

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР «ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ»  
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА

*На правах рукописи*



Костинова Аристица Михайловна

**Оценка способности формирования поствакцинального иммунитета  
против вируса гриппа у пациентов с общей вариабельной иммунной  
недостаточностью**

3.2.7. Аллергология и иммунология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук

Латышева Елена Александровна

доктор медицинских наук

Ахматова Нэлли Кимовна

Москва – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Характеристика пациентов с ПИД.....	15
1.2. Грипп как модель инфекции для изучения поствакцинального иммунитета...17	
1.3. Актуальность разработки четырехвалентных вакцин против гриппа в мире...18	
1.4. Применение адьювантных вакцин против гриппа.....	19
1.5. Вакцинация против гриппа пациентов с ОВИН.....	22
1.6. Гуморальный иммунитет у пациентов с ОВИН.....	27
1.7. Клеточный иммунитет у пациентов с ОВИН.....	29
1.8. Толл-рецепторы.....	31
1.9. Эффекторы врожденного иммунитета при ОВИН.....	37
1.10. Заключение.....	39
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	41
2.1. Участники исследования.....	41
2.2. Критерии включения и исключения.....	42
2.3. Вакцины и вакцинация.....	43
2.4. Безопасность.....	44
2.5. Юридические аспекты исследования.....	45
2.6. Методы исследования.....	45
2.6.1. Исследование иммуногенности.....	45
2.6.2. Исследование клеточного иммунного ответа.....	48
2.6.2.1. Оценка субпопуляционной структуры лимфоцитов.....	48
2.6.2.2. Оценка внутриклеточных Толл-подобных рецепторов иммунокомпетентных клеток.....	48
2.7. Статистическая обработка данных.....	49
2.7.1. Обработка данных по антителам.....	49
2.7.2. Обработка результатов оценки клеточного звена иммунитета (CD и TLR)..50	

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	53
3.1. Клиническая оценка течения поствакцинального периода у пациентов с ОВИН и здоровых при введении 3- и 4-валентных полимер-субъединичных (адьювантных) препаратов.....	53
3.2. Изучение иммуногенности полимер-субъединичных вакцин против гриппа у пациентов с ОВИН и здоровых.....	54
3.2.1. Исследование показателей иммуногенности вакцины против гриппа у здоровых.....	54
3.2.2. Оценка критериев иммуногенности четырехвалентной адьювантной вакцины против гриппа у пациентов с ОВИН, иммунизированных одной дозой..	63
3.2.3. Оценка критериев иммуногенности четырехвалентной адьювантной вакцины против гриппа у пациентов с ОВИН, иммунизированных одной дозой первично и повторно через год.....	65
3.2.4. Оценка критериев иммуногенности вакцин против гриппа у пациентов с ОВИН, иммунизированных одной и двумя (одномоментно) дозами.....	72
3.3. Исследование субпопуляционной структуры лимфоцитов у пациентов с ОВИН, вакцинированных против гриппа.....	83
3.3.1. Влияние четырехвалентной адьювантной вакцины против гриппа на субпопуляционную структуру лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОВИН после введения одной дозы первично и повторно через год.....	83
3.3.2. Влияние трехвалентной адьювантной вакцины против гриппа на субпопуляционную структуру лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОВИН, вакцинированных одной и двумя (одномоментно) дозами.....	91
3.4. Характеристика эндосомальных Толл-подобных рецепторов на иммунокомпетентных клетках у вакцинированных против гриппа пациентов с ОВИН.....	99
3.4.1. Влияние вакцин против гриппа на содержание ТЛР3, ТЛР7, ТЛР8, ТЛР9 у пациентов с ОВИН, привитых первично и повторно через год одной дозой четырехвалентной вакцины.....	99
3.4.1.1. Гранулоциты.....	99

3.4.1.2. Лимфоциты.....	102
3.4.1.3. Моноциты.....	107
3.4.2. Влияние вакцин против гриппа на содержание ТЛР3, ТЛР8, ТЛР9 у пациентов с ОВИН, привитых одной и двумя (одномоментно) дозами.....	111
3.4.2.1. Гранулоциты.....	111
3.4.2.2. Лимфоциты.....	114
3.4.2.3. Моноциты.....	116
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	122
4.1. Серопозитивные и серонегативные здоровые и больные.....	127
4.2. Вакцинация пациентов первично одной дозой с динамическим измерением показателей гуморального звена иммунитета в течение трех месяцев.....	130
4.3. Вакцинация пациентов с ОВИН повторно одной дозой вакцины против гриппа через год.....	132
4.4. Сравнение групп пациентов с ОВИН, вакцинированных одномоментно одной и двумя дозами вакцинного препарата.....	133
4.5. Клеточный иммунитет.....	134
ВЫВОДЫ.....	138
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	139
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	141
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	157
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	159

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования**

Первичные иммунодефициты (ПИД) представляют собой гетерогенную группу орфанных (в России «орфанными» предложено считать патологию с распространенностью не более 10 случаев на 100 000 человек) заболеваний, в основе которых лежат более 430 известных на настоящий момент генетических дефектов иммунной системы. Наиболее частым клиническим проявлением ПИД является повышенный риск рецидивирующих и потенциально опасных для жизни инфекций ввиду повреждения иммунологических механизмов защиты организма на разных уровнях [1]. Нарушение синтеза антител включает более 50 % всех нозологий в структуре ПИД. Основным методом лечения пациентов с нарушением синтеза антител является пожизненная заместительная терапия препаратами внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ), содержащих большое разнообразие донорских иммуноглобулинов класса G, которые позволяют снизить восприимчивость к инфекционным агентам. Однако от данного лечения не ожидается защиты реципиентов от всех циркулирующих в настоящее время инфекций, поскольку антитела к редко встречающимся или высоко изменчивым заболеваниям часто отсутствуют в плазме доноров [2].

В настоящее время многие пациенты с ПИД доживают до взрослого возраста, а регулярная и эффективная терапия позволяет им вести образ жизни, характерный для здоровой популяции. В то же время это приводит к высокой подверженности пациентов с ПИД в коллективах частому контакту с респираторными вирусами, что способствует развитию обострений хронических синопульмональных инфекций. В связи с этим вопрос о профилактике вакциноуправляемых заболеваний встает особенно остро.

Вакцинопрофилактика признана самой эффективной мерой защиты от инфекционных заболеваний. Многие страны мира уже внедрили программы вакцинации населения против респираторных инфекций, которые снижают риск инфицирования и заболеваемость как через непосредственную защиту каждого вакцинированного, так и за счет создания коллективного иммунитета [3]. Однако, охват вакцинацией среди иммунокомпromетированного населения по-прежнему остается ниже рекомендованного ВОЗ даже в развитых странах [4]. Этому способствуют многие социально-значимые факторы, такие как: влияние средств массовой информации, существующие заблуждения насчет эффективности и безопасности вакцинации, низкая осведомленность медицинских работников, отношения «врач-пациент» на приеме [5]. Однако и определенные особенности самих возбудителей, например, высокая мутационная изменчивость, способствуют сохранению риска развития пандемий и в наши дни.

