

© Коллектив авторов, 2003

Л.А. Гордеева¹⁾, А.В. Шабалдин¹⁾, А.Н. Глушков¹⁾, Е.М. Семенова²⁾, Л.М. Казакова³⁾

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУННОГО ОТВЕТА К ОСНОВНЫМ ВАКЦИННЫМ АНТИГЕНАМ И СЕЛЕКЦИИ HLA DR В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

¹⁾ Отдел иммунологии рака Кемеровского научного центра СО РАН,

²⁾ Кемеровский областной перинатальный центр,

³⁾ Кемеровская государственная медицинская академия, РФ

Исследовали взаимосвязь между иммунным ответом на основные вакцинальные антигены и селекцией HLA DR в раннем онтогенезе. Авторы показали селективность наследования HLA DR от родителей к детям, связанную с особенностями иммунного ответа на основные вакцинные антигены. Низкий иммунный ответ на коревую вакцину был ассоциирован с селективной передачей HLA DR3 только от отцов, а высокий иммунный ответ на дифтерийный анатоксин — с селективной передачей HLA DR3 только от матерей.

Authors studied correlation between immune response on main vaccinal antigens and HLA DR selection in early ontogenesis. They showed selectivity in HLA DR inheritance from parents to children, associated with immune response on main vaccinal antigens. Low immune response on measles vaccine virus was associated with selective HLA DR3 transfer only from fathers, and high immune response to diphtheretic anatoxin was associated with selective HLA DR3 transfer only from mothers.

В исследованиях, проведенных ранее, нами была выявлена избирательная селекция HLA DR3 в раннем онтогенезе [1], которую объясняли неравновероятным взаимодействием половых клеток на разных этапах эмбриогенеза [2, 3]. В то же время некоторые авторы указывают на то, что феномен «мейотического драйва», способствующий неменделевскому расщеплению признаков в последующих поколениях, связан с высоковирулентными для популяции инфекционными агентами [4, 5]. Именно этот механизм способствовал адаптации целого ряда популяций к таким инфекциям, как чума, оспа, холера, малярия. В обзорной работе Hedrick P.W. [5] показал, что спектр частот HLA в современных популяциях есть факт сбалансированной селекции HLA инфекционными агентами и паразитами.

В настоящей работе мы изучали взаимосвязь между иммунным ответом на основные вакцинные антигены (АГ) и селекцией HLA DR в раннем онтогенезе.

Материалы и методы исследования

Для выполнения поставленной задачи проанализировали HLA DR фенотипы 83 семейных пар и их детей. Изучали наследование от отцов и ма-

терей к их детям каждого из аллелей HLA DR с учетом иммунного ответа на коревой и дифтерийный вакцинные АГ в разные возрастные периоды.

Все обследуемые дети иммунизированы вакцинами АКДС и живой коревой (ЖКВ) в декретированные сроки. В возрасте 9 месяцев оценивали ранний иммунный ответ на дифтерийный анатоксин и материнские противокоревые антитела (АТ). В 14 месяцев оценивали иммунный ответ на дифтерийный и коревой (спустя 2,5 месяца после иммунизации ЖКВ) вакцинные АГ. Динамику количества АТ с 9-го по 14-й месяцы жизни оценивали путем вычитания количества АТ в 9 месяцев из такового в 14 месяцев у каждого ребенка.

HLA DR типирование семейных пар и их детей выполняли с помощью лимфоцитотоксического теста [6]. Панель для типирования, полученная из НИИ гематологии и переливания крови г. Санкт-Петербург, включала 36 антисывороток против 7 АГ локуса HLA DR. Неидентифицированные HLA DR были отнесены к группе Blank.

Напряженность иммунитета к дифтерии и кори определяли в РИГА. Использовали соответствующие наборы дифтерийного эритроцитарного диагностикума производства АО «Биомед» им. И.И. Мечникова (выражали в МЕ/мл) и диагностикума эритроцитарного коревого АГ сухого (КЭД—90) НИИЭМ им. Пастера г. Санкт-Петербург (выражали в титрах). Защитным против дифтерии считали концентрацию АТ \geq 0,019 МЕ/мл, а защитным против кори — титр АТ \geq 1:10.

