

П.Н. ДЕРЯБИН¹, Т.С. ПОНОМАРЕВА¹, Б.В. КАРАЛЬНИК², Е.А. КУСТОВА³
Т.Г. ДЕНИСОВА², Н.Т. УРАЗАЛИЕВА³, Т.И. ТУГАМБАЕВ², З.Т. АЛЫМКУЛОВА²

¹Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций имени М.Айкимбаева;

²Научный центр гигиены и эпидемиологии имени Х.Жуматова;

Комитета защиты прав потребителей Министерства национальной экономики Республики Казахстан

³Научный центр педиатрии и детской хирургии Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан

ДИНАМИКА АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ У ЛЮДЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ЖИВОЙ ЧУМНОЙ ВАКЦИНОЙ

УДК 619:616.9

*Иммунофенотипирование основных популяций лимфоцитов и определение содержания Т регуляторных лимфоцитов и лимфоцитов с рецепторами к антигенам *Y. pestis* у людей, иммунизированных живой чумной вакциной.*

Обследовали 13 здоровых взрослых людей, иммунизированных живой чумной вакциной EV. 6 человек были вакцинированы первично, 7 человек - повторно (не ранее чем через 1 год после предыдущей вакцинации). Вакцинацию проводили методом скарификации, одна доза вакцины содержала 3 x10⁹ живых микробных клеток. Кровь для исследования брали из локтевой вены до вакцинации и на 2, 4-6, 7-9, 13-14, 20-21, 27, 34, 48 и 62 дни после вакцинации.

Основные популяции лимфоцитов (CD3, CD19, CD4, CD8, CD16+56, HLA-DR) и Т-регуляторные лимфоциты CD4/CD25/FoxP3) определяли при помощи лазерной проточной цитометрии с применением моноклональных антител, используя "двойную метку, на проточном цитофлуориметре FacsCalibur (Becton Dickenson, USA) в программе CellQuest. Полученные результаты сравнивали с данными, полученными в контрольной группе (50 условно здоровых людей в возрасте от 20 до 50 лет) и референтными границами нормы от производителя моноклональных антител.

*Содержание лимфоцитов с рецепторами (ЛфР) к капсульному антигену (F1) и ЛПС *Y. pestis* определяли в реакции адгезии к лимфоцитам иммунореагентов и, полученных нами конъюгацией F1 и ЛПС с эритроцитами быка, фиксированными ацетальдегидом. Параллельно выполняли такие анализы с контрольным реагентом - эритроцитами, не нагруженными антигенами *Y. pestis*.*

Показано, что содержание основных популяций лимфоцитов (CD3, CD19, CD4, CD8, CD16+56, HLA-DR) у всех обследованных людей, вакцинированных живой чумной вакциной, не выходило за пределы определенных норм и практически не изменялось в динамике. Среднее содержание Т-регуляторных лимфоцитов в группах первично и повторно вакцинированных также достоверно не различалось

*ЛфР к антигенам *Y. pestis* не обнаружены до вакцинации и выявлены у же на 2-ой день после вакцинации. С 20-го дня ЛфР к антигенам *Y. pestis* не определялись. Следует отметить, что содержание лимфоцитов с рецепторами к антигенам *Y. pestis* на 2-ой день после вакцинации в группе первично вакцинированных было существенно меньше, чем в группе вакцинированных повторно, а на 13-14 день - наоборот достоверно больше.*

*Таким образом, можно отметить, что кратность - иммунизации живой чумной вакциной влияла на содержание и динамику лимфоцитов с рецепторами к антигенам *Y. pestis*: при ревакцинации ЛфР появлялись в периферической крови раньше и раньше исчезали, чем при первичной вакцинации.*

Ключевые слова: живая чумная вакцина EV, Т регуляторные лимфоциты, лимфоциты с рецепторами к антигенам

ВВЕДЕНИЕ. Чума была и остается одним из самых опасных инфекционных заболеваний. Природные очаги чумы занимают уже более 40% территории Казахстана [1]. Для профилактики чумы в Казахстане проводят вакцинацию людей, живущих или работающих в природных очагах чумы, и специалистов, работающих в противочумных организациях. В качестве вакцины используется живая чумная вакцина на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ [2]. Несмотря на то, что эта вакцина применяется уже более 50 лет, иммунный ответ на эту вакцину характеризуются преимущественно лишь по определению активности антител к различным антигенам чумного микроба [2,3].

