

УДК:577.112:576.3:612.017.12:616.932-092.9

DOI: 10.14427/jipai.2022.4.62

## Оценка экспрессии поверхностных маркеров активации лимфоцитов и продукции секреторного иммуноглобулина А в процессе формирования противохолерного иммунитета

А.В. Филиппенко, И.А. Иванова, Н.Д. Омельченко, А.А. Труфанова

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

## Evaluation of the expression of lymphocyte surface activation markers and production of secretory immunoglobulin A in the formation of immunity against cholera

A.V. Filippenko, I.A. Ivanova, N.D. Omelchenko, A.A. Trufanova

Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia

### Аннотация

Целью работы являлось изучение экспрессии маркеров активации лимфоцитов периферической крови и продукции секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в тонком кишечнике белых мышей, вакцинированных противохолерной вакциной и получавших иммуномодуляторы. Для этого белым мышам при вакцинации однократно вводили азоксимера бромид, глюкозаминилмурамилдипептид, дезоксирибонуклеат натрия. Экспрессию маркеров активации лимфоцитов у лабораторных животных осуществляли на 3-21 сутки поствакцинального периода. Клетки после лизиса окрашивали моноклональными антителами к CD45, CD23, CD38 и CD69 («Invitrogen», США) мыши и анализировали на проточном цитометре «Navios™» («Beckman Coulter», США). Количество sIgA определяли в промывных водах тонкого кишечника мышей с помощью набора «Enzyme-linked immunosorbent assay kit for sIgA» (США) на многофункциональном ридере «Synergy™ 2» на 5-21 сутки после прививки. Протективную активность вакцины и влияние иммуномодуляторов на этот процесс оценивали на 21 сутки после иммунизации, вызывая генерализованную форму холеры у белых мышей. Выявлено увеличение экспрессии CD69, CD38 и CD23 на поверхности лимфоцитов у вакцинированных экспериментальных животных. Введение азоксимера бромида и глюкозаминилмурамилдипептида приводило к повышению числа CD69, начиная с первых этапов исследования и до конца эксперимента. Под влиянием дезоксирибонуклеата натрия синтез этого рецептора также усиливался, но менее интенсивно. В большей степени и более ранние сроки азоксимера бромид и глюкозаминилмурамилдипептид способствовали увеличению числа CD23 на мембранах иммунокомпетентных клеток вакцинированных белых мышей. Достоверное по отношению к иммунизированным животным повышение числа CD38 наблюдалось нами только под влиянием азоксимера бромида, начиная с

### Summary

The aim of the study was to evaluate the expression of markers of activation of peripheral blood lymphocytes and the production of secretory immunoglobulin A (sIgA) in the small intestine of white mice vaccinated with cholera vaccine and receiving immunomodulators. To do this, white mice were vaccinated with azoximer bromide, glucosaminylmuramyl dipeptide, and sodium deoxyribonucleate once. The expression of markers of lymphocyte activation in laboratory animals was carried out on 3-21 days of the post-vaccination period. Cells after lysis were stained with MCA to CD45, CD23, CD38 and CD69 ("Invitrogen", USA) mice and analyzed on a flow cytometer "Navios™" ("Beckman Coulter", USA). The amounts of sIgA were determined in the washing waters of the small intestine of mice using the "Enzyme-linked immunosorbent assay kit for sIgA" (USA) on a multifunctional reader "Synergy™ 2" for 5-21 days after vaccination. The protective activity of the vaccine and the effect of immunomodulators on this process were evaluated 21 days after immunization, causing a generalized form of cholera in white mice. An increase in the expression of CD69, CD38 and CD23 on the surface of lymphocytes in vaccinated experimental animals was revealed. The introduction of azoximer bromide and glucosaminylmuramyl dipeptide led to an increase in the number of CD69, starting from the first stages of the study and up to the end of the experiment. Under the influence of sodium deoxyribonucleate, the synthesis of this receptor was also enhanced, but less intensively. To a greater extent and earlier terms of azoximer bromide and glucosaminylmuramyl dipeptide contributed to an increase in the number of CD23 on the membranes of immunocompetent cells of vaccinated white mice. A significant increase in the number of CD38 in relation to immunized animals was observed by us only under the influence of azoximer bromide, starting from the first week and until the end of the observation period. It has been shown that the use of immunomodulators, especially azoximer bromide and

первой недели и до конца периода наблюдения. Показано, что применение иммуномодуляторов, особенно азоксимера бромида и глюкозаминилмурамилдипептида, способствует увеличению синтеза sIgA, основного эффектора слизистого иммунитета, в тонком кишечнике вакцинированных животных. Обнаружено наличие коррелятивных связей между напряжённостью противохолерного иммунитета, продукцией sIgA и уровнем экспрессии маркеров активации, особенно CD69 и CD23 и при использовании азоксимера бромида и глюкозаминилмурамилдипептида.