Статистический анализ выполняли с использованием ППП «Statistika for WINDOWS 5.0». Достоверность полученных показателей оценивали с помощью 4-польной таблицы сопряженности (χ^2 модуль «Nonparametrics/Distrib») [7].

Результаты и их обсуждение

Данные, представленные в табл. 1, показывают, что в 9 месяцев жизни характер иммунного ответа к коревому и дифтерийному вакцинным АГ не был связан с избирательностью наследования HLA DR от родителей к их детям. Такая же ситуация наблюдалась и в 14 месяцев жизни. При исследовании динамики иммунного ответа на ЖКВ и АКДС для большего числа HLA DR избирательность в наследовании их от родителей к детям не была обнаружена. Исключение составил HLA DR3. Так, дети с минимальным титром АТ к кори в сыворотке наследовали от родителей DR3 достоверно чаще, чем дети с защитным титром АТ к вакцинному вирусу кори (соответственно 95,6% и 4,4% против 71,4% и 28,6%; $\chi^2=4,37$; $p=0,036$). Для иммунного ответа на дифтерийный компонент АКДС-вакцины выявлена прямо противоположная ситуация. При формировании противодифтерийного иммуни-

тета избирательная передача HLA DR3 от обоих родителей детям была связана с выраженной динамикой иммунного ответа (соответственно 71,4% и 28,6% против 95,6% и 4,4%; $\chi^2=4,37$; $p=0,036$).

Мы оценивали наследование HLA DR отдельно от отцов и матерей в зависимости от характера иммунного ответа у детей на основные вакцинные АГ.

Из табл. 2 видно, что формирование противокорьевого иммунитета у детей связано с наследованием HLA DR3 исключительно от отцов, но не от матерей. Дети, ответившие на вакцинацию ЖКВ низкой выработкой АТ к кори (<1:10) с 9-го по 14-й месяцы жизни, в 100% случаев наследовали HLA DR3 от отца, в то время как дети с выраженным иммунным ответом к коревому вакцинному АГ ($\geq 1:10$) наследовали отцовский DR3 равновероятно. Достоверные отличия выявлены при наследовании HLA DR3 от отца для динамики иммунного ответа (соответственно 100% и 0% в сравнении с 66,7% и 32,3%; $\chi^2=5,87$; $p=0,015$).

Между тем передача материнских HLA DR, в том числе и DR3, детям с учетом иммунного ответа на коревой вакцинный АГ в указанные возрастные периоды носила случайный характер.

Таблица 1

Взаимосвязь формирования противокорьевого и противодифтерийного иммунитета с наследованием HLA DR от родителей к детям в раннем онтогенезе

HLA DR	P	Корь						Дифтерия							
		Титр АТ	9 мес		14 мес		динамика		Концентрация АТ, МЕ/мл	9 мес		14 мес		динамика	
			+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁		+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁		
DR1	45	<1:10	19	18	10	9	14	13	<0,019	4	4	1	2	10	11
		$\geq 1:10$	6	2	15	11	11	7	$\geq 0,019$	21	16	24	18	15	9
DR2	41	<1:10	18	18	13	12	14	14	<0,019	6	7	2	2	10	7
		$\geq 1:10$	3	2	8	8	7	6	$\geq 0,019$	15	13	19	18	11	13
DR3	37	<1:10	26	4	17	1	22*	1	<0,019	6	1	3	0	10	4
		$\geq 1:10$	6	1	15	4	10	4	$\geq 0,019$	26	4	29	5	22*	1
DR4	27	<1:10	13	11	7	8	8	8	<0,019	1	5	0	1	7	7
		$\geq 1:10$	1	2	7	5	6	5	$\geq 0,019$	13	8	14	12	7	6
DR5	44	<1:10	16	21	9	13	11	15	<0,019	6	3	0	2	8	6
		$\geq 1:10$	5	2	12	10	10	8	$\geq 0,019$	15	20	21	21	13	17
DR6	31	<1:10	11	14	5	5	7	8	<0,019	2	3	1	1	3	11
		$\geq 1:10$	1	5	7	14	5	11	$\geq 0,019$	10	16	11	18	10	7
DR7	37	<1:10	14	18	11	13	13	16	<0,019	4	3	2	0	7	8
		$\geq 1:10$	2	3	5	8	3	5	$\geq 0,019$	12	18	14	21	9	14
Blank	70	<1:10	21	34	8	19	11	25	<0,019	9	12	5	6	10	18
		$\geq 1:10$	4	11	17	26	14	20	$\geq 0,019$	16	33	20	39	15	27

Здесь и в табл. 2 и 3: P — родители, «+F₁» — наследование родительских HLA DR у детей первого поколения, «-F₁» — отсутствие наследования; данные представлены в абсолютных значениях; * $\chi^2=4,37$; $p=0,036$.