Регуляторные Т лимфоциты контролируют воспалительные реакции и специфический иммунный ответ на внедрение инфекции [4,5] Эти клетки экспрессируют FOXP3 — транскрипционный фактор, регулирующий транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток и экспрессию цитокинов и других факторов, участвующих в супрессии иммунного ответа. Часто эти клетки так и обозначают, как FOXP3+ регуляторные Т-клетки (FOXP3+ Treg cells). Кроме того, важным маркером Т-регуляторных клеток является экспрессия на их поверхности рецептора к

цитокину IL-2 — CD25, соответственно это обозначают как CD25+ клетки. Помимо этих основных маркеров Treg клетки на своей мембране экспрессируют CD62L, различные изоформы мембрано-связанной фосфатазы CD45. Различают несколько разных типов регуляторных Т-клеток: естественные Т-регуляторные клетки (T-reg1) и индуцибельные Т-регуляторные клетки (iT-reg). Индуцибельные Т-регуляторные клетки образуются под влиянием различных факторов на периферии, например, в региональных лимфатических узлах. При прямом механизме супрессии Treg взаимодействуют с эффекторными Т-клетками и гранзим В действует через перфорины, образующие канал, вызывая апоптоз в этих клетках, тем самым элиминируя активные Т-клетки. Содержание регуляторных Т лимфоцитов при вакцинации людей живой чумной вакциной не изучалось.

Известно, что иммунный ответ на вакцинацию имеет две стадии своего развития: начальную, характеризующуюся образованием популяций лимфоцитов, имеющих рецепторы к определенным антигенам, и эффекторную, характеризующуюся образованием антител соответствующей специфичности [6]. Как уже говорилось выше, эффекторная стадия иммунного ответа на живую

чумную вакцину изучена хорошо. Исследования же начальной стадии – практически отсутствуют.

ЦЕЛЬ. Иммунофенотипирование основных популяций лимфоцитов и определение содержания Т регуляторных лимфоцитов и лимфоцитов с рецепторами к антигенам *Y. pestis* у людей, иммунизированных живой чумной вакциной.

МАТЕРИАЛЫ и МЕТОДЫ

Обследовали 13 здоровых взрослых людей, иммунизированных живой чумной вакциной EV. 6 человек были вакцинированы первично, 7 человек - повторно (не менее чем через 1 год после предыдущей вакцинации). Вакцинацию проводили методом скарификации, одна доза вакцины содержала 3×10^9 живых микробных клеток. Кровь для исследования брали из локтевой вены до вакцинации и на 2, 4-6, 7-9, 13-14, 20-21, 27, 34, 48 и 62 после вакцинации. Все вакцинированные люди относились к декретируемому контингенту лиц, подлежащих вакцинации против чумы, и дали добровольное информированное согласие на использование данных их обследования в научных публикациях

Определение основных популяций лимфоцитов (CD3, CD19, CD4, CD8, CD16+56, HLA-DR), маркеры Т-регуляторных лимфоцитов CD4/CD25/FoxP3) проводили при помощи лазерной проточной цитометрии с применением моноклональных антител, используя “двойную метку”: два типа моноклональных антител, несущих на себе различные красители (FITC – флюорисцеин-5-изотиоционат и PE – фикоэритрин). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре FacsCalibur (Becton Dickenson, USA) в программе CellQuest. Полученные результаты сравнивали с

данными, полученными в контрольной группе (50 условно здоровых людей в возрасте от 20 до 50 лет) и референтными границами нормы от производителя моноклональных антител.