### Ключевые слова

Маркеры активации лимфоцитов, противохолерная вакцина, секреторный IgA, азоксимера бромид, глюкозаминилмурамилдипептида.

### Введение

Вакцинопрофилактика инфекционных болезней, в том числе и холеры, на сегодняшний день остаётся наиболее эффективным способом предупреждения и ликвидации эпидемий. О профилактической эффективности вакцинации судят по анализу снижения уровня заболеваемости среди вакцинированного населения [1]. Для наиболее полной оценки функционального состояния иммунокомпетентных клеток в ходе формирования иммунного ответа на вакцины определяют следующие показатели: изменение пролиферативной активности В- и Т-лимфоцитов, синтез различных цитокинов, наличие специфических антител, экспрессию поверхностных молекул лимфоцитов, в том числе маркеров активации [2, 3].

В процессе созревания, активации, функциональной активности и, наконец, гибели лимфоцитов на их поверхности синтезируются молекулы, характерные для того или иного состояния иммунокомпетентных клеток: активации (ранней и поздней), пролиферации и апоптоза. Изучение экспрессии различных маркеров на клетках может быть использовано для оценки функционального состояния как отдельных популяций лимфоцитов, так и иммунной системы в целом [4]. Скрининг и определение роли наиболее важных поверхностных антигенов лимфоцитов в норме и при патологии является перспективным направлением в современной иммунологии [5].

Учитывая, что противохолерная вакцинация обеспечивает развитие иммунного ответа преимущественно по гуморальному типу, мы остановили свой выбор на рецепторах, экспрессирующихся на мембране как Т-клеток, так и В-лимфоцитов: CD69, CD38, CD23.

Экспрессию молекулы CD69 считают основным фенотипическим признаком наиболее ран-

glucosaminylmuramyl dipeptide, contributes to an increase in the synthesis of sIgA, the main effector of mucosal immunity, in the small intestine of vaccinated animals. Correlative links were found between the intensity of anti-cholera immunity, sIgA production and the level of expression of activation markers, especially CD69 and CD23, and when using azoximer bromide and glucosaminylmuramyl dipeptide.

### Keywords

Lymphocyte activation markers, cholera vaccine, secretory IgA, azoximer bromide, glucosaminylmuramyl dipeptide.

ней (первые часы) стадии активации наивных CD4<sup>+</sup> лимфоцитов. Рецептор CD69 действует как костимулирующая молекула Т-клеточной активации и пролиферации [1] и имеет важное значение для формирования и сохранения специфических Т-лимфоцитов памяти, влияющих на формирование поздней фазы гуморального иммунного ответа [5].

CD38 – маркер плазматических клеток, который экспрессируется как на ранних стадиях дифференцировки лимфоцитов, так и на поздних. Повторное появление CD38 на зрелых лимфоцитах отражает активность клеточного звена системы иммунитета [5-7]. В активированных лейкоцитах CD38 формирует комплекс с другими поверхностными молекулами (CD19 и рецепторами хемокинов), влияя на пролиферацию и миграцию клеток. Показано, что В-лимфоциты также экспрессируют CD38 [8].

CD23 – низкоаффинный рецептор для иммуноглобулина класса Е. Появляется после активации на поверхности В-лимфоцитов и является характерным антигеном активированных В-клеток. Также этот маркер служит показателем роста В-клеток и их выживаемости в зародышевых центрах.

Секреторный иммуноглобулин А (sIgA) играет важную роль в формировании иммунитета слизистых оболочек. Недостаточность синтеза данного иммуноглобулина приводит к беспрепятственному проникновению вирусов и бактериальных антигенов в слизистые оболочки, в том числе и холерного вибриона. Мы оценили секрецию sIgA в тонком кишечнике вакцинированных и получавших иммуномодуляторы белых мышей, а также наличие коррелятивных связей между синтезом sIgA и экспрессией молекул активации на поверхности лимфоцитов.