Таблица 2

Взаимосвязь формирования противокорревого иммунитета и наследования HLA DR от родителей к детям в раннем онтогенезе

HLA DR	P	От отца						От матери							
		Титр АТ	9 мес		14 мес		динамика		P	9 мес		14 мес		динамика	
			+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁		+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁		
DR1	29	<1:10	11	12	4	8	6	9	16	8	6	6	1	8	4
		≥1:10	4	2	11	6	9	5		2	0	4	5	2	2
DR2	17	<1:10	7	8	6	5	6	7	24	11	10	7	7	8	7
		≥1:10	2	0	3	3	3	1		1	2	5	5	4	5
DR3	22	<1:10	16	1	12	0	16*	0	15	10	3	5	1	6	1
		≥1:10	4	1	8	2	4	2		2	0	7	2	6	2
DR4	15	<1:10	6	7	2	6	2	6	12	7	4	5	2	6	2
		≥1:10	0	2	4	3	4	3		1	0	3	2	2	2
DR5	20	<1:10	7	10	5	5	6	6	24	9	11	4	8	5	9
		≥1:10	2	1	4	6	3	5		3	1	8	4	7	3
DR6	17	<1:10	7	6	4	2	5	3	14	4	8	1	3	2	5
		≥1:10	1	3	4	7	3	6		0	2	3	7	2	5
DR7	13	<1:10	4	8	2	7	3	8	24	10	10	9	6	10	8
		≥1:10	0	1	2	2	1	1		2	2	3	6	2	4
Blank	33	<1:10	11	17	7	6	11	10	37	10	17	3	12	5	14
		≥1:10	1	4	14	6	6	10		3	7	10	12	8	10

* $\chi^2=5,87$; $p=0,015$.

Напротив, формирование противодифтерийного иммунитета у детей было связано с наследованием HLA DR3 от матерей, но не от отцов (табл. 3).

Из табл. 3 видно, что дети с выраженным нарастанием иммунного ответа на дифтерийный компонент АКДС-вакцины с 9-го по 14-й месяцы жизни наследовали от матерей DR3 чаще, чем дети с минимальным увеличением количества АТ в сыворотке крови, хотя достоверные отличия были выявлены только в динамике иммунного ответа. Так, у детей с выраженной динамикой иммунного ответа передача DR3 от матерей осуществлялась достоверно чаще, в то время как дети с низкой динамикой иммунного ответа ($\geq 0,019$) наследовали DR3 от матерей равновероятно (соответственно 100% и 0% против 57% и 43%; $\chi^2=4,29$; $p=0,038$).

В то же время передача детям отцовских HLA DR, в том числе и DR3, с учетом иммунного ответа в указанные возрастные периоды носила случайный характер.

Таким образом, наше исследование выявило избирательность в наследовании HLA DR3 от родителей к детям, связанную с формированием иммунного ответа на основные вакцинные АГ. Слабое нарастание иммунного ответа к вакцинному вирусу кори было взаимосвязано с избирательной переда-

чей HLA DR3 исключительно от отцов. Напротив, выраженное нарастание иммунного ответа к дифтерийному анатоксину было взаимосвязано с избирательной передачей HLA DR3 только от матерей. Полученные результаты не противоречат ранее установленным данным Н.Д. Ющук с соавт. [8], которые продемонстрировали повышенную частоту встречаемости HLA DR3 у лиц, привитых против кори, но в последующем переболевших ею. В свою очередь А.А. Джумагазиев [9] выявил ассоциации HLA DR3 у детей русской популяции с некоторыми воздушно-капельными инфекциями (корь, краснуха, скарлатина). Кроме того, в исследованиях Green M.S. с соавт. [10] установлено, что в возрасте 18—20 лет после иммунизации ЖКВ средний геометрический титр АТ к кори у девушек был достоверно выше, чем у юношей.