Содержание лимфоцитов с рецепторами (ЛФР) к антигенам *Y. pestis* F1 и ЛПС определяли в реакции адгезии к лимфоцитам иммунореагентов и, полученных нами конъюгацией F1 при помощи риванола и ЛПС без посредников с эритроцитами быка, фиксированными ацетальдегидом, как описано ранее [7]. Параллельно выполняли такие анализы с контрольным реагентом -эритроцитами, не нагруженными антигенами *Y. pestis*.

В работе применяли статистические методы частных сравнений серий. Результат считали значимым при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ и ОБСУЖДЕНИЕ

Фенотипирование основных популяций лимфоцитов

Результаты фенотипирования основных популяций лимфоцитов приведены в таблице 1.

Выявлено достоверное увеличение содержания активированных CD19 лимфоцитов на 8-й день взятия крови по сравнению с 7-м днем ($15,62 \pm 1,4$ и $11,01 \pm 1,4$), а также в сравнении с контрольной группой ($10,2 \pm 3,2$). Признаком активации является экспрессия молекулы HLA-DR на В- лимфоцитах. Их содержание достоверно увеличилось на 8-й день.

Достоверное увеличение экспрессии CD8 лимфоцитов выявлено на 7-й день тестирования в сравнении с 4-м днем ($34,54 \pm 1,7$ и $26,79 \pm 2,1$). Это повлияло на сдвиг в соотношении субпопуляций CD4/CD8, вследствие чего, ИРИ снизился с $1,8 \pm 0,3$ до $1,2 \pm 0,1$. Достоверной разницы с группой контроля по этим показателям не выявлено.

Таблица 1 – Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови вакцинированных людей

Сроки обследования (день после вакцинации)	Число обследованных	Содержание соответствующей популяции лимфоцитов*, %				Соотношение содержания, ИРИ*, CD4/CD8	Содержание соответствующей популяции лимфоцитов*, %	
		CD3+	CD19+	CD4+	CD8+		CD16+56+	HLA-DR
0	13	69,76±1,7	13,05±1,6	40,15±1,7	31,14±0,95	1,3±0,1	11,68±2,0	15,64±1,6
2	13	71,75±1,2	13,43±1,2	43,29±1,5	29,50±1,2	1,6±0,1	9,35±1,3	15,94±1,2
4-6	13	70,94±1,2	13,65±1,2	42,18±1,6	28,66±1,4	1,5±0,1	10,59±1,5	15,52±1,3
7-9	13	71,17±1,1	13,25±1,6	42,96±2,4	26,79±2,1	1,8±0,3	10,93±2,4	14,87±1,2
13-14	13	72,68±1,4	13,18±0,9	45,05±3,2	27,50±2,1	1,7±1,2	8,27±1,5	13,04±0,6
20-21	13	70,01±1,5	12,75±1,2	40,88±2,2	33,87±2,0	1,3±0,1	9,56±1,2	14,55±1,4
28	13	69,25±1,8	11,01±1,4	39,59±2,2	34,54±1,7	1,2±0,1	13,93±1,8	14,22±1,8
35	13	67,00±2,2	15,62±1,4	39,23±2,7	31,58±1,6	1,3±0,2	10,89±2,5	18,07±0,7
Контрольная группа		68,8±6,1	10,2±3,2	33,8±6,7	35,9±8,3	1,0±0,5	13,6±5,1	15,0±6,1
Референтные границы нормы		58-85	10-23	35-50	25-35	1,5-2,0	5-10	8-19

(от производителя)							
--------------------	--	--	--	--	--	--	--

*среднее содержание и его средняя квадратическая ошибка

Увеличилось и содержание натуральных киллеров CD16+56 на 7-й день забора в сравнении с 5-м днем ($13,93 \pm 1,8$ и $8,27 \pm 1,5$).