**Цель работы:** оценка влияния иммуномодуляторов на экспрессию маркеров активации лимфоцитов периферической крови и антителопродукцию в тонком кишечнике у вакцинированных экспериментальных животных, выявление коррелятивных связей между этими показателями и протективностью поствакцинального противохолерного иммунитета.

### Материалы и методы

В качестве экспериментальных моделей использовали беспородных белых мышей, выращенных в питомнике ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора.

Белых мышей поили 5 % раствором пищевой соды перед иммунизацией противохолерной вакциной, снижая повреждающий эффект желудочного сока. Животных иммунизировали перорально однократно вакциной холерной бивалентной химической (ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб») и иммунопрепаратами - азоксимера бромид, глюкозаминилмурамилдипептид, дезоксирибонуклеат натрия. Прививочную дозу вакцины и иммуномодуляторов рассчитывали согласно весу вакцинируемых животных, исходя из человекодозы, рекомендованной производителем.

Экспрессию маркеров активации лимфоцитов проводили на 3-21 сутки поствакцинального периода. Для этого у лабораторных животных осуществляли забор крови в пробирки с антикоагулянтом. Затем цельную кровь лизировали раствором OPTILYSE C («Beckman Coulter», USA), окрашивали МКА к CD23, CD38 и CD69 («Invitrogen», США) мыши и анализировали на проточном цитометре «Navios™» («Beckman Coulter», США). Для выделения области лимфоцитов использовали антитела к CD45 («Invitrogen», США). При анализе экспрессии поверхностных маркеров оценивали не менее 10000 событий.

Секреторный иммуноглобулин А (sIgA) определяли в промывных водах тонкого кишечника мышей с помощью набора «Enzyme-linked immunosorbent assay kit for sIgA» (США) на многофункциональном ридере «Synergy™ 2».

Протективную активность вакцины и влияние иммуномодуляторов на этот процесс оценивали на 21 сутки после иммунизации, вызывая генерализованную форму холеры у белых мышей. Для этого культуру *Vibrio cholerae* O1 569В выращивали при температуре 37 °С в течение 18 час и готовили 1 млрд. взвесь в забуференном физиологическом растворе (ЗФР) по стандарту

мутности. Агар Нобля (Difco) растворяли в дистиллированной воде, кипятили в течение 30 мин на водяной бане при постоянном помешивании, охлаждали до 45 °С и соединяли с 1 млрд. взвесью культуры в соотношении 1:1 до конечной концентрации агара 0,2 %. Полученной взвесью *V. cholerae* в агаризированном ЗФР заражали опытных и контрольных белых мышей внутрибрюшинно в дозе  $2 \times 10^8$  микробных клеток (м.к.) в объеме 0,2 мл. 100 % гибель контрольных животных в течение суток подтверждала развитие генерализованной формы холеры.

Исследование одобрено этической комиссией Ростовского противочумного института Роспотребнадзора и проведено в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (утверждены Министерством здравоохранения Российской Федерации 01.04.2016 № 199Н). В работе руководствовались «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей», 2006.

Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Microsoft Excel 2010 и StatSoft Statistica Windows 10.01. Рассчитывали значения доверительных интервалов (L) среднеарифметического (M) для уровня достоверности (P) 95 %, определяли достоверность различий по t-критерию Стьюдента. Коэффициент корреляции оценивали по Спирмену (r). При интерпретации для оценки силы связи использовали шкалу Чеддока, согласно которой: слабая – от 0,1 до 0,3; умеренная – от 0,3 до 0,5; заметная – от 0,5 до 0,7; высокая – от 0,7 до 0,9; весьма высокая (сильная) – от 0,9 до 1,0. Отличия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Оценка экспрессии CD69 на лимфоцитах периферической крови белых мышей показала, что вакцинация способствует достоверному увеличению ( $p < 0,05$ ) количества этого маркера уже с 3 суток поствакцинального периода. Через 7 суток и до конца третьей недели после вакцинации регистрировали достоверное снижение числа CD69 у животных этой группы (табл. 1). Следует отметить, что экспрессия этой молекулы активации во все сроки наблюдения была достоверно выше ( $p < 0,05$ ), чем у интактных животных.