Механизмы селекции HLA DR в зависимости от иммунного ответа к вакцинным АГ не вполне понятны. Возможно, обнаруженный нами феномен обусловлен персистирующим вирусом кори или поствакцинальными АТ, избирательно реагирующими с гаметамы определенного гаплотипа. Однако эти предположения нуждаются в дальнейшей детальной проработке на больших выборках с использованием более современных методов анализа отдель-

Таблица 3

Взаимосвязь формирования противодифтерийного иммунитета и наследования HLA DR от родителей к детям в раннем онтогенезе

HLA DR	P	От отца						От матери							
		Концентрация АТ, МЕ/мл	9 мес		14 мес		динамика		P	9 мес		14 мес		динамика	
			+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁		+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁	+F ₁	-F ₁
DR1	29	<0,019	2	4	1	2	7	10	16	2	0	0	0	3	1
		≥0,019	13	10	14	12	8	4		8	6	10	6	7	5
DR2	17	<0,019	3	2	0	1	5	4	24	3	5	2	1	5	3
		≥0,019	6	6	9	7	4	4		9	7	10	11	7	9
DR3	22	<0,019	3	1	2	0	6	1	15	3	0	1	0	4	3
		≥0,019	17	1	18	2	14	1		9	3	11	3	8*	0
DR4	15	<0,019	0	4	0	1	4	5	12	1	1	0	0	3	2
		≥0,019	6	5	6	8	2	4		7	3	8	4	5	2
DR5	20	<0,019	3	0	0	0	2	2	24	3	3	0	2	6	4
		≥0,019	6	11	9	11	7	9		9	9	12	10	6	8
DR6	17	<0,019	2	1	1	0	5	3	14	0	2	0	1	3	6
		≥0,019	6	8	7	9	3	6		4	8	4	9	1	4
DR7	13	<0,019	1	2	0	0	1	0	24	3	1	2	0	6	7
		≥0,019	3	7	4	9	3	9		9	11	10	12	6	5
Blank	33	<0,019	5	5	3	3	5	9	37	4	7	2	3	5	9
		≥0,019	7	16	9	18	7	12		9	17	11	21	8	15

* $\chi^2=4,29$; $p=0,038$.

ных аллелей HLA и с изучением МНС 1-го класса. Наиболее вероятным объяснением этого феномена является гибель особей определенных HLA генотипов в результате парциальных иммунодефицитов или же при развитии вторичных поствакцинальных иммунодефицитов (постнатальная селекция). Пренатальная селекция, исходя из наших данных, возможно, также имеет место. В результате этой селекции происходит накопление определенных аллелей, гаплотипов и генотипов HLA в последующих поколениях. В данном случае избирательная селекция HLA DR3 будет способствовать развитию в популяции системных аутоиммунных заболеваний [6]. По-видимому, для популяции в целом вакцинация имеет как положительное, так и отрицательное значение. С одной стороны, создается коллективный противоинфекционный иммунитет, с другой стороны, происходит накопление в популяции генов, ассоциированных с иммунопатологией.

В то же время заслуживает внимания сам факт селекции генов иммунного ответа под воздействием вакцин. При этом наследование одного гена от разных родителей взаимосвязано с развитием пря-

мо противоположных ситуаций. Наследование HLA DR3 от отцов взаимосвязано с низкой динамикой иммунного ответа на коревой вакцинный АГ, наследование от матери — с выраженной динамикой иммунного ответа к дифтерийному компоненту АКДС-вакцины.

Проведенное исследование подтверждает правильность и целесообразность использования такого показателя, как динамика иммунного ответа в определенные периоды развития ребенка, будь то противовирусный или противобактериальный иммунитет.