За последние 100 лет на планете прошли четыре пандемии гриппа, при этом пандемия 1918 года, вызванная вирусом гриппа А/Н1N1, была самой разрушительной, поскольку унесла жизни более сорока миллионов людей [6]. Последняя же пандемия гриппа «охватила» мир в 2009-2010 гг., в связи с чем вакцинация против вируса гриппа остается актуальной и в наши дни.

Иммунизация остается единственной возможностью формирования защиты от сезонного гриппа не только у здоровых, но и у пациентов с ПИД. С целью снижения заболеваемости и смертности от вакциноуправляемых инфекций у иммунокомпromетированных пациентов впервые в 2013 году в руководстве Американского общества инфекционистов, а в мире – в 2015 году, больным с ПИД вне зависимости от этиологии дефекта иммунитета было рекомендовано проведение ежегодной вакцинации против вируса гриппа [7, 8]. Однако, имеющиеся в настоящее время данные по формированию поствакцинального иммунитета у данной когорты пациентов ограничены и в некоторых случаях противоречивы, что обусловлено не только разными схемами вакцинации, выбором разных вакцинных препаратов, но также различными исследуемыми показателями иммунитета. Учитывая, что у больных с ПИД возникает

необходимость повышения эффективности вакцин, адъювантные вакцины, включающие соединения или комплексы веществ, которые в сочетании с антигеном усиливают конкретный иммунный ответ, предпочтительны [9, 10].

Однако, на настоящий момент в мире не было проведено ни одного исследования сравнения иммуногенности разных схем вакцинации против вируса гриппа среди группы пациентов с нарушением синтеза антител, не изучено влияние четырехвалентных адъювантных вакцин против вируса гриппа на параметры врожденного и адаптивного иммунитета, а также не была оценена клиническая значимость иммунизации на течение основного заболевания пациентов, что является актуальным не только с позиций научных исследований, но и для практического здравоохранения.

Актуальность данной работы также заключается в том, что в настоящее время расширяется список показаний к применению моноклональных антител против В-лимфоцитов в ревматологии, онкогематологии и иммунологии у пациентов с различными заболеваниями, которые снижают способность формирования поствакцинального иммунитета. В связи с этим встает вопрос о целесообразности вакцинации пациентов, получающих данную терапию, поэтому изучение путей формирования не только показателей гуморального звена – поствакцинальных антител, но и клеточных путей активации иммунитета у пациентов с нарушением синтеза антител необходимо.

### **Степень разработанности темы исследования**

Респираторные инфекции, среди которых и грипп, являются одними из неблагоприятных факторов в ухудшении тяжести течения ПИД. В мире с начала XXI века стало известно, что пациенты с ПИД могут быть вакцинированы всеми инактивированными вакцинами, но формирование поствакцинального иммунного ответа при этом, как и способы усовершенствования технологий вакцинации

данного контингента, изучены недостаточно. В связи с этим возникает необходимость в подборе схем и доз вакцин, чтобы уровень антител был сопоставим с результатами у здоровых. В настоящее время остаются неизученными вопросы, как формируются специфические антитела у пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью (ОВИН), как участвует клеточный иммунитет в нем, какую роль играют адъювантные вакцины в неспецифической профилактике других респираторных инфекций, не раскрыт вопрос об иммуногенности вакцин при первичном и повторном введении так же, как и при одномоментном введении 1 или 2 доз вакцины, а также при использовании адъювантных четырехвалентных вакцин у пациентов с ОВИН. Приоритетным в профилактике респираторных инфекций является вакцинация против гриппа с использованием адъювантных вакцин, которые широко масштабно применяются в Российской Федерации.

### **Цель и задачи исследования**

Цель – изучить поствакцинальный иммунитет у пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью при введении трех- и четырехвалентной полимер-субъединичных (адъювантных) вакцин против гриппа.

Задачи:

1. Оценить безопасность различных схем введения четырех- и трехвалентных полимер-субъединичных (адъювантных) вакцин против гриппа у пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью (ОВИН).

2. Изучить иммуногенность полимер-субъединичных вакцин против гриппа у пациентов с ОВИН и здоровых.

3. Исследовать изменение субпопуляционной структуры лимфоцитов у пациентов с ОВИН под воздействием различных схем применения субъединичных (адъювантных) вакцин против гриппа.



4. Охарактеризовать эндосомальные Толл-подобные рецепторы на иммунокомпетентных клетках у вакцинированных против гриппа пациентов с ОВИН.

5. Сравнить эффективность разных режимов и схем вакцинации против гриппа пациентов с ОВИН.

### **Научная новизна**

Впервые в мире проведена работа по изучению переносимости и иммуногенности различных схем вакцинации от гриппа с применением трех- и четырехвалентной полимер-субъединичных (адьювантных) вакцин у пациентов с ОВИН.

*Первичная вакцинация.* Впервые доказано, что одномоментное введение двух доз адьювантных вакцин у пациентов с ОВИН приводит к тому, что шанс прироста уровня антител к штаммам вируса гриппа в 9,3 раза выше, чем при вакцинации одной дозой.

*Повторная вакцинация.* Впервые показано, что объединенный по всем штаммам шанс двукратного и выше прироста уровня АТ значительно возрастает при повторной вакцинации через год, чем при первичной.

Впервые в мире произведено сравнение экспрессии TLR у пациентов с ОВИН в сравнении со здоровой популяцией.

Впервые в мире изучена динамика экспрессии TLR у пациентов с ОВИН после вакцинации различными схемами.

Впервые получены данные о том, что субпопуляции лимфоцитов – выросший после первичной вакцинации CD3+CD19- % и снизившийся CD3-CD19+ % – через год вернулись на прежний уровень, повторная вакцинация на них никак не повлияла.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Доказан высокий профиль безопасности трех- и четырехвалентных адьювантных вакцин у больных ОВИН.

В ходе исследования изучено влияние разных схем вакцинации на эффекторы врожденного и адаптивного звена иммунитета и показано, что часть пациентов способна формировать специфические антитела против вируса гриппа на протективном уровне.

Доказана целесообразность изменения существующей схемы вакцинации пациентов с ОВИН против гриппа: более высокая иммуногенность отмечается после введения одномоментно двух доз полимер-субъединичной (адьювантной) вакцины или повторной вакцинации через один год одной дозой того же вакцинного препарата.

Полученные данные могут послужить основой для формирования рекомендаций по вакцинации пациентов с ОВИН против гриппа.