Выявлено, что все изученные иммуномодуляторы стимулируют этот процесс, но в разной степени. В большем количестве по сравнению с вакцинированными животными регистрировали экспрессию CD69 у животных, которые при вак-

цинации получали азоксимера бромид и глюкозаминилмурамилдипептид. Высокие показатели у мышей, вакцинированных и получавших эти иммунопрепараты, сохранялись во все сроки исследования. Однако самое большое число CD69 было выявлено нами с 3 по 5 сутки исследования, затем с 7 суток достоверно снижалось ( $p < 0,05$ ), но оставалось выше, чем у интактных и вакцинированных животных. У мышей, получавших при вакцинации дезоксирибонуклеат натрия, достоверное по отношению к вакцинированным животным увеличение числа CD69 наблюдали только в течение первой недели после прививки.

Анализ результатов, полученных при оценке экспрессии CD38, показал, что количество этого маркера достоверно возрастает по сравнению с контролем у мышей к концу первой недели после

вакцинации и остаётся на этом уровне до конца срока наблюдения (табл. 2). Такая же тенденция наблюдалась нами у вакцинированных животных, получавших дезоксирибонуклеат натрия. Показатели статистически не отличались в пределах этих двух групп ( $p > 0,05$ ).

У вакцинированных мышей из группы с азоксимером бромидом, наоборот, число CD38 достоверно возрастало по отношению к контролю (интактным животным) уже с 3 суток после приёма иммунопрепаратов и становилось выше ( $p < 0,05$ ), чем у только вакцинированных животных, к 5 суткам поствакцинального периода. На 7 сутки количество маркера ещё статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличилось в сравнении с аналогичным показателем на 5 сутки и оставалось примерно на таком уровне до конца третьей

**Таблица 1. Экспрессия CD69 у вакцинированных белых мышей и влияние иммуномодуляторов на этот процесс**

Группы животных	Количество CD69 (%) после вакцинации через				
	3 дня	5 дней	7 дней	14 дней	21 день
Вакцинированные (n = 30)	26,6 ± 2,1	23 ± 2,3	19,5 ± 1,9**	20,0 ± 1,6	20,4 ± 1,4
Вакцинированные + азоксимера бромид (n = 30)	46,5 ± 2,8*	44,0 ± 2,8*	34,4 ± 2,1***	32,1 ± 2,8*	31,8 ± 1,9*
Вакцинированные + дезоксирибонуклеат натрия (n = 30)	36,4 ± 1,9***	32,0 ± 2,6***	26,5 ± 2,4****	24,6 ± 2,0***	23,4 ± 2,6***
Вакцинированные + глюкозаминилмурамилдипептид (n = 30)	42,9 ± 2,3*	39,1 ± 3,1*	34,6 ± 1,4***	33,1 ± 2,4*	30,1 ± 2,1*
Интактные	3,6 ± 1,4				

Примечание: \* – достоверное различие ( $p < 0,05$ ) по отношению к аналогичным показателям у вакцинированных животных; \*\* – достоверное различие ( $p < 0,05$ ) по отношению к аналогичным показателям у животных одной группы; \*\*\* – достоверное различие ( $p < 0,05$ ) по отношению к аналогичным показателям у животных, получавших разные иммунопрепараты.

**Таблица 2. Количество CD38 у вакцинированных и получавших иммуномодуляторы белых мышей**

Группы животных	Количество CD38 (%) после вакцинации через				
	3 дня	5 дней	7 дней	14 дней	21 день
Вакцинированные (n = 30)	12,6 ± 2,8	12,9 ± 2,4	20,6 ± 2,9****	26,4 ± 2,8*	26,8 ± 2,8*
Вакцинированные + азоксимера бромид (n = 30)	14,3 ± 2,3*	25,3 ± 2,5*****	32,6 ± 2,4*****	38,4 ± 2,1*****	37,9 ± 2,0*****
Вакцинированные + дезоксирибонуклеат натрия (n = 30)	10,5 ± 3,2	12,5 ± 2,2	24,4 ± 1,9****	30,5 ± 2,4*	30,4 ± 2,5*
Вакцинированные + глюкозаминилмурамилдипептид (n = 30)	12,4 ± 3,0	17,8 ± 1,2*	26,2 ± 2,4****	25,4 ± 2,1*	26,9 ± 2,8*
Интактные	7,8 ± 1,2				

Примечание: \* – достоверное различие ( $p < 0,05$ ) по отношению к данному показателю у интактных животных; \*\* – достоверное различие ( $p < 0,05$ ) по отношению к аналогичным показателям у вакцинированных животных; \*\*\* – достоверное различие ( $p < 0,05$ ) по отношению к данному показателю внутри группы; \*\*\*\* – достоверное различие ( $p < 0,05$ ) по отношению к аналогичным показателям у животных, получавших разные иммунопрепараты.

