

УДК 616.915-085.373:616-053.2

## СТАН ПРОТИКОРОВОГО ІМУНІТЕТУ У ЧАСТО ХВОРИЮЧИХ ДІТЕЙ ТА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК РІВНЯ ПРОТИКОРОВИХ АНТИТІЛ З HLA-ФЕНОТИПОМ

Усатий Р. С., Попов М.М., Романова \* О. А.,  
Савво О.М.

Харківський національний університет імені В.  
Н. Каразіна

\*ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І.  
Мечникова АМН України», Харків

Кір – одне з найпоширеніших у світі пропасних захворювань, що супроводжується висипом на шкірі. Незважаючи на наявність ефективних профілактичних заходів, воно залишається проблемою охорони здоров'я глобального масштабу.

До широкого впровадження активної імунізації у 60-х роках минулого сторіччя, епідемії кору виникали циклічно через 2-3 роки, зазвичай у весняні місяці, і близько 95% дітей у містах хворіли на нього, не досягнувши 16-річного віку.

Ураження короною інфекцією є класичним прикладом хвороби, при якій теоретична обґрунтованість її ліквідації не викликає сумніву. Це обумовлено виникненням стійкого імунітету після захворювання, єдиним в усьому світі антигенним варіантом вірусу кору, типовою клінічною картиною, відсутністю вірусносійства та інших резервуарів у природі окрім людини [1].

З урахуванням усіх цих особливостей інфекції кору та наявності безпечної та ефективної вакцини Всесвітня Асамблея охорони здоров'я у 1989 р. і Рада Глав Держав з дитячої охорони здоров'я у 1990 р. поставили завдання зниження рівня захворюваності і смертності відповідно на 90% і 95% у порівнянні з передвакцинальним періодом. За даними ВООЗ, у передвакцинальному періоді щорічно у світі хворіло на кір від 135 до 140 млн і вмирало від 5 до 7 млн дітей. Тому Розширена Програма Імунізації ВООЗ поставила завдання щодо охоплення щепленням не менше 90% дітей до одного року в кожній країні, області, населеному пункті з метою зниження смертності до 1% [2].

Консультативна група ВООЗ у 1996 р. дійшла висновку, що можлива не тільки елімінація кору в окремо взятих країнах і регіонах, але і повна його ліквідація, тобто глобальне припинення циркуляції вірусу кору, ліквідація його резервуару, що зробило б можливим припинення вакцинації [2].

За даними ВООЗ у 2007 році в усьому світі відбулося 197 000 випадків смерті від кору - майже 540 випадків на день або 22 випадка на годину, але роком раніше їх було 242 000, а у 2000 році - 757 000 випадків смерті від цієї інфекції [3].

За даними міністерства охорони здоров'я України, підвищена захворюваність на кір у нашій країні реєструється кожні 4-5 років. За останнє десятиліття спостерігалось два підйоми захворюваності на кір,

перший – в 2001-2002 роках, коли занедужало більш ніж 24 000 людей. Найбільша кількість хворих спостерігалась серед підлітків і дорослого населення.

Другий підйом захворюваності зареєстрований у 2006 році, коли число хворих на кір досягло 42 724, що у 1,786 разів більше, аніж під час попереднього підйому, у тому числі було зафіксовано 5 летальних випадків. Найбільша кількість хворих на кір була зареєстрована у віковій групі 16-29 років і склала 65% [4].

На даний час відсутні чіткі рекомендації з потреби вакцинації дітей, які не відреагували на вакцинацію, або тих, що мають низькі титри поствакцинальних або навіть постінфекційних антитіл. Обговорюється питання додаткової вакцинації проти кору незахищених або недостатньо захищених пацієнтів з метою досягнення не тільки документального охоплення вакцинацією, але і досягнення більш надійної захищеності дитячого населення від цієї інфекції.

У зв'язку з цим особливу увагу привертають діти, які належать до групи часто хворіючих. Відомо, що у них знижена загальна імунореактивність, що робить їх високочутливими до різноманітних інфекцій. Саме тому повноцінний захист проти кору для цих пацієнтів особливо важливий. Для цієї категорії пацієнтів багато практичних питань вакцинації проти кору залишаються невирішеними.

Мета дослідження – оцінка стану специфічного протикорового імунітету у часто хворіючих дітей і взаємозв'язок титру протикорових IgG з рівнем окремих класів імуноглобулінів сироватки крові і HLA-фенотипом.

### Матеріали та методи

Під нашим спостереженням перебувало 83 дитини віком від 12 до 15 років, які належать до категорії тих, що часто хворіють – пацієнтів Обласної дитячої клінічної лікарні №1.