Однако, в целом следует отметить, что все показатели клеточного звена иммунитета испытуемых входили в референтные границы нормы

Определение Т регуляторной популяции лимфоцитов

Результаты определения Т регуляторной популяции лимфоцитов приведены в таблице 2.

Среднее содержание Т регуляторных лимфоцитов за весь период обследования в группах первично

вакцинированных и вакцинированных повторно достоверно не различалось ($0,50 \pm 0,06\%$ и $0,39 \pm 0,03\%$ соответственно). У первично вакцинированных наибольшее содержание Т регуляторных лимфоцитов отмечено на второй день после вакцинации, а наименьшее – на 7-9 день после вакцинации, у ревакцинированных на 13-14 и 7-9 день соответственно. Значимого влияния вакцинации на содержание Т регуляторных популяций лимфоцитов не обнаружено.

Таблица 2 - Определение Т регуляторных лимфоцитов

Вакцинация	Количество людей	Относительное количество лимфоцитов (CD4+CD25+FoxP3+) от всех ядродержащих клеток и его средняя квадратическая ошибка, %							
		До вакцинации	После вакцинации (дни)						
			2	4-6	7-9	13-14	20-21	28	35
Первичная	6	$0,57 \pm 0,11$	$0,87 \pm 0,25$	$0,25 \pm 0,06$	$0,17 \pm 0,02$	$0,68 \pm 0,20$	$0,63 \pm 0,22$	$0,45 \pm 0,11$	$0,38 \pm 0,08$
Повторная	7	$0,59 \pm 0,05$	$0,59 \pm 0,09$	$0,16 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,02$	$0,61 \pm 0,11$	$0,33 \pm 0,07$	$0,56 \pm 0,04$	$0,19 \pm 0,03$

Определение антигенспецифических популяций лимфоцитов

Содержание ЛФР к F1 приведено в таблице 3, а ЛФР к ЛПС – в таблице 4. Динамика их содержания приведена на рисунке.

Как видно из таблиц 3 и 4, до вакцинации ЛФР к F1 и ЛПС не обнаружены ни у одного из 13 обследованных людей, хотя 7 из них были вакцинированы ранее (не менее, чем за год до настоящей вакцинации). После вакцинации ЛФР к F1 и ЛПС выявлены у всех вакцинированных людей. Обнаружено различие в динамике ЛФР у людей, вакцинированных первый раз и вакцинированных повторно. В группе первично вакцинированных ЛФР к F1 на второй день после вакцинации обнаружены только у 4 из 6 вакцинированных (их среднее содержание составило $4,14 \pm 2,03\%$), а у вакцинированных повторно – у всех 7 человек и их среднее содержание было достоверно ($P < 0,05$) более высоким ($12,27 \pm 1,81\%$). Аналогичная картина отмечена при выявлении ЛФР к ЛПС: у

первично вакцинированных среднее содержание ЛФР к ЛПС было $6,02 \pm 1,85\%$, а у вакцинированных повторно – значимо больше, $15,84 \pm 1,03\%$. На 13-14 день после вакцинации среднее содержание ЛФР к F1 в группе первично вакцинированных было достоверно большим, чем в группе повторно вакцинированных людей ($3,91 \pm 0,541$ и $2,53 \pm 0,47\%$ соответственно, $P < 0,05$). Среднее содержание ЛФР к ЛПС в этот срок в обеих группах практически не различалось ($4,05$ и $4,14\%$ соответственно). В целом среднее содержание ЛФР к F1 и к ЛПС у вакцинированных повторно было большим, чем при первичной вакцинации. Это хорошо видно на рисунке. Также следует отметить, что содержание ЛФР к ЛПС, как в группе первично вакцинированных, так и в группе вакцинированных повторно было существенно большим, чем ЛФР к F1.

Начиная с 20-21 дня после вакцинации ЛФР обеих специфичностей не определялись.