Результаты исследования и разработанные схемы терапии внедрены в клиническую практику в отделениях ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. Результаты исследования используются для обучения студентов, врачей аллергологов иммунологов на курсах тематического усовершенствования и постдипломного образования. Материалы диссертации используются в цикле лекций кафедры эпидемиологии и современных технологий вакцинации Первого МГМУ им. И. М. Сеченова.

## **Методология и методы исследования**

Для написания данной диссертационной работы применялись общенаучные методы исследования, а именно: общелогические – синтез, анализ, аналогия, индукция; теоретические – гипотетический и исторический методы; эмпирический

метод – эксперимент, измерение, описание. Данные количественного исследования выражены в цифрах, таблицах и графиках, приводимых для доказательства заявленных гипотез. В рамках исследования использовались опросы, эксперименты, наблюдение, измерение, метод аналогии.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Одновременное введение двукратно увеличенной дозы инактивированной адьювантной вакцины против гриппа пациентам с ОВИН безопасно.
2. Иммуногенность вакцин у пациентов с ОВИН увеличивается при одновременном введении двух доз адьювантной вакцины против гриппа.
3. Не выявлено изменений субпопуляционного состава лимфоцитов у пациентов с ОВИН до и после вакцинации.
4. Увеличение экспрессии Толл-подобных рецепторов в ходе изучаемых схем иммунизации с применением адьювантных вакцин против гриппа у пациентов с ОВИН косвенно свидетельствует об активации клеточного звена иммунитета.
5. Проведение ежегодной вакцинации против вируса гриппа пациентам с ОВИН позволяет сформировать более прочный иммунный ответ.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Полученные аспирантом результаты соответствуют паспорту научной специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология, так как охватывают изучение механизмов формирования поствакцинального иммунного ответа, что обеспечивает прогресс в понимании природы иммунной защиты, а также проблемы усовершенствования методов вакцинопрофилактики у пациентов с заболеваниями, связанными с нарушениями в системе гуморального звена иммунитета. Результаты

проведённого научного исследования соответствуют паспорту научной специальности «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики аллергических и иммунопатологических процессов» данной научной специальности.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Апробация материалов диссертации проведена на заседании секции № 3 Ученого совета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России 15.06.2022 (протокол № 2).

Материалы диссертационной работы были доложены на: 15-м Ежегодном междисциплинарном конгрессе по аллергологии и иммунологии (г. Москва, Россия, 22-24 мая 2019 года); Межрегиональном форуме «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы» (г. Казань, Россия, 15-16 ноября 2019 года); XXII Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (г. Москва, Россия, 21-23 февраля 2020 года); Международном конгрессе для студентов и молодых врачей MedEspera (г. Кишинев, Республика Молдова, 24-26 сентября 2020 года); III рабочем совещании аллергологов-иммунологов с международным участием «Первичные иммунодефициты и аутовоспалительные заболевания» (г. Москва, Россия, 1-2 октября 2020 года); 16-м Ежегодном междисциплинарном конгрессе по аллергологии и иммунологии (г. Москва, Россия, 24-27 июня 2020 года); 19th Biennial meeting of the European Society for Immunodeficiencies (Birmingham, UK, 14-17 октября 2020 года в онлайн-формате); VIII Всероссийском Конгрессе Ассоциации детских аллергологов и иммунологов России (г. Москва, Россия, 11-12 декабря 2020 года в онлайн-формате); XIX Конгрессе детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики» (г. Москва, Россия, 17-19 декабря 2020 года);

Научно-практической конференции с международным участием «Первичные иммунодефициты у детей и взрослых: в фокусе – инфекции» и IV рабочем совещании аллергологов-иммунологов и гематологов РФ (г. Москва, Россия, 22-24 апреля 2021 года); ежегодном Всероссийском терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (г. Москва, Россия, 23-24 апреля 2021 года); V Всероссийской мультимедийной конференции «Время жить» (г. Нижний Новгород-Саранск-Москва, Россия, 3-4 июня 2021 года в гибридном формате); XXXI Национальном конгрессе по болезням органов дыхания МОО «Российское Респираторное Общество» (г. Москва, Россия, 26-29 октября 2021 года); Научно-практической конференции «Первичные иммунодефициты – на стыке специальностей» (г. Москва, Россия, 14-16 апреля 2022 года в гибридном формате); II Конгрессе с международным участием «Московская ревматология» (г. Москва, Россия, 14-15 апреля 2022 года); III Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Витебская весна 2022: Инновации аллергологии и иммунологии» (г. Витебск, Республика Беларусь, 12-13 мая 2022 года в гибридном формате); VI Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы профилактической медицины и общественного здоровья» (г. Москва, Россия, 18 мая 2022 года); VIII Конгрессе Международной общественной организации «Евро-Азиатское общество по инфекционным болезням» (г. Санкт-Петербург, Россия, 17-19 мая 2022 года).

### **Личный вклад**

Анализ амбулаторных карт, клинических данных и результатов лабораторного обследования, а также отбор, анкетирование и последующее наблюдение за состоянием пациентов выполнен лично автором. Также проведение лабораторной части исследования на всех этапах работы и обработки биологического материала

участников исследования, как здоровых добровольцев, так и пациентов с ОВИН, осуществлялось лично Костиновой Аристицей Михайловной. Автор провел статистический анализ полученных результатов с использованием современных методов статистической обработки данных.

### **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 13 работ, в том числе 4 оригинальных научных статьи в международных, индексируемых базах данных Scopus, Web of Science, PubMed, Chemical Abstracts Service (CAS), CrossRef, Embase; 1 обзорная статья в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России; 6 иных публикаций по результатам исследования; 2 публикации в сборниках материалов зарубежных научных конференций. Зарегистрирована заявка о выдаче патента Российской Федерации на изобретение «Способ формирования поствакцинального иммунитета против вируса гриппа у пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью» в Федеральной службе по интеллектуальной собственности.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация построена по традиционному принципу в монографическом стиле, изложена на 159 страницах печатного текста и состоит из введения, глав, посвященных обзору литературы, материалам и методам, результатам исследования, а также из обсуждения, выводов и списка использованной литературы. Работа содержит 15 таблиц и 38 рисунков. Библиографический указатель включает 148 источников, из них 16 отечественных и 132 зарубежных.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Характеристика пациентов с ПИД

Развитие ПИД обусловлено более чем 430 известными в настоящее время мутациями в генах, которые вызывают нарушение врожденного или адаптивного иммунитета и проявляются повышенной восприимчивостью к тяжелым и / или рецидивирующим инфекционным заболеваниям, предрасположенностью к аутоиммунным или аутовоспалительным состояниям, атопическим проявлениям, а также высоким риском малигнизации [11]. Мутация одного сайта может повлечь за собой изменения в количестве популяций иммунных клеток / в экспрессии иммунных рецепторов или их лигандов / в экспрессии маркеров дифференцировки, следствием чего становятся нарушения в путях активации иммунных клеток и их взаимодействии.