Усі діти були вакциновані проти кору відповідно до наказу МОЗ України №48 від 03.02.2006 р. «Про порядок проведення профілактичних щеплень в Україні та контроль якості та обігу медичних імунологічних препаратів».

**Визначення рівня протикорових IgG.** Вміст у сироватці крові протикорових IgG визначали методом ІФА за допомогою спеціальної тест-системи «Вектор-Бест» (сел. Кольцово, Новосибірська обл., Росія).

**HLA-типуювання** виконували за допомогою комплекмент-залежного цитотоксичного тесту [5]. Панель типуючих сироваток була отримана з Російського НДІ Гематології й трансфузіології (м. Санкт-Петербург, Росія).

**Рівень IFN- $\alpha$  та IFN- $\gamma$**  у сироватці крові визначали методом ІФА згідно з інструкцією, що додається.

**Визначення концентрації імуноглобулінів.** Концентрацію

імуноглобулінів у сироватці крові визначали в присутності ПЕГ-6000 спектрофотометричним методом [6].

**Дослідження афінності імуноглобуліну G.** Афінність IgG-антитіл до спільної антигенної детермінанти (САД) бактерій оцінювали за допомогою відносної величини за методикою R. Luxton та E. Tompson [7] і Я. І. Тельнюк із співавт. [8], яка базується на застосуванні в ІФА тіоціанату натрію (NaSCN) («Sigma», США). Метод полягає в тому, що після видалення з лунок планшету досліджуваної сироватки (яка прореагувала з САД) в них вносять 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 М NaSCN. Реагент, змінюючи рН та іонну силу, руйнує комплекси антиген-антитіло. У 5-ту (контрольну) лунку вносять фосфатно-сольовий буфер для визначення вихідного вмісту антитіл.

Значення афінності (А) у відносних одиницях (в.о.) обчислювали за формулою:

$$A = 12 \times A_{5,0} + 11 \times A_{4,5} + 10 \times A_{4,0} + 9 \times A_{3,5},$$

Де  $A_{5,0}$ ,  $A_{4,5}$ ,  $A_{4,0}$ ,  $A_{3,5}$  - відносний вміст антитіл, що залишилися в лунках планшета після внесення розчину тіоціанату натрію відповідної концентрації, стосовно вихідного рівня антитіл.

Вміст IgG-антитіл до САД визначали за допомогою ІФА на апараті Stat Fax 303 Plus (США).

**Статистичну обробку** результатів проводили за допомогою програми «Statistica» [9].

За кожною ознакою у всіх досліджуваних вибірках визначали середнє арифметичне (М) і помилку середнього (m).

Перевірку гіпотези про рівність генеральних середніх оцінювали за допомогою u-критерія Манна-Уїтні для незалежних вибірок (порівняння між групами за експресією HLA-DR). Нульову гіпотезу відкидали при  $p < 0,05$ . Силу асоціації аналізованих ознак визначали за допомогою величини відносного ризику (RR), яку вираховували за модифікованою формулою для малих вибірок, а також величини етіологічної фракції (EP) і превентивної фракції (PF). Вважали, якщо  $RR = 1$ , асоціація відсутня; якщо  $RR < 1$ , асоціація негативна; якщо  $RR > 2$ , асоціація позитивна [10].

### Результати та обговорення

Наші дослідження показали, що за останнє десятиліття ситуація захворюваності на кір у м. Харкові і Харківській області відповідає такій в Україні в цілому (Рис. 1). Найбільший підйом захворюваності на кір спостерігався у 2006 - 2007 рр., найменший - у 2003 - 2005 рр.