недели, превышая число CD38 в этот период у вакцинированных мышей.

У экспериментальных животных, получавших при вакцинации глюкозаминилмурамилдипептид, увеличение ( $p < 0,05$ ) CD38 по сравнению с группой интактных животных было зарегистрировано нами на 5 сутки после прививки. К концу первой недели экспрессия маркера ещё больше усилилась и оставалась на этом уровне на 14 и 21 сутки поствакцинального периода. Следует отметить, что во все сроки исследования количество CD38 у мышей этой группы статистически не отличалось от данного показателя у вакцинированных животных.

При сравнении влияния иммуномодуляторов на экспрессию данного рецептора выявлено, что азоксимера бромид в большей степени ( $p < 0,05$ ) стимулирует этот процесс, чем дезоксирибонуклеат натрия и глюкозаминилмурамилдипептид.

Анализ результатов, полученных при определении экспрессии CD23, выявил увеличение у вакцинированных животных по сравнению с интактными мышами этого показателя к концу второй недели поствакцинального периода (табл. 3). Такое же количество CD23 было зарегистрировано нами у животных этой группы и на 21 сутки после прививки.

В группах экспериментальных животных, получавших при вакцинации иммуномодуляторы, достоверное усиление экспрессии этого маркера по сравнению с интактными мышами было обнаружено нами уже на 7 сутки наблюдения. Особенно стимулировали этот процесс азоксимера бромид и глюкозаминилмурамилдипептид, превышая аналогичный показатель в этот срок у вакцинированных животных, в отличие от дезоксирибонуклеата натрия. Такая тенденция сохранялась до конца эксперимента.

При оценке продукции sIgA в тонком кишечнике белых мышей установлено, что вакцинация к концу первой недели наблюдения способствует увеличению ( $p < 0,05$ ) секреции этого иммуноглобулина (табл. 4) по сравнению с таковой у интактных животных. Более интенсивно, чем у вакцинированных мышей, синтез sIgA идёт у животных, которым при вакцинации вводили иммунопрепараты, что свидетельствует о положительном влиянии всех иммуномодуляторов на этот процесс. Наибольшее количество sIgA зарегистрировано у мышей, которым при вакцинации вводили азоксимера бромид. Причём достоверное по отношению к интактным животным увеличение продукции этого имму-

ноглобулина было отмечено нами уже на пятые сутки после прививки.

У вакцинированных животных, которым давали глюкозаминилмурамилдипептид, синтез sIgA в тонком кишечнике проходил менее интенсивно ( $p < 0,05$ ), чем у мышей из группы с азоксимером бромидом, но в большем количестве ( $p < 0,05$ ), чем у получавших дезоксирибонуклеат натрия.

Изучение влияния иммуномодуляторов на способность вакцины защищать мышей от генерализованной холеры показали: наибольшей стимулирующей активностью обладал глюкозаминилмурамилдипептид – выжили 100 % вакцинированных животных ( $p = 0,0001$ ), с азоксимером бромидом – около 90 % мышей, с дезоксирибонуклеатом натрия – примерно 80 % мышей, в группе вакцинированных животных без иммуномодуляторов выжили около 70 % (табл. 5). Среди контрольной группы – 100 % гибель животных.

Исследование наличия корреляции между количеством sIgA и выживших после заражения вирулентным штаммом холеры животных выявило прямую связь с высокой силой ( $r = 0,800$ ). Также была определена прямая связь с весьма высокой теснотой ( $r = 1,000$ ) между количеством sIgA и CD69 и CD23, а также с высокой силой ( $r = 0,800$ ) – с экспрессией CD38 ( $p < 0,05$ ).

При изучении возможной корреляции между протективностью поствакцинального иммунитета и количеством молекул активации на иммунокомпетентных клетках экспериментальных животных выявлено наличие прямой связи, сила которой по шкале Чеддока была нами определена как высокая ( $r = 0,800$ ) между числом выживших животных и экспрессией CD69 и CD23, и умеренной прямой связи ( $r = 0,400$ ) с продукцией CD38 ( $p < 0,05$ ).

### Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что противохолерная вакцинация способствует увеличению экспрессии CD69, CD38 и CD23 на поверхности лимфоцитов у экспериментальных животных. Введение иммуномодуляторов положительно влияет на этот процесс, но по-разному и в зависимости от молекул активации. Экспрессию CD69, начиная с первых этапов исследования, усиливают все иммуномодуляторы, но особенно азоксимера бромид и глюкозаминилмурамилдипептид, их стимулирующее действие сохраняется до конца эксперимента. Такая же тенденция была выявлена нами при изучении влияния иммунопре-

**Таблица 3. Синтез CD23 у вакцинированных и получавших иммунопрепараты животных**

Группы животных	Количество CD23 (%) после вакцинации через				
	3 дня	5 дней	7 дней	14 дней	21 день
Вакцинированные (n = 30)	6,9 ± 1,9	7,0 ± 1,9	10,8 ± 2,4	12,4 ± 1,1 <sup>****</sup>	12,8 ± 2,4 <sup>*</sup>
Вакцинированные + азоксимера бромид (n = 30)	7,2 ± 1,8	10,5 ± 2,1	20,5 ± 2,1 <sup>*****</sup>	21,3 ± 1,9 <sup>**</sup>	21,9 ± 2,5 <sup>**</sup>
Вакцинированные + дезоксирибонуклеат натрия (n = 30)	8,7 ± 2,1	9,6 ± 2,0	12,6 ± 2,0 <sup>****</sup>	13,5 ± 2,4 <sup>****</sup>	15,1 ± 2,5 <sup>*</sup>
Вакцинированные + глюкозаминилмурамилдипептид (n = 30)	8,1 ± 2,1	10,4 ± 1,4	18,4 ± 1,2 <sup>*****</sup>	18,2 ± 1,4 <sup>**</sup>	19,5 ± 1,6 <sup>**</sup>
Интактные	6,3 ± 1,3				

Примечание: \* – достоверное различие (p < 0,05) по отношению к данному показателю у интактных животных; \*\* – достоверное различие (p < 0,05) по отношению к аналогичным показателям у вакцинированных животных; \*\*\* – достоверное различие (p < 0,05) по отношению к данному показателю внутри группы; \*\*\*\* – достоверное различие (p < 0,05) по отношению к аналогичным показателям у животных, получавших разные иммунопрепараты.

**Таблица 4. Влияние иммуномодуляции на продукцию секреторного иммуноглобулина А у вакцинированных белых мышей**

Группы животных	Количество sIg A (нг/мл) после вакцинации через			
	5 дней	7 дней	14 дней	21 день
Вакцинированные (n = 30)	4,9 ± 0,4	6,2 ± 0,4 <sup>*</sup>	6,8 ± 0,2	6,9 ± 0,4
Вакцинированные + азоксимера бромид (n = 30)	5,7 ± 0,4 <sup>*</sup>	9,5 ± 0,18 <sup>*****</sup>	12,3 ± 0,8 <sup>*****</sup>	12,5 ± 0,6 <sup>*****</sup>
Вакцинированные + дезоксирибонуклеат натрия (n = 30)	5,0 ± 0,5	7,5 ± 0,15 <sup>**</sup>	8,0 ± 0,3 <sup>**</sup>	8,2 ± 0,2 <sup>**</sup>
Вакцинированные + глюкозаминилмурамилдипептид (n = 30)	5,3 ± 0,3	8,3 ± 0,11 <sup>**</sup>	9,3 ± 0,3 <sup>**</sup>	9,2 ± 0,2 <sup>**</sup>
Интактные	4,27 ± 0,3			

Примечание: \* – достоверное различие (p < 0,05) по отношению к данному показателю у интактных животных; \*\* – достоверное различие (p < 0,05) по отношению к аналогичному показателю у вакцинированных животных; \*\*\* – достоверное различие (p < 0,05) по отношению к аналогичным показателям у животных, получавших разные иммунопрепараты.

**Таблица 5. Протективная активность противохолерной вакцины и влияние иммуномодуляторов на этот процесс**

Группы животных	Количество выживших животных после заражения <i>V. cholerae</i> 01 569B	Протективность %
Интактные (n = 30)	0	–
Вакцинированные (n = 30)	21 ± 1,65	70 ± 5,5
Вакцинированные + азоксимера бромид (n = 30)	27 ± 2,0	90 ± 6,7 <sup>*</sup>
Вакцинированные + дезоксирибонуклеат натрия (n = 30)	24 ± 1,23	80 ± 4,1
Вакцинированные + глюкозаминилмурамилдипептид (n = 30)	30 ± 0,00	100 <sup>*</sup>

Примечание: \* – достоверное различие (p < 0,05) по отношению к аналогичным показателям у вакцинированных животных.