Таблица 3 - Динамика ЛФР к F1 антигену

№ вакцинации	Кратность вакцинации	Количество ЛФР к F1 и его средняя квадратическая ошибка, в %					
		До вакцинации	после вакцинации на				
			2 день	4-6 день	7-9 день	13-14 день	20-21 день
1	повторная	$0,14 \pm 0,14$	$6,43 \pm 0,30$	$6,71 \pm 0,18$	$19,0 \pm 0,31$	$0,14 \pm 0,14$	$0,29 \pm 0,18$
2	первичная	$0,43 \pm 0,20$	$0,14 \pm 0,14$	$11,71 \pm 0,29$	$14,00 \pm 0,22$	$2,29 \pm 0,18$	$0,43 \pm 0,20$
3	повторная	$0,71 \pm 0,18$	$18,29 \pm 0,47$	$6,29 \pm 0,29$	$5,86 \pm 0,14$	$3,86 \pm 0,22$	$0,14 \pm 0,14$
4	первичная	$0,29 \pm 0,18$	$4,00 \pm 0,22$	$13,57 \pm 0,37$	$9,29 \pm 0,29$	$3,29 \pm 0,18$	$0,14 \pm 0,14$
5	повторная	$0,29 \pm 0,18$	$15,29 \pm 0,18$	$15,86 \pm 0,14$	$9,71 \pm 0,36$	$1,71 \pm 0,18$	0 ± 0
6/1	первичная	$0,28 \pm 0,18$	$0,43 \pm 0,20$	$10,86 \pm 0,71$	$11,43 \pm 0,20$	$3,91 \pm 0,41$	$0,14 \pm 0,14$
7/2	повторная	$0,14 \pm 0,14$	$5,57 \pm 0,24$	$6,43 \pm 0,24$	$15,28 \pm 0,18$	$3,29 \pm 0,18$	$0,43 \pm 0,20$
8/3	повторная	$0,14 \pm 0,14$	$15,43 \pm 0,38$	$15,43 \pm 0,28$	$9,86 \pm 0,34$	$2,71 \pm 0,20$	$0,14 \pm 0,14$
9/4	первичная	$0,43 \pm 0,20$	$13,71 \pm 0,18$	$16,00 \pm 0,24$	$10,43 \pm 0,24$	$4,57 \pm 0,20$	0 ± 0
10/5	повторная	$0,14 \pm 0,14$	$11,29 \pm 0,24$	$13,14 \pm 0,28$	$11,71 \pm 0,20$	$3,14 \pm 0,14$	$0,14 \pm 0,14$
11/6	первичная	0 ± 0	$2,57 \pm 0,20$	$11,57 \pm 0,20$	$10,57 \pm 0,24$	$5,14 \pm 0,14$	0 ± 0
12/7	первичная	0 ± 0	$4,00 \pm 0,24$	$12,71 \pm 0,24$	$11,28 \pm 0,18$	$4,29 \pm 0,18$	0 ± 0
13/8	повторная	$0,14 \pm 0,14$	$13,57 \pm 0,20$	$14,71 \pm 0,18$	$12,43 \pm 0,20$	$2,86 \pm 0,14$	0 ± 0