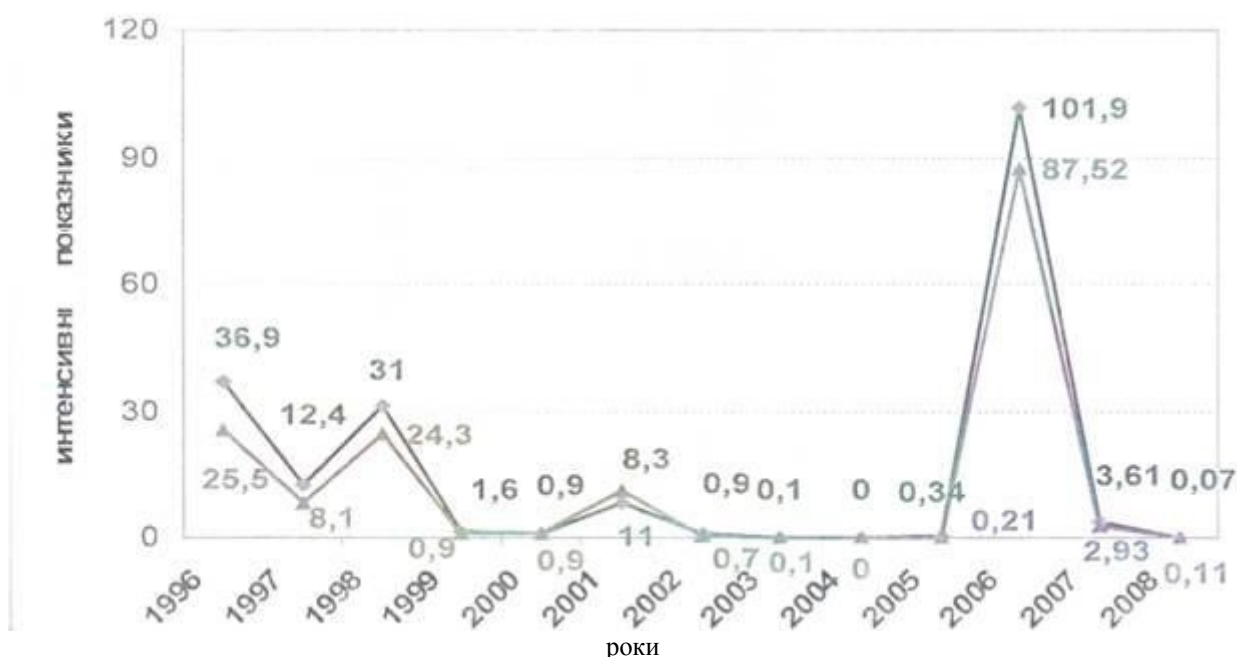


Рис. 1. Захворюваність на кір у Харкові та Харківській області у 1996-2008 рр.

◇ — м. Харків Δ — Харків. обл.

На жаль, до цього часу немає науково обґрунтованого аналізу причин підйому захворюваності на кір кожні 4-5 років з вивченням стану специфічного та неспецифічного імунітету різних груп населення.

Проведені нами дослідження показали, що 53% дітей, що часто хворіють на ГРВІ, не мають захисних титрів протикорових IgG. У цих дітей титр антитіл становить менше 0,20 МЕ/мл. Серед дітей, що епізодично хворіють, відсоток пацієнтів, які не

мають захисного титру протикорових антитіл, становить 19,2%.

Оцінка асоціації HLA-DR фенотипу з напруженістю протикорового імунітету показала, що найбільший титр протикорових IgG спостерігався у хлопчиків, що експресували HLA-DR5 і HLA-DR1, а найменший – у хлопчиків з фенотипом HLA-DR7 і HLA-DR Blank. У дівчаток найбільший титр протикорових IgG спостерігався з HLA-DR2 і HLA-DR1. Низькі значення протикорових IgG у дівчаток, як і у хлопчиків, асоціювалися з HLA-DR7 і HLA-DR Blank. Відмінностей у рівні протикорових IgG від статі дитини (хлопчик, дівчатка) виявлено не було. Відсутність захисних титрів протикорових антитіл було виявлено у 25,3% дівчаток (21 дитина) і 27,7% хлопчиків (23 дитини).

Про наявність зв'язку між інтенсивністю виробки поствакцинальних антитіл та генетичними маркерами дітей повідомлялося багатьма дослідниками [11-14]. Наші дані підтверджують наявність такого зв'язку.

Закономірність, що простежується, вірогідно, пов'язана із силою та якістю представлення HLA-молекулами епітопів антигенів корової вакцини. Можливо, це пов'язано з особливостями процесінгу та презентації цими молекулами саме корового антигену, оскільки низька імунна відповідь на вакцинацію АКДП асоційована з іншим HLA-фенотипом [11,12].

Вивчення показників загального імунітету показало, що у часто хворіючих дітей, які не мають захисного титру протикорових IgG, рівень загального IgG становив  $10,0 \pm 0,42$  г/л, тоді як у дітей з захисним титром протикорових антитіл він був дещо вищим:  $11,9 \pm 0,51$  г/л.

У дітей з низьким титром протикорових антитіл афінність IgG-антитіл, що виробляються до САД бактерій, була вірогідно нижчою, ніж у дітей із захисним титром протикорових антитіл (відповідно  $636,5 \pm 71,6$  відн. од. і  $849,3 \pm 93,6$  відн. од.,  $p < 0,05$ ).

