhosis. *J. Autoimmun.*, 2005, vol. 24, no. 4, pp. 347–352. doi: 10.1016/j.jaut.2005.03.002
15. Lambkin R., Novelli P., Oxford J., Gelder C. Human genetics and responses to influenza vaccination: clinical implications. *Am. J. Pharmacogenomics*, 2004, vol. 4, no. 5, pp. 293–308.
16. Musson J.A., Ingram R., Durand G., Ascough St., Waters E.L., Hartley M.G., Robson T., Maillere B. Repertoire of HLA-DR1-restricted CD4 T-cell responses to capsular Caf1 antigen of *Yersinia pestis* in human leukocyte antigen transgenic mice. *Infection and Immunity*, 2010, vol. 78, no. 10, pp. 4356–4362. doi: 10.1128/IAI.00195-10
17. Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Vierkant R.A., O'Byrne M.M., Poland G.A. Replication of rubella vaccine population genetic studies: validation of HLA genotype and humoral response associations. *Vaccine*, 2009, vol. 27, no. 49, pp. 6926–6931. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.08.109
18. Ovsyannikova I.G., Pankratz V.S., Vierkant R.A., Jacobson R.M., Poland G.A. Consistency of HLA associations between two independent measles vaccine cohorts: a replication study. *Vaccine*, 2012, no. 30, pp. 2146–2152. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.01.038
19. Ovsyannikova I.G., Pankratz V.S., Vierkant R.A., Pajewski N.M., Quinn C.P., Kaslow R.A., Jacobson R.M., Poland G.A. Human leukocyte antigens and cellular immune responses to anthrax vaccine adsorbed. *Infect. Immun.*, 2013, vol. 81, no. 7, pp. 2584–2591. doi: 10.1128/IAI.00269-13

20. Ovsyannikova I.G., Ryan J.E., Jacobson R.M., Vierkant R.A., Pankratz V.S., Poland G.A. Human leukocyte antigen and interleukin 2, 10 and 12p40 cytokine responses to measles: is there evidence of the HLA effect. *Cytokine*, 2006, vol. 36, no. 3–4, pp. 173–179. doi: 10.1016/j.cyto.2006.12.001
21. Ovsyannikova I.G., Vierkant R. A., Poland G.A. Importance of HLA-DQ and HLA-DP polymorphisms in cytokine responses to naturally processed HLA-DR-derived measles virus peptides. *Vaccine*, 2006, vol. 24, no. 25, pp. 5381–5389. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.04.034
22. Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M. Vaccine immunogenetics: bedside to bench to population. *Vaccine*, 2008, vol. 26, no. 49, pp. 6183–6188. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.06.057
23. Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Jacobson R.M., Smith D.I. Heterogeneity in vaccine immune response: the role of immunogenetics and the emerging field of vaccinomics. *Clinical Pharmacol. Ther.*, 2007, vol. 82, no. 6, pp. 653–664. doi: 10.1038/sj.clpt.6100415
24. Poland G.A., Ovsyannikova I.G., Kennedy R.B., Haralambieva I.H., Jacobson R.M. Vaccinomics and a new paradigm for the development of preventive vaccines against viral infections. *OMICS*, 2011, vol. 15, no. 9, pp. 625–636. doi: 10.1089/omi.2011.0032
25. Poland J.A., Ovsyannikova I.G., Johnson K.L., Naylor S. The role of mass spectrometry in vaccine development. *Vaccine*, 2001, vol. 19, no. 17–19, pp. 2692–2700. doi: 10.1016/S0264-410X(00)00505-3
26. Tian C., Hromatka B.S., Kiefer A.K., Eriksson N., Noble S.M., Tung J.Y., Hinds D.A. Genome-wide association and HLA region fine-mapping studies identify susceptibility loci for multiple common infections. *Nat. Commun.*, 2017, vol. 8, no. 1, p. 599. doi: 10.1038/s41467-017-00257-5
27. Wang C., Tang J., Song W., Lobashevsky E., Wilson C.M., Kaslow R.A. HLA and cytokine gene polymorphisms are independently associated with responses to hepatitis B vaccination. *Hepatology*, 2004, vol. 39, no. 4, pp. 978–988. doi: 10.1002/hep.20142
28. Zvi A., Rotem S., Zauberman A., Elia U., Aftalion M., Bar-Haim E., Mamroud E., Cohen O. Novel CTL epitopes identified through a *Y. pestis* proteome-wide analysis in the search for vaccine candidates against plague. *Vaccine*, 2017, vol. 35, no. 44, pp. 5995–6006. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.05.092

Авторы:

Кудрявцева О.М., к.м.н., старший 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;
Щуковская Т.Н., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;
Микшис Н.И., д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела 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;
Клюева С.Н., к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;
Щербакова С.А., д.б.н., зам. директора по научной и экспериментальной работе ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия.

Authors:

Kudryavtseva O.M., PhD (Medicine), Senior 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;
Shchukovskaya T.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;
Mikshis N.I., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, 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;
Klyueva S.N., PhD (Biology), Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;
Shcherbakova S.A., PhD, MD (Biology), Deputy Director for Scientific and Experimental Work, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation.

Поступила в редакцию 22.06.2018
 Отправлена на доработку 13.03.2019
 Принята к печати 10.04.2019

Received 22.06.2018
 Revision received 13.03.2019
 Accepted 10.04.2019