Несмотря на то, что ПИД относятся к группе орфанных заболеваний с частотой встречаемости 1 : 50 000 населения, за последнее десятилетие открытие новых моногенных форм заболевания происходило стремительными темпами: в 2011 году в опубликованном документе Экспертного Комитета Международного союза иммунологических обществ (IUIS Committee – International Union of Immunological Societies Expert Committee) указано 191 моногенное заболевание, в том время как в 2019 году их число увеличилось до 430 [11, 12]. Этот почти экспоненциальный рост открытия генов обусловлен доступностью генетического исследования – секвенирования следующего поколения (next-generation sequencing) – и эффективным применением данных технологий для выявления молекулярных дефектов новых случаев ПИД, которые, вероятно, возникают в результате дефекта одного гена [13].

В настоящее время в структуре ПИД выделены 10 групп:

1. Иммунодефициты, поражающие клеточный и гуморальный иммунитет

2. Комбинированные иммунодефициты с синдромальными проявлениями
3. Преимущественно нарушение синтеза антител
4. Болезни иммунной дисрегуляции
5. Врожденные дефекты фагоцитов
6. Дефекты врожденного иммунитета
7. Аутовоспалительные заболевания
8. Дефекты системы комплемента
9. Нарушения костного мозга
10. Фенокопии врожденных дефектов иммунитета

Длительное время считалось, что для больных ПИД вакцинация не только бесполезна (для большинства форм ПИД характерна несостоятельность антительного поствакцинального ответа, а для некоторых она даже является диагностическим критерием [14]), но и небезопасна в связи с риском развития вакцин-ассоциированных осложнений. Однако, в настоящее время с разработкой инактивированных вакцин против большинства инфекций, которые не могут представлять угрозы здоровью, безопасность вакцинации не представляет сомнений. Тем не менее, множество споров, по-прежнему, вызывает вопрос о ее целесообразности и эффективности.

Современные исследования показали, что вакцинация приводит к положительному результату не только за счет синтеза антител, но и возможной активации клеточного звена иммунитета. Кроме того, у пациентов с иммунодефицитными состояниями возможна также остаточная способность к формированию специфических противовирусных антител, в связи с чем уже с 2015 года в соответствии с Европейскими руководствами пациентам с ПИД настоятельно рекомендована ежегодная иммунизация инактивированными вакцинами против вируса гриппа [7, 8], а также пневмококковой и гемофильной типа В инфекции. Инфицирование вирусом гриппа связано со значительной заболеваемостью и смертностью, особенно в группах высокого риска, к которым относятся пациенты с иммунодефицитными заболеваниями. Тем не менее, имеющиеся данные по формированию поствакцинального иммунитета у больных



ПИД в настоящее время, к сожалению, ограничены и, в некоторых случаях, противоречивы.

## 1.2. Грипп как модель инфекции для изучения поствакцинального иммунитета

Грипп – инфекция, вызываемая одноцепочечными РНК-содержащими вирусами из семейства *Orthomyxoviridae*, которая связана со значительной заболеваемостью и смертностью во всем мире и особенно опасна для людей из групп риска, таких как пациенты с сердечно-легочными заболеваниями, беременные женщины и дети, пожилые люди и пациенты с ослабленным иммунитетом. Ежегодно во всем мире регистрируется около одного миллиарда выявленных случаев инфицирования, 3-5 миллионов случаев тяжелого течения и 290 000–650 000 смертей от респираторных осложнений, связанных с гриппом [4].

Эволюция вакцин за сорок лет, с 1978 по 2018 годы, прошла путь от аттенуированных двухвалентных до четырехвалентных адъювантных субъединичных вакцин против гриппа, которые стали широко применяться для иммунизации [15]. В зависимости от количества включенных штаммов, вакцины могут состоять из двух штаммов вируса гриппа типа А различных серотипов (H1N1, H3N2) и / или одной или двух генетически различных линий гриппа типа В (Yamagata или Victoria), которые ВОЗ и по настоящее время ежегодно перед каждым сезоном отбирает для включения в состав вакцин против гриппа в Северном и Южном полушариях ввиду высокой мутационной изменчивости штаммов, в том числе за счет шифта и дрейфа, в результате которых один раз в десять лет возникают эпидемии, а раз в сто лет – пандемии, уносящие десятки или даже сотни миллионов жизней людей из групп риска по причине молниеносного и тяжелого течения заболевания у иммунизированных лиц за короткие сроки [16].

Модель гриппа, как наиболее изученная вирусная инфекция, а также по причине высокой мутационной изменчивости позволяет определить возможность

формирования клеточного ответа у больных с врожденными дефектами иммунитета, в особенности при нарушениях гуморального звена иммунитета и неспособности синтеза антител, и оценить целесообразность вакцинации по причине периодичности возникновения пандемий. Ключевым фактором для пациентов с ПИД при вакцинации является обеспечение защиты от максимального количества штаммов, безопасность (достигается за счет инактивации вируса, а также введения «частиц» вирусов) и применение адъювантов в составе вводимых препаратов для усиления иммунного ответа и большей длительности его сохранения.

### 1.3. Актуальность разработки четырехвалентных вакцин против гриппа в мире

Наблюдения за десять лет в США и за восемь лет в Европе (2001-2011 гг.) и последующий анализ полученных данных показали частое несовпадение между сезонной линией вируса гриппа типа В, циркулирующей в популяции, и линией, входящей в состав актуальной вакцины против гриппа, в 25-50 % анализируемых сезонов [17, 18]. Аналогичная ситуация отмечалась и в Российской Федерации в период наблюдения с 2006 по 2015 годы, когда несоответствие вируса гриппа типа В было обнаружено в трех из девяти сезонов [19].

Согласно разработанной Eichner M. и соавторами модели распространённости линий гриппа типа В в мире, ретроспективный анализ за последние 50 лет использования трехвалентных вакцин против гриппа показал, что 11,2 % случаев инфицирования гриппом можно было предотвратить в случае использования четырехвалентных вакцин [20]. В соответствии с результатами другого исследования, проведенного в период с 2000 по 2013 годы, четырехвалентная вакцина могла предупредить на 16 % больше случаев инфицирования вирусом гриппа типа В в случае несовпадения вакцинного и циркулирующего в популяции линий. Из этого был сделан вывод, что перекрестная защита составляет 70 % между

линиями вируса гриппа типа В. Также было показано, что пожилые люди ( $\geq 65$  лет) и взрослые в возрасте от 50 до 64 лет получали наибольшую пользу от применения четырехвалентных вакцин со снижением количества случаев инфицирования на 21 % и 18 %, соответственно [21].

В связи с ожидаемой по прогнозам ВОЗ пандемией гриппа в 2012 году было рекомендовано создание и использование новых четырехвалентных вакцин против гриппа, которые должны включать в состав обе линии вируса гриппа типа, помимо двух серотипов вируса гриппа типа А (H1N1, H3N2).