Між концентрацією у сироватці крові IgM і рівнем протикорових IgG - антитіл спостерігався зворотній зв'язок. Концентрація IgM у дітей, що мали захисний рівень протикорових антитіл, становила  $0,93 \pm 0,1$  г/л, у дітей, в яких його не було –  $1,21 \pm 0,1$  г/л ( $P < 0,05$ ).

Відмінностей у концентрації IgA у сироватці крові пацієнтів із захисним титром протикорових антитіл і без них виявлено не було. Концентрація IgA становила відповідно  $0,94 \pm 0,05$  г/л і  $0,92 \pm 0,05$  г/л.

У обстежених дітей, що часто хворіють, які мали захисні титри антитіл проти кору, рівень IFN- $\alpha$  становив  $5,6 \pm 0,4$  пг/мл, а IFN- $\gamma$  –  $57,4 \pm 3,4$  пг/мл, що вище, ніж у дітей без захисного титру, відповідно  $4,0 \pm 0,3$  пг/мл,  $47,8 \pm 2,9$  пг/мл.

## Висновки

1. Фактична захищеність проти корової інфекції у дітей, що часто хворіють на ГРЗ недостатня, і ці пацієнти можуть бути

резервуаром для розмноження вірусу кору, порушуючи благочинну епідеміологічну ситуацію в країні.

2. Отримані дані свідчать про те, що вироблення протикорових IgG-антитіл перебуває у тісному зв'язку із загальною імунореактивністю організму і прямо корелює з рівнем загального імуноглобуліну G і афінністю IgG, що продукується до САД бактерій. Низька напруженість протикорового імунітету асоційована з комплексом HLA-DR7 і HLA-DR Blank.

3. Встановлення взаємозв'язку між показниками загального імунітету та рівнем специфічних антитіл до кору може бути використане для прогнозування ефективності вакцинопрофілактики, визначення терміну та умов її проведення.

## Література

1. Возіанова Ж.І. Інфекційні паразитарні хвороби [Текст] / Ж.І.Возіанова – К.: Здоров'я, 2002. – 904с. – ISBN 5-7531-1025-0.
2. Попов В.Ф. Корь и коревая вакцина Л-16 [Текст] / В.Ф.Попов – М.: Медицина, 2002. – 192 с. – ISBN 3-6231-927-0.
3. Зверев В.В. Корь. Молекулярная генетика возбудителя, эпидемиология, специфическая профилактика [Текст] / В.В.Зверев, С.Г.Маркушин, Н.В.Юминова – СПб:Орион, 2004. – 112 с - ISBN 5-6334-523-0.
4. Кохан І. Імунологія [Текст] / І.Кохан – Київ-Торонто:Кобза, 1994. – 442 с. – ISBN 5-87274-032-8.
5. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика [Текст] / Ю.М.Зарецкая – М.: Медицина, 1983. – С. 41-43. – К 90.
6. Чиркин В.В. Спектрофотометрический метод определения концентрации сывороточных иммуноглобулинов трех классов / В.В.Чиркин, Ю.Ю.Веников, Г.И.Кожевников [Текст] // Иммунология. – 1990. – №3. – С. 75-77.
7. Luxton R.W. Affinity distributions of antigen-specific IgG in patients with multiple sclerosis and in patients with viral encephalitis [Текст] / R.W Luxton, E.J. Tompson // J. Immunol. Meth. – 1990. – Vol. 131. – P. 277-282.
8. Тельнюк Я.И., Сетдикова Н.Х., Карсонова М.М. Особенности иммунной системы больных хроническим рецидивирующим фурункулезом и влияние на нее иммуотропной терапии [Текст] / Я.И.Тельнюк, Сетдикова Н.Х., М.М. Карсонова // Иммунология. – 2003. – № 1. – С. 20- 23.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Приложение пакета прикладных программ STATISTICA. [Текст] / О.Ю.Реброва – М.: Медиа Сфера, 2002. – 163 с. – ISBN 5-6242-1031-1.
10. Певницкий Л.А. Статистическая оценка ассоциации HLA- антигенов с заболеваниями

[Текст] / Л.А.Певницкий // Вестн. АМН СССР. – 1988. – №7. – С. 48-51.