Таблица 4 - Динамика ЛФР к ЛПС

№ вакцинируемого	Кратность вакцинации	Количество ЛФР к ЛПС и его средняя квадратическая ошибка, в %	До вакцинации				
			после вакцинации через				
			2 дня	4-6 дней	7-9 дней	13-14 дней	20-21 дней
1	повторная	0.14±0.14	18.0±0.31	18.71±0.36	19.14±0.34	16.28±0.32	0.14±0.14
2	первичная	0.43±0.20	2.57±0.20	14.86±0.26	14.14±0.14	4.86±0.22	0.29±0.18
3	повторная	0.71±0.20	19.14±0.34	6.71±0.18	6.00±0.22	1.71±0.20	0±0
4	первичная	0.29±0.18	6.29±0.29	15.57±0.20	6.57±0.20	2.14±0.14	0±0
5	повторная	0.43±0.20	15.29±0.29	16.14±0.34	11.29±0.36	0.86±0.14	0±0
6/1	первичная	0.28±0.18	2.71±0.18	12.86±0.31	11.29±0.18	3.43±0.20	0.14±0.14
7/2	повторная	0.28±0.18	16.57±0.20	16.43±0.28	16.71±0.24	2.43±0.20	0.29±0.18
8/3	повторная	0.14±0.14	15.57±0.34	6.14±0.34	11.29±0.34	1.86±0.14	0.43±0.20
9/4	первичная	0.43±0.20	14.71±0.28	17.29±0.28	11.00±0.24	4.28±0.18	0.14±0.14
10/5	повторная	0±0	10.57±0.20	14.00±0.24	12.28±0.18	3.14±0.14	0.14±0.14
11/6	первичная	0.14±0.14	3.86±0.24	13.71±0.24	10.43±0.29	4.43±0.20	0.14±0.14
12/7	первичная	0.29±0.18	6.00±0.24	14.86±0.28	12.28±0.18	5.14±0.14	0.43±0.20
13/8	повторная	0.14±0.14	15.71±0.18	16.29±0.24	12.29±0.18	2.71±0.18	0.14±0.14

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Проведенные исследования не выявили какого-либо значимого влияния вакцинации людей ЖЧВ на динамику содержания основных популяций лимфоцитов, включая Т – регуляторные лимфоциты. Это обуславливает необходимость продолжения таких исследований, особенно при сочетанном использовании ЖЧВ и иммуномодуляторов.

В то же время впервые описана динамика антигенспецифических популяций лимфоцитов периферической крови при вакцинации людей ЖЧВ. Показано, что динамика содержания ЛФР зависит от кратности вакцинации и их специфичности.

Полученные данные показали, что антигенспецифический клеточный ответ при повторной вакцинации развивается быстрее, чем при первичной вакцинации. Как было показано в эксперименте на кроликах, иммунизированных живой чумной вакциной, более короткая начальная стадия иммунного ответа, усиливает эффекторную стадию иммунного ответа, то есть способствует более раннему и более интенсивному образованию специфических антител [7]. В дальнейшем мы планируем оценить влияние начальной стадии иммунного ответа у вакцинированных людей на показатели эффекторной стадии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Л.А. Бурделов Атлас распространения особо опасных инфекций в Республике Казахстан. - Алматы: 2012. – 232 с.
- 2 Коробкова Е.И. Живая противочумная вакцина. - М.: Медгиз, 1956. - 207 с.
- 3 Наумов А.В., Ледванов М.Ю., Дроздов И.Г. Иммунология чумы. – Саратов: 1992. - 172 с.
- 4 Annacker, O. On the ontogeny and physiology of regulatory T cells // Immunol. Rev. – 2001. – V. 182. – P. 5–17.
- 5 Железников Г.Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию // Журнал инфектологии. – 2011. - Том 3. - № 1. – С. 6-13.
- 6 Karalnik B.V., Denisova T.G. Immunomodulation and stages of antigen specific response on herpes antigens // Medimond International proceedings. - 2011. - №3. - P. 231 -235.
- 7 Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Денисова Т.Г., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б., Закарян С.Б., Мельникова Н.Н. Влияние беталейкина на показатели антигенспецифического ответа в модельных опытах иммунизации животных живой чумной вакциной // Цитокины и воспаление. - 2014. - Т.13. - №1. - С. 57-62.