В многочисленных исследованиях, проведенных как на доклиническом этапе, так и на всех трёх фазах клинических исследований по вакцинации здоровых взрослых добровольцев, четырехвалентная инактивированная вакцина против гриппа продемонстрировала безопасность, бóльшую иммуногенность по сравнению со штаммом альтернативной линии В, не включенной в состав сравниваемой трехвалентной вакцины, без нарушения формирования иммунного ответа на другие вакцинальные штаммы [22].

#### 1.4. Применение адъювантных вакцин против гриппа

В последние десятилетия для усовершенствования механизмов действия вакцин с целью повышения их иммуногенности разрабатывались технологии производства с применением различных адъювантов. Одним из основных преимуществ адъювантных вакцин является возможность снижения антигенной нагрузки в составе препарата без потери его иммуногенных свойств, что способствует улучшению переносимости со значительной минимизацией рисков развития нежелательных поствакцинальных явлений. Включение в состав адъювантов позволило снизить дозу антигенов с последующим достижением протективного уровня специфических IgG после вакцинации, которые синтезируются за более короткий период времени на том же или даже более высоком уровне, чем после

введения безадьювантных вакцин. Однако использование адьювантов для создания четырехвалентных вакцин в настоящее время ограничено.

На современном этапе в соответствии с рекомендациями Объединенного комитета по вакцинации и иммунизации использование трехвалентных адьювантных вакцин против вируса гриппа в мире рекомендовано для людей старше 65 лет, которые имеют преимущества в сравнении с безадьювантными четырехвалентными и трехвалентными вакцинами [23].

Трехвалентная вакцина против гриппа с добавлением адьюванта MF59C.1<sup>®</sup> (9,75 мг сквалена), используемая в Европе, по результатам проведенного мета-анализа показала статистически достоверное превосходство по эффективности вне зависимости от рассматриваемого штамма вируса гриппа по сравнению с безадьювантными и высокую иммуногенность против гетерологичных штаммов, особенно против А/Н3N2 [24].

Первая адьювантная вакцина против гриппа Гриппол<sup>®</sup> в России была внедрена в практику здравоохранения в 1997 году и содержала, помимо 500 мкг азоксимера бромида, сниженное в три раза до 5 мкг гемагглютинина двух вирусов гриппа типа А (А/Н1N1 и А/Н3N2) и 11 мкг одной из двух генетически различных линий вируса гриппа типа В. Затем, в 2008 году была зарегистрирована вакцина «Гриппол<sup>®</sup> Плюс» с уменьшенным количеством антигенов вируса гриппа типа В с 11 мкг до 5 мкг без потери своих иммуногенных свойств. Добавление адьюванта в состав вакцинных препаратов позволяет добиться при сниженной в несколько раз антигенной нагрузке не меньшего, по сравнению со стандартными дозами количества гемагглютинина, иммунного ответа, а также обеспечивает более стойкий и продолжительный иммунитет за счет более медленного высвобождения препарата в организме и активации клеточных механизмов в формировании поствакцинального ответа.

Было показано, что иммуногенность и защитные свойства антигенов, присоединенных к синтетическому высокомолекулярному полимерному носителю азоксимера бромиду, увеличиваются в десятки раз; при данной комбинации

усиливается как антительный, так и клеточно-опосредованный иммунный ответ, повышается синтез всех классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA), кроме IgE [25]. По результатам проведенных исследований при применении субъединичной адьювантной вакцины против гриппа выявлено ускорение созревания дендритных клеток (ДК), увеличение скорости их миграции в региональные лимфатические узлы (ЛУ), а, как известно, высокий уровень ДК – один из факторов снижения восприимчивости к инфекционным заболеваниям. Также отмечена активация дополнительных рецепторов, которые отвечают за распознавание бактериальных антигенов, и сохранение уровня антител на протективном уровне длительнее, чем при применении безадьювантных вакцин, что свидетельствует также и об активации неспецифических защитных факторов, в том числе против бактериальных агентов [26]. Таким образом, было установлено, что сочетание вакцинных штаммов против гриппа с адьювантом является сильным активатором В- и Т-лимфоцитов, и это открытие привело к модификации производства вакцин и последующему клиническому использованию адьювантных вакцинных препаратов для неоднородной группы пациентов с нарушениями иммунной системы.

Многочисленные пострегистрационные исследования, проведенные в 2009-2019 гг., были посвящены оценке безопасности, иммуногенности, профилактической и клинической эффективности трехвалентной субъединичной адьювантной вакцины против гриппа в различных группах риска, таких как: беременные женщины, пожилые люди в возрасте 60 лет и старше, с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, дети и взрослые с астмой и другими хроническими заболеваниями дыхательных путей. Они показали высокую иммуногенность и хорошую переносимость у всех участников из групп риска, которые подлежат вакцинации в рамках Российской национальной программы иммунизации [27–31].

Из всего вышесказанного следует, что полиоксидоний в качестве адьюванта хорошо зарекомендовал себя в различных исследованиях *in vivo* и *in vitro*, особенно среди пациентов с иммуносупрессивными состояниями [32–34]. Различные

исследования показали хорошую переносимость адьювантной вакцины и не влияли на развитие плода и детей [27, 28, 35–37].

### 1.5. Вакцинация против гриппа пациентов с ОВИН

Проявления ПИД варьируют от потенциально доброкачественных форм, как, например, селективный дефицит IgA, до тяжелых проявлений, требующих проведения радикальной терапии – трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГКС) – для того, чтобы выжить, например, при тяжелой комбинированной иммунной недостаточности (ТКИН). Общеизвестным является тот факт, что диагностика и выявляемость ПИД значительно снижена и различается в зависимости от форм, по данным разных источников, от 1 : 8 500 до 1 : 100 000 среди пациентов с клиническими проявлениями [38, 39].

В течение последних четырех десятилетий создание регистров пациентов с ПИД играло важную роль в различных аспектах этих заболеваний во всем мире, включая эпидемиологические показатели, разработку политики обеспечения жизненно важными препаратами, контроль качества жизни, содействие генетическим исследованиям и клиническим испытаниям, а также улучшение понимания естественного течения болезни и функции иммунной системы. Однако, из-за ограниченности устойчивых ресурсов, поддерживающих эти регистры, несоответствия диагностических критериев и отсутствия молекулярной диагностики, а также трудностей с документацией и разработкой какой-либо универсальной платформы, глобальная перспектива этих заболеваний остается неясной.