паратов на синтез CD23: в наибольшей степени и более ранние сроки азоксимера бромид и глюкозаминилмурамилдипептид способствовали экспрессии этого маркера на мембранах иммунокомпетентных клеток белых мышей. Достоверное по отношению к вакцинированным животным

увеличение числа CD38 наблюдалось нами только под влиянием азоксимера бромида, начиная с первой недели и до конца периода наблюдения. Кроме того, применение иммуномодуляторов способствует увеличению синтеза секреторного иммуноглобулина А – основного эффектора сли-

зистого иммунитета в тонком кишечнике экспериментальных животных. Обнаружено наличие коррелятивных связей между напряжённостью противохолерного иммунитета, продукцией секреторного иммуноглобулина А и уровнем экспрессии маркеров активации, особенно CD69 и CD23 и при использовании азоксимера бромида и глюкозаминилмурамилдипептида.

Полученные нами результаты могут быть полезны для разработки методов оценки эф-

фективности противохолерной вакцинации. Поиск и определение поверхностных маркеров, отражающих степень функциональной активности иммунокомпетентных клеток в норме, при вакцинальном процессе, является одним из способов контроля иммуногенности и протективности различных вакцин и, соответственно, качества вакцинных препаратов.

*Конфликт интересов.* Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Литература

1. Фирстова В.В., Бахтеева И.В., Титарева Г.М. и др. Определение экспрессии маркера ранней активации CD69 на лимфоцитах иммунных мышей после стимуляции их антигенами чумного микроба. Проблемы особо опасных инфекций. 2010; №103: 56-59.
2. Дармов И.В., Елагин Г.Д., Богачева Н.В. и соавт. Современные лабораторные методы оценки эффективности проведения иммунизации против опасных и особо опасных инфекций. Клиническая лабораторная диагностика. 2011; № 6: 39-42.
3. Куличенко А.Н., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е. и др. Использование антигенспецифических клеточных тестов in vitro для оценки формирования поствакцинального противочумного иммунитета. Инфекция и иммунитет. 2017; Т. 7, №2: 203-208. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-203-208.
4. Пашнина И.В. Уровень спонтанной и стимулированной фитогемагглютинином экспрессии CD69 на Т-лимфоцитах у детей с аутоиммунными заболеваниями. Российский иммунологический журнал. 2014; Т. 8 (17), №2(1): 126-128.
5. Литвинова Л.С., Гуцол А.А., Сохоневич Н.А. и др. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов. Медицинская иммунология. 2014; Т. 16, №1: 7-26.
6. Маризина Ю.В., Неприна Г.С., Кудрявцев Д.В. и соавт. Фенотип лимфоцитов у больных меланомой после иммунотерапии. Российский биотерапевтический журнал. 2014; Т. 13, № 1: 57-144.
7. Абакушина Е.В., Маризина Ю.В., Неприна Г.С. и соавт. Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов у онкологических больных при комбинированном лечении с включением адоптивной иммунотерапии. Сибирский онкологический журнал. 2015; №1: 45-50.
8. Соловьева И.А., Собко Е.А., Крапошина А.Ю. и др. Современные представления о роли CD38 в патогенезе бронхиальной астмы. Пульмонология. 2013; №5: 81-84.

## Сведения об авторах

Филиппенко Анна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории иммунологии, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, 117/40. E-mail: filippenko\_av@antiplague.ru. <https://orcid.org/0000-0002-1103-4244>.

Иванова Инна Александровна – к.б.н., ведущий научный сотрудник с врио зав. лабораторией иммунологии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. E-mail: ivanova\_ia@antiplague.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7068-4Q71>.

Омельченко Наталья Дмитриевна – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. E-mail: natalya.omelchenko@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0001-5208-7724>.

Труфанова Анастасия Александровна – младший научный сотрудник лаборатории иммунологии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. E-mail: trufanova\_aa@antiplague.ru. <https://orcid.org/0000-0002-477Q-5994>.

Поступила 21.11.2022 г.