11. Прилуцкий А.С. Особенности иммунного ответа у детей, имеющих различные фенотипы HLA, при I ревакцинации [Текст] / А.С.Прилуцкий, А. А.Сохин, Э. А. Майлян и др. // Журнал микробиологии. – 1994. – №6. – С. 86- 88.
12. Прилуцкий А.С., Сохин А. А., Майлян Э. А. и др. Связь интенсивности выработки антител к возбудителям дифтерии и столбняка с некоторыми генетическими маркерами у детей, вакцинированных АКДС [Текст] / А.С.Прилуцкий, А. А.Сохин, Э. А. Майлян и др. // Журнал микробиологии. – 1994. – №2. – С. 89-92.
13. Hayney M.C. The influence of the HLA-DR B1\*13 allele on measles vaccine response [Текст] / M.C.Hayney, G. A.Poland, R. M. Jacobson et al. // J. Investig. Med. – 1996. – Vol. 44. – №5. – P. 261-263.
14. Poland G. A., Jacobson R. M. The genetic basis for variation in antibody response to vaccine 1 [Текст] / G. A.Poland, R. M Jacobson // J. Curr. Option Pediatr. – 1998. – № 10. – P. 208-215.

УДК 616.915-085.373:616-053.2

#### СТАН ПРОТИКОРОВОГО ІМУНІТЕТУ У ЧАСТО ХВОРІЮЧИХ ДІТЕЙ ТА ВЗАЄМЗВ'ЯЗОК РІВНЯ ПРОТИКОРОВИХ АНТИТІЛ З НЛА-ФЕНОТИПОМ

Усатий Р. С., Попов М. М., Романова О. А. \*, Савво О.М.

Проведення даного дослідження дало змогу оцінити стан специфічного протикорового імунітету у часто хворіючих дітей, а також виявити і проаналізувати взаємозв'язок титру протикорових IgG з рівнем окремих класів імуноглобулінів сироватки крові і НЛА-фенотипом. Отримані дані вказують на те, що продукція протикорових IgG-антитіл перебуває у тісному зв'язку з загальною імунореактивністю організму і прямо корелює з рівнем загального імуноглобуліну G і афінністю IgG, що продукується до САД бактерій. В ході роботи також виявлено, що низька напруженість протикорового імунітету асоційована з комплексом HLA-DR7 і HLA-DR Blank. Результати роботи можуть бути використані для прогнозування ефективності вакцинопрофілактики, визначення терміну та умов її проведення.

**Ключові слова:** кір, вакцинація, часто хворіючі діти.

УДК 616.915-085.373:616-053.2

#### СОСТОЯНИЕ ПРОТИВОКОРЕВОВОГО ИММУНИТЕТА У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ И

#### ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ ПРОТИВОКОРЕВИХ АНТИТЕЛ С НЛА-ФЕНОТИПОМ

Усатый Р. С., Попов Н. Н., Романова Е. А., Савво А.Н.

Проведение данного исследования дало возможность оценить состояние специфического протикорового иммунитета у часто болеющих детей, а также обнаружить и проанализировать взаимосвязь титра протикоровых IgG с уровнем отдельных классов иммуноглобулинов сыворотки крови и НЛА-фенотипом. Полученные данные указывают на то, что выработка протикоровых IgG-антител находится в тесной связи с общей иммунореактивностью организма и прямо коррелирует с уровнем общего иммуноглобулина G и аффинностью IgG, который продуцируется к ОАД бактерий. В ходе работы также обнаружено, что низкая напряженность протикорового иммунитета ассоциируется с комплексом HLA-DR7 и HLA-DR Blank. Результаты работы могут быть использованы для прогнозирования эффективности вакцинопрофилактики, определения сроков и условий ее проведения.

**Ключевые слова:** корь, вакцинация, часто болеющие дети.

UDC 616.915-085.373:616-053.

#### THE STATE OF ANTIMEASLES IMMUNITY IS IN OFTEN BEING ILL CHILDREN AND INTERCOMMUNICATION OF LEVEL OF ANTIMEASLES ANTIBODIES WITH HLA-PHENOTYPE

Usatiy R. S., Popov N. N., Romanova E. A. \*, Savvo A.N.

V. N. Karazin Kharkov national university, Ukraine  
\*State Institution «I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology SAM of Ukraine»

Conducting this study provided an opportunity to assess the state of specific immunity in measles sickly children, as well as to detect and analyze the relationship measles IgG titer with the level of individual classes of immunoglobulins serum blood and HLA-phenotypes. The data indicate that the development of measles IgG-antibodies is in close contact with the general immunoreactivity body and directly correlated with the level of total immunoglobulin G and affinity IgG that is produced by CAD of the bacteria. Also during the operation revealed that the low intensity of measles immunity is associated with a complex of HLA-DR7 and HLA-DR Blank. Results can be used to predict the effectiveness of vaccination, the timing and modalities of its implementation.

**Key words:** measles, vaccination, often ill children.