С целью прогнозирования заболеваемости ПИД среди больших групп населения было создано несколько крупных сетей для сбора данных из независимых стран и различных регионов, а именно базы данных Европейского общества иммунодефицитов (ESID), Латино-американского общества иммунодефицитов

(LASID) и Сети иммунодефицитов США (USIDNET) [40, 41]. В 2017 году Национальная ассоциация экспертов в области первичных иммунодефицитов (НАЭПИД) объединила ведущие учреждения Российской Федерации в области иммунологии и запустила универсальную медицинскую онлайн-платформу для разработки и ведения Регистра детей и взрослых с первичными иммунодефицитами с целью интеграции всех типов пользователей в единый процесс сбора и анализа медицинской информации по генетике, клинической картине и лечению иммунодефицитов, ведения пациентов с младенческого возраста и до самой смерти [42].

В структуре ПИД иммунодефицитные состояния с нарушением синтеза антител представляют собой около 50 % всех нозологий. Общая переменная иммунная недостаточность (ОВИН) является наиболее распространенным вариантом первичных иммунодефицитов с поражением преимущественно гуморального звена иммунитета. ОВИН характеризуется различными клиническими проявлениями, среди которых чаще всего встречается склонность к рецидивирующим инфекциям, обусловленным гипогаммаглобулинемией и нарушением выработки специфических антител в ответ на белковые и полисахаридные антигены, и проявления иммунной дисрегуляции [43]. Симптомы иммунной дисрегуляции включают аутоиммунные осложнения, энтеропатию, патологическую лимфопролиферацию, повышенный в несколько сотен раз риск малигнизации, в первую очередь, лимфомы [44–46].

Основные причины ОВИН в большей степени неизвестны. Генетические мутации могут быть идентифицированы как причина заболевания примерно у 10-20 % пациентов в зависимости от этнической принадлежности и популяционной структуры когорты [47]. Мутации в генах чаще всего обнаруживаются в части В-клеточного ко-рецепторного комплекса, генах трансмембранного активатора и модулятора кальция и взаимодействующего с лигандом циклофилина (transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor – TACI), рецептора фактора, активирующего В-клетки (B cell-activating factor receptor – BAFFR), индуцибельного костимулятора

(inducible costimulator – ICOS) и липополисахарид-чувствительного белка (lipopolysaccharide responsive beige-like anchor – LRBA). Хотя эти новые моногенные дефекты имеют общие клинические проявления с ОВИН, их можно рассматривать как отдельную группу первичных иммунодефицитов с фенотипом, подобным ОВИН [48, 49]. Однако, определенная молекулярно-генетическая диагностика не проводилась у > 80 % пациентов с клинически диагностированными ОВИН, и причина их болезни пока остается неизвестной. Ожидается, что все больше и больше пациентов будут вскоре перенесены из большой группы с данным диагнозом в различные формы моногенных заболеваний с иммунологическими проявлениями, и, не исключено, что механизм формирования защиты в ответ на вакцинацию и изучение роли того или иного дефекта в иммунитете будет основным в принятии решения о необходимости вакцинации больных с моногенными заболеваниями.

Остро встает вопрос о вакцинации против гриппа пациентов, находящихся на регулярной заместительной терапии препаратами внутривенных или подкожных иммуноглобулинов. У пациентов с ОВИН, относящейся к группе ПИД с нарушенным антителообразованием, несмотря на регулярное проведение заместительной терапии препаратами донорских иммуноглобулинов, ежегодная вакцинация против вируса гриппа является единственным способом формирования защиты от вируса, а также предотвращением инфекционных осложнений заболевания и показана ввиду того, что препараты внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ) не могут содержать антител к актуальным, циркулирующим в настоящий сезон вариантам вируса гриппа, а тот факт, что вакцины против гриппа могут индуцировать клеточный иммунитет, генерирующий специфические для гриппа CD4 и CD8 Т-лимфоциты у пациентов, не способных вырабатывать IgG-антитела против вируса гриппа, делают вакцинацию оправданной [10, 50, 51]. В то же время имеются данные о содержании перекрестно-реактивных антител А/Н1N1 во ВВИГ [52], однако, этот факт не подтверждается данными других научных работ (Gardulf M. M. и соавторы), где среди 48 пациентов с ОВИН, несмотря на регулярную терапию



иммуноглобулинами (1 раз в неделю), антител к вирусу гриппа на довакцинальном этапе ни у кого обнаружено не было [53].

Остается открытым вопрос о схемах вакцинации иммунокомпрометированных больных. Хотя Eibl M. M. и Wolf H. M. считают, что вакцинация против вируса гриппа должна осуществляться по тем же схемам, что и у здоровых людей [7], данные клинических исследований показывают необходимость введения второй дозы не ранее, чем через 21 день после вакцинации, или введения двойной дозы одновременно с целью более активной стимуляции иммунитета [54, 55]. Однако, при этом в исследовании Hartley G. E. с соавторами было показано, что у пяти больных с нарушением синтеза антител по сравнению со здоровым контролем количество антиген-специфичных В-клеток памяти к гемагглютинуину штамма A/H1N1/Michigan/2015 также, как и уровень преимущественно IgG1, было значительно ниже и не увеличивалось после повторной вакцинации [56].

В настоящее время в мире существуют единичные исследования, которые изучали формирование поствакцинального иммунитета, как гуморального, так и клеточного, в ответ на вакцинацию против гриппа у ограниченного числа пациентов с ОБИН [57–59] (приложение А).

Моновалентная сплит-вакцина против гриппа A/H1N1 с добавлением адьюванта AS03 (Pandemrix<sup>®</sup>, GlaxoSmithKline, Бельгия) широко использовалась во время сезона пандемии гриппа 2009-2010 гг. для формирования специфического иммунного ответа в короткие сроки как среди здорового взрослого населения (67-98,3 % продуцировали защитные уровни антител против гриппа A/H1N1 через 21 день после инъекции разовой дозы (3,75 мкг) вакцины, так и среди людей с ослабленным иммунитетом, в том числе пациентов с ПИД, в результате чего были получены обнадеживающие результаты.

В связи с экстренной необходимостью вакцинации по эпидемическим показаниям и формирования в короткие сроки стойкого иммунитета среди всех групп граждан 2 из 4 с использованием адьювантной вакцины противопандемического вируса гриппа с включением в состав A/California/7/2009 – H1N1-подобного вируса с добавлением адьюванта AS03 (Pandemrix<sup>®</sup>,