П.Н.ДЕРЯБИН¹, Т.С.ПОНОМАРЕВА¹, Б.В.КАРАЛЬНИК², Е.А.КУСТОВА³, Т.Г.ДЕНИСОВА², Н.Т.УРАЗАЛИЕВА³, Т.И.ТУГАМБАЕВ², З.Т.АЛЫМКУЛОВА²

¹ М. Айкимбаев атындағы Қазақ каратиндік және зооноздық инфекциялар ғылыми орталығы,

² К.Х.Жуматов атындағы гигиена және эпидемиология ғылыми орталығы,

³ ҚР ДСЭДМ Педиатрия және балалар хирургиясы ғылыми орталығы

ОБАНЫҢ ТІРІ ВАКЦИНАСЫМЕН ИММУНДАЛҒАН АДАМДАРДА ТЕЛІМДІ АНТИГЕНДІК ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫ ЛИМФОЦИТТЕР ПОПУЛЯЦИЯСЫНЫҢ ДИНАМИКАСЫ

Түйін: Обаның тірі вакцинасымен иммундалған негізгі лимфоциттер популяциясын иммунофенотиптеу, тұрақты лимфоциттердің құрамын және адамдарда Y.pestis антигендеріне рецепторлары бар лимфоциттерді анықтау. Обаның тірі EV вакцинасымен иммундалған 13 сау ересек адамдарды зерттедік. 6 адам бірінші рет егілген, 7 адам екінші рет егілген (бірінші вакцинациядан кейін 1 жылдан кем емес аралықта). Вакцинацияны скарификация әдісімен жүргіздік, вакцинаның бір дозасындағы тірі микробтық торшалар мөлшері 3 x 10⁹. Шынтақ венасынан вакцинацияға дейін және 2, 4-6, 7-9, 13-14, 20-21, 27, 34, 48 және 62 вакцинациядан кейінгі кундері зерттеуге қан алдық.

Лимфоциттердің негізгі популяциялары (CD3, CD19, CD4, CD8, CD16+56, HLA-DR) және Т-реттегіш лимфоциттер CD4/CD25/FoxP3) CellQuest бағдарламасында FacsCalibur (Becton Dickenson, USA) ағымды цитофлуориметрде қос таңбаны пайдаланып, моноклональді антиденелерді қолданып лазерлік ағымды цитометрия көмегімен анықтадық. Алынған мәліметтерді бақылау тобындағы (20 мен 50 жас аралығындағы шартты сау адамдар) мәліметтермен және моноклональді антиденелерді өндірушінің референттік шегімен салыстырдық.

F1 капсульді антигендеріне және Y.pestis ЛПС негізгі (ЛФР) рецепторларымен және өзіміз алған бұқа эритроциттерімен F1 және ЛПС конъюгацияланған лимфоциттердің құрамын, иммунорегенттер лимфоциттеріне

адгезия реакциясында анықтадық, ацетальдегидпен белгіленген. Онымен қатар *Y.pestis* антигендерімен жүктелмеген бақылау реагент-эритроциттермен талдау жасадық.

Обаның тірі вакцинасымен егілген барлық тексерілген адамдардың лимфоциттер құрамындағы негізгі популяциялары (CD3, CD19, CD4, CD8, CD16+56, HLA-DR) анықталған нормалар шегінен аспаған және динамикасы өзгермеген. Сонымен қатар бірінші рет және екінші рет егілген топтарда Т-реттегіш лимфоциттердің орташа құрамының айырмашылығы жоқ.

Y.pestis антигендеріне ЛФР вакцинацияға дейін анықталған жоқ, ол вакцинациядан кейін екінші күні ғана анықталды. 20-шы күннен бастап *Y.pestis* антигендеріне ЛФР анықталған жоқ. Ескеретін жай, бақылау тобындағы вакцинациядан кейінгі 2-ші күні *Y.pestis* антигеніне рецепторлары бар лимфоциттердің құрамы екінші рет вакцинацияланған топпен салыстырғанда әлде қайда төмен болды, ал 13-14 күні керісінше артық болды.