Заключение

Имеет место избирательность в наследовании HLA DR3 от родителей к детям, связанная с иммунным ответом на основные вакцинные АГ. Низкий иммунный ответ к вакцинному вирусу кори взаимосвязан с избирательной передачей HLA DR3 исключительно от отцов, в то время как высокий иммунный ответ к дифтерийному анатоксину взаимосвязан с избирательной передачей HLA DR3 только от матерей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казакова Л.М., Шабалдин А.В., Глушков А.Н. и др. // Педиатрия. — 1999. — № 2. — С. 86—88.
2. Шабалдин А.В., Глушков А.Н., Логинова Л.А. // Вестн. Российской Академии естественных наук (ЗСО). — 2001. — Вып. 4. — С. 37—44.
3. Glushkov A.N., Shabal'din A.V., Stein M.A. // Russian J. Immunology. — 2001. — Vol. 6, № 1. — P. 61—70.
4. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. — М., 1990. — С. 310—320.
5. Hedrick P.W. // Genetica. — 1998—1999. — Vol. 104, № 3. — P. 207—214.
6. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика. — М., 1983. — С. 41—42.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М., 1990. — С. 124—126.
8. Ющук Н.Д., Фролов В.М., Ершова И.Б. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1998. — № 3. — С. 55—57.
9. Джумагазиев А.А. // Педиатрия. — 1995. — № 3. — С. 43—46.
10. Green M.S., Shohat T., Lerman Y. et al. // Int. J. Epidemiol. — 1994. — Vol. 23, № 5. — P. 1078—1081.

© Коллектив авторов, 2003

В.Ю. Петров, Л.Н. Якунина, Т.Г. Плахута

ИДИОПАТИЧЕСКАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКАЯ ПУРПУРА ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННАЯ С ВВЕДЕНИЕМ ТУБЕРКУЛИНА

Измайловская детская городская клиническая больница, НИИ детской гематологии МЗ РФ, РГМУ, Москва

Авторы наблюдали 10 детей в возрасте от 3 до 13 лет с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой (ИТП), возникшей на 2—20-й дни от постановки пробы Манту. Клиническая картина ИТП характеризовалась острым началом заболевания, выраженным кожным геморрагическим синдромом, у 2 детей отмечалась «влажная пурпура». При обследовании выявлены выраженная тромбоцитопения (в среднем менее $15 \cdot 10^9/\text{л}$) при нормальном уровне мегакариоцитов в костном мозге, значительное повышение уровня тромбоцитассоциированных антител (до 600%), а также нарушения в иммунном статусе. Рассмотрены возможные патогенетические аспекты развития ИТП в ответ на введение туберкулина. Проведено сравнение результатов различных методов терапии, показана высокая эффективность кортикостероидной терапии.

Authors observed 10 patients in the age 3—13 years old with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) manifested 2—20 days after tuberculin test. ITP clinical presentations were characterized by acute onset, significant skin hemorrhagic rash, 2 patients had «wet purpura». Laboratory examination showed severe thrombocytopenia ($<15 \cdot 10^9/\text{l}$) associated with normal megacaryocytes number in bone marrow; high level of antithrombotic antibodies (up to 600%) and immune state disorders. Authors discuss possible pathophysiologic aspects of ITP development after tuberculin injection and compare efficacy of different therapeutic protocols. High efficacy of corticosteroid therapy was demonstrated.

Туберкулин в его классическом виде был изобретен немецким врачом Робертом Кохом в 1890 г. Смысл введения туберкулина — «обозначить» присутствие в организме туберкулезной палочки. Туберкулин — это вытяжка (лизат) из микобактерий туберкулеза, инактивированных нагреванием. Классический препарат, помимо самого туберкулина, содержал много примесей — остатки питательной среды, соли и другие вещества, влиявшие на чистоту реакции. С конца 60-х годов XX века были разработаны более чистые препараты туберкулина — так называемые Purified Protein Derivate (PPD) — очищенный дериват белка. В России применяют препарат ППД-Л. Современный препарат, помимо самого туберкулина, содержит соли

фосфатного буферного раствора, натрия хлорид, стабилизатор и консервант. В основном препарат избавлен от балластных примесей, однако он может содержать их в следовых количествах.

До сих пор до конца неизвестен механизм взаимодействия туберкулина с иммунной системой. Лизат белков (пептиды, аминокислоты) не может являться полноценным антигеном (АГ), т.е. туберкулин не вызывает образование иммунного ответа. Проба Манту (ПМ) — это реакция организма на введение туберкулина. В месте введения препарата в кожу возникает специфическое воспаление, вызванное инфильтрацией Т-лимфоцитами — специфическими клетками крови, ответственными за клеточный иммунитет, в отличие от антительного