GlaxoSmithKline, Бельгия) – исследований были проведены в этот период, благодаря которому создается «депо» антигенов, обеспечивая их более медленное рассасывание, в результате чего активируются макрофаги, усиливая поглощение антигена дендритными клетками, и CD4+ Т-клетки, стимулируя не только гуморальный, но и Т-клеточный иммунитет [60, 61]. В исследовании, проведенном Pedersen и соавторами, число участников с ОВИН было всего 3, однако, по результатам полученных данных в рамках исследования оказалось, что после вакцинации двумя дозами одновременно и бустеризации еще одной дозой через три недели (7,5 мкг + 3,75 мкг гемагглютинаина) двое из троих пациентов ответили на вакцинацию более чем 4-кратным увеличением титра антител в реакции торможения гемагглютинации [62]. В другом, самом масштабном на данный момент исследовании, опубликованном в 2018 году, с использованием той же вакцины 48 пациентов с ОВИН были вакцинированы двукратно против вируса гриппа с интервалом один месяц. Исследователями было обнаружено, что восемь (16,7 %) участников достигли протективного титра специфических антител против пандемического вируса гриппа А (H1N1) на уровне  $\geq 1 : 40$ : 4 / 8 после первой вакцинации, остальные 4 – после ревакцинации через один месяц, при том, что 7-98,3 % здоровых людей формируют защитные уровни антител с 21-го дня после однократного введения Pandemrix® [53]. В третьем исследовании после введения одной дозы безадьювантной вакцины после иммунизации у 7 из 8 пациентов с нарушением гуморального звена иммунитета отмечался синтез антител, по крайней мере, против одного из трех штаммов вакцины [58]. В самом раннем же исследовании, проведенном Sander van Assen и соавторами в 2010 году, после вакцинации трехвалентной безадьювантной субъединичной вакциной (Influvac) в сезон 2006-2007 гг. 18 пациентов с нарушением гуморального звена иммунитета (в том числе и ОВИН) автор посчитал, что получил неудовлетворительные результаты: у 88 % и всего у 23 % не было отмечено прироста титра антител в значениях  $\geq 40$  к А/Н3N2 и А/Н1N1, соответственно, после вакцинации. Однако, во всех исследованиях было отмечено, что клеточный ответ против гриппа у пациентов с ОВИН был сопоставим с показателями групп здорового контроля.

## 1.6. Гуморальный иммунитет у пациентов с ОВИН

Общая переменная иммунная недостаточность (ОВИН) характеризуется снижением уровня сывороточных иммуноглобулинов (Ig) из-за отсутствия нормальной дифференцировки В-клеток [44, 63]. Поскольку для дифференцировки наивных В-клеток в клетки, секретирующие антитела, требуются специфические экзогенные сигналы, многие исследователи изучали синтез иммуноглобулинов *in vitro* при ОВИН, чтобы проанализировать причины дефектов. Эти исследования показывают, что В-клетки некоторых пациентов с ОВИН сохраняли способность к синтезу иммуноглобулинов *in vitro*, в то время как В-клетки других – нет. Несмотря на то, что большинство пациентов с ОВИН имеют нормальное количество периферических В-клеток, у всех них отмечается значительно сниженное количество циркулирующих CD27+IgD– изотип-переключенных В-клеток памяти, что связано со сниженной продукцией антител [64] и, как следствие, высокой вероятностью более неблагоприятных клинических исходов [65, 66]. Была выявлена корреляция умеренного снижения количества В-клеток с поверхностным маркером CD27+ (клетки памяти), особенно очень низкого количества В-клеток CD27+IgD– (изотип-переключенные клетки памяти) с более низким синтезом антител как *in vitro*, так и *in vivo* [67], а также некоторыми отдельными клиническими осложнениями [66, 68, 69].

Дифференцировка CD27– наивных В-клеток человека в CD27+ В-клетки памяти и плазматические клетки обычно происходит в зародышевых центрах вторичных лимфоидных органов, где антиген-активированные наивные В-клетки проходят пролиферацию, соматическую гипермутацию генов переменной (V) области Ig, переключение изотипов и, в итоге, дифференциацию [9, 10]. В ответ на повторное заражение антигеном В-клетки памяти подвергаются соматической гипермутации генов V-области Ig и способны генерировать Ig всех изотипов. Фактически было показано, что CD27+IgD+ В-клетки, которые подвергаются соматической гипермутации у здоровых субъектов, с меньшей вероятностью подвергаются

таковой у субъектов с ОВИН [4]. Поскольку дифференцировка плазматических клеток происходит преимущественно из CD27+ В-клеток [13], одним из следствий является нехватка плазматических клеток при ОВИН [6, 14].

Как было отмечено выше, после введения инактивированной адьювантной вакцины против гриппа Pandemrix® (двойная доза в начале и бустеризации через 3 недели) у пациентов с ОВИН выявлялось более чем 4-кратное увеличение титра антител [62]. При этом IFN- $\gamma$ , IL-2 и TNF- $\alpha$  продуцирующие CD4+ Th1-клетки были обнаружены как у пациента с X-сцепленной агаммаглобулинемией, так и у всех троих участников исследования с ОВИН.

Gardulf и соавторы [53] попытались идентифицировать маркеры, которые могут прогнозировать гуморальный иммунный ответ на вакцинацию против гриппа у пациентов с ОВИН. 48 пациентов с ОВИН (29 женщин и 19 мужчин) были вакцинированы двумя дозами Вакцины против гриппа типа А (H1N1) Pandemrix® (GlaxoSmithKline) с интервалом один месяц. У 8 (16,7 %) пациентов сформировались уровни IgG антител на защитном уровне. У этих пациентов иммунный ответ был связан с более высоким уровнем сывороточного IgG1 и плазмобластов и более низким уровнем сывороточного IgM. Клинически у большинства респондентов в анамнезе была энтеропатия, а бронхоэктазы и аутоиммунные цитопении были обнаружены исключительно среди не ответивших на вакцинацию синтезом антител. Несмотря на разнообразные определяемые в исследовании показатели (CD21<sup>low</sup> В-клетки, EUROclass, пост-герминальные центры В-клеточных паттернов и другие), исследователям не удалось выделить предикторы гуморального иммунного ответа.

Группа исследователей во главе с Hanitsch изучали грипп-специфические антитела и Т-клеточный ответ у 8 пациентов с ОВИН, у 8 больных с неклассифицированным дефектом антител и у 9 здоровых в качестве группы контроля в ответ на введение одной дозы безадьювантной трехвалентной вакцины против гриппа. Несмотря на то, что у пациентов с гипогаммаглобулинемией и была нарушена вакцин-специфическая выработка антител (1 / 8 пациентов с ОВИН и 4 / 8 пациентов с неклассифицируемым дефектом антител ответили синтезом

антител на протективном уровне как минимум в ответ на один из трех вакцинных штаммов), их Т-клеточный цитокиновый ответ был сопоставим с таковым у здоровой контрольной группы (у 7 / 8 пациентов с ОВИН и 6 / 8 пациентов с неклассифицируемым дефектом антител наблюдалось повышение уровня IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2 продуцируемых CD40L+ Т-клетками аналогично здоровым из группы контроля).

А вот Sander van Assen в своем исследовании, включавшем 18 пациентов с ОВИН, указывает, что, хотя достижение протективного титра антител и было достигнуто у 77 % к А/Н1N1 и у 12 % к А/Н3N2, адекватного увеличения IFN-гамма продукции CD4+ Т-клетками по сравнению со здоровым контролем не было отмечено.