Обаның тірі вакцинасымен егуде, егу реттілігінің *Y.pestis* антигеніне рецепторлары бар лимфоциттердің құрамына және динамикасына әсер ететіні анықталды: ревакцинацияда ЛФР перифериялық қанда бірінші рет егілгенмен салыстырғанда ерте пайда болып, ерте жойылып кетеді.

Түйінді сөздер: Обаның тірі EV вакцинасы, Т-реттегіш лимфоциттер, антигендерге рецепторлары бар лимфоциттер

P.N. DERYABIN¹, T.S. PONOMARYOVA¹, B.V. KARALNIK², E.A. KUSTOVA¹, T.G. DENISOVA²,
N.T. URAZALIEVA¹, T.I. TUGAMBAYEV¹, Z.T. ALYMKULOVA¹

¹ Aikimbaev Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Infections,

² Zhumatov Scientific Center of Hygiene and Epidemiology
Almaty, Kazakhstan

THE DYNAMICS OF ANTIGEN-SPECIFIC AND REGULATORY OF LYMPHOCYTE POPULATIONS IN PEOPLE IMMUNIZED BY LIVE PLAGUE VACCINE

Resume: Goal. Immunophenotyping of main lymphocyte populations and determine the content of regulatory T lymphocytes and lymphocyte with receptors to antigens of *Y. pestis* in humans immunized with a live plague vaccine

A total of 13 healthy adults immunized by live plague vaccine EV. 6 people were vaccinated is primary, 7 people - again (not less than 1 year after previous vaccination). Vaccination performed by the method of scarification, one dose of vaccine contains 3×10^8 living microbial cells. Blood for research were collected from ulnar vein before vaccination and at 2, 4-6, 7-9, 13-14, 20-21, 27-28 days after vaccination.

Determination of the main populations of lymphocytes (CD3, CD19, CD4, CD8, CD16 + 56, HLA-DR), markers of regulatory T-lymphocyte CD4 / CD25 / FoxP3) conducted using laser flow cytometry with monoclonal antibodies using a "double mark": two types of monoclonal antibodies labeled with different colorants (FITC - fluoirstein-5-izotiotsonat and PE - phycoerythrin). Analysis of samples was carried on a flow cytofluorimeter FacsCalibur (Becton Dickenson, USA) in the program CellQuest. The results obtained were compared with data from in the control group (50 conditionally healthy people aged 20 to 50 years) and reference limit of normal by the manufacturer monoclonal antibodies.

The content of lymphocyte with receptors (LFR) to *Y. pestis* antigens F1 and LPS was determined in response to lymphocyte adhesion of immunoreagents and which we obtained conjugating F1 and LPS c erythrocytes bovine, fixed acetaldehyde. Simultaneously carried out of such tests with the control reagent erythrocytes not loaded antigens *Y. pestis*.

It was shown that content of the main of lymphocyte populations (CD3, CD19, CD4, CD8, CD16 + 56, HLA-DR) in all examined people vaccinated live plague vaccine does not go beyond the normal values and remained practically unchanged over time.

The average content of T - regulatory lymphocytes in the group of primary and re-vaccinated also did not differ significantly

The lymphocytes with receptors to antigens of *Y. pestis* not found before vaccination, and detected at the 2nd, 6th, 9th and 13th day after vaccination. After the 20th day of lymphocytes with receptors for *Y. pestis* antigens were not determined. It should be noted that the content of lymphocyte with receptors to the *Y. pestis* antigens on the 2nd and 13th day after the is primary vaccination in the vaccinated group were significantly less than in the group vaccinated repeatedly. On the 6th and 9th day after vaccination content of lymphocytes with receptors for *Y. pestis* antigen in both groups of vaccinated of people were not significantly different.

Thus, it can be noted that the multiplicity immunization live plague vaccine effect on content of T-regulatory lymphocytes, the content and dynamics of lymphocyte with receptors to antigens of *Y. pestis*.

Keywords: Live plague vaccine EV, T - regulatory lymphocytes, lymphocytes with receptors to antigen