Как следует из данных приведенных исследований (приложение А), результаты весьма противоречивы. Расхождение в них обусловлено не только разными схемами вакцинации, но и выбором вакцинного препарата. Учитывая, что у больных с ПИД возникает необходимость повышения эффективности вакцин, которые должны активировать все звенья иммунной системы, адъювантные вакцины, исходя из имеющихся немногочисленных данных литературы, предпочтительны.

### 1.7. Клеточный иммунитет у пациентов с ОВИН

Несмотря на то, что нарушенный адаптивный иммунный ответ с дефектами созревания и активации В-клеток является общим у большинства пациентов с ОВИН [70], внимание ученых сосредоточено на изучении, в том числе, дефектов врожденного иммунитета как возможном объяснении неоднородности группы пациентов с ОВИН. В то время как характерная гипогаммаглобулинемия при ОВИН считается, главным образом, результатом дисфункции В-клеток,

имеющиеся немногочисленные исследования указывают на дополнительную роль Т-клеток в патогенезе ОВИН.

Кроме дефектов В-клеток у пациентов с ОВИН уже в конце XX века были описаны нарушения Т-лимфоцитов, такие как: снижение пролиферации лимфоцитов в ответ на митогены и антигены, сниженное количество наивных CD4 и CD8 лимфоцитов, CD4+ Т-лимфопения, повышенный уровень CD8+ клеток и, как следствие, инверсия CD4 / CD8 соотношения, склонность к ускоренному апоптозу Т-клеток, снижение количества и функции регуляторных Т-лимфоцитов (Treg), повышенные уровни маркеров активации Т-клеток и нарушенная продукция цитокинов. Все эти особенности указывают на четкое участие Т-клеток в патогенезе ОВИН [71–79].

Некоторые аномалии Т-клеток при ОВИН, которые заключаются в олигоклональной экспансии CD8+ Т-клеток и снижении количества CD4+ Т-клеток [78], приводят к нарушению секреции ряда растворимых медиаторов [80].

Считается, что Т-клетки при ОВИН могут быть функционально истощены, что проявляется, в том числе, снижением способности отвечать на бактериальные антигены [81, 82]. В ранних исследованиях сообщалось о признаках функционального истощения и нарушения функции Т-лимфоцитов [81, 83, 84], однако на настоящий момент было доказано, что их способность продуцировать провоспалительные цитокины, полноценно функционировать и пролиферировать сохранена [85]; также из результатов других исследователей следует, что CD4 лимфоциты в ответ на стимуляцию вакцинным антигеном пролиферируют на достаточном уровне, однако эти стимулы индуцируют значительно меньшую продукцию IL-2, чем наблюдается среди CD4 Т-клеток у здоровых [86]. Сывороточные цитокины при ОВИН часто смещены в сторону Th1-фенотипа [83, 87].

Роль цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов в защите от вирусов или аутоиммунных заболеваний подробно описана, но еще не изучена при ОВИН. У пациентов с ОВИН процент активированных субпопуляций Т-лимфоцитов CD8 выше, чем у здоровых людей из контрольной группы. Является ли это следствием

или частью отклонений при ОВИН – все еще остается предметом дискуссий. Активация CD8<sup>+</sup> Т-клеток далеко не всегда может быть объяснена течением известного инфекционного заболевания, способного стимулировать иммунную систему.

Ранее были описаны измененное распределение дендритных клеток (ДК) в периферической крови, а также нарушенная способность ДК к активации Т-лимфоцитов после антигенной или аллогенной стимуляции у пациентов с ОВИН [88, 89]. Это связано со снижением экспрессии основного комплекса гистосовместимости класса II и костимулирующих молекул, а также синтеза интерлейкина-12 (IL) дендритными клетками. В других источниках сообщалось о сниженной продукции IL-12 моноцитами у пациентов с ОВИН [90]. Некоторые данные также продемонстрировали снижение уровня циркулирующих естественных киллеров (НКК) [91]. Однако, при ОВИН плазмитоидные ДК (пДК) и В-клетки демонстрируют нарушенный ответ на стимуляцию CpG (неметилированные CpG бактериальной ДНК распознаются Toll-подобными рецепторами 9 класса и инициируют сигнальный каскад реакций, приводящий к синтезу провоспалительных цитокинов иммунокомпетентными клетками и активации механизмов иммунологической защиты организма) *in vitro* [92].

## 1.8. Толл-рецепторы

В то время как В-клетки традиционно считаются ключевыми в адаптивном иммунитете из-за их способности продуцировать антитела, активация рецепторов врожденного иммунитета, также экспрессирующихся на В-клетках, обеспечивает костимулирующий эффект, который способствует как их функционированию и выживанию [93], так и координированию врожденных и адаптивных иммунных сигналов, что приводит к широкому диапазону клеточных ответов.

В-клетки памяти обычно образуются в зародышевых центрах в ответ на Т-зависимые или Т-независимые антигены, но, как и другие антигенпрезентирующие клетки, В-клетки экспрессируют различные Toll-подобные рецепторы (TLR) [94, 95] – консервативные мембранные белки, которые обеспечивают альтернативные способы активации В-клеток [96].

Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptor – TLR) – патоген-распознающие рецепторы, которые играют ключевую роль в элиминации микробных агентов через привлечение фагоцитов или активацию дендритных клеток. Из десяти TLR, экспрессируемых у человека, на В-клетках экспрессируются TLR1, TLR2, TLR6, TLR7, TLR9 и TLR10. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 и TLR6 экспрессируются на внеклеточной поверхности и распознают компоненты микробной стенки, включая ЛПС, липопептиды и флагеллин. TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 в основном локализуются в эндосомальных компартментах; это расположение позволяет этим рецепторам распознавать продукты распада ДНК и РНК вирусного и бактериального происхождения. TLR экспрессируются в различных типах клеток, включая моноциты, фагоциты, дендритные клетки и субпопуляции В-клеток.

Одним из наиболее мощных стимуляторов активации и созревания В-клеток являются эндосомные TLR, агонистами которых являются одноцепочечные РНК или различные синтетические агонисты (TLR7) и неметилированные мотивы CpG в микробной ДНК (CpG-ДНК) (TLR9), соответственно [97]. Было показано, что связывание TLR9 с помощью CpG-ДНК активирует нормальные В-клетки, усиливает экспрессию костимулирующих молекул, запускает секрецию IL-6 и IL-10 и опосредует Т-независимое переключение изотипов и продукцию специфических антител независимо от связывания рецепторов В-клеток (BCR) [15–19]. Перекрестное же связывание В-клеточного рецептора (BCR) приводит к быстрой активации их экспрессии. Наивные В-клетки экспрессируют низкие уровни TLR, тогда как В-клетки памяти конститутивно экспрессируют TLR7, TLR8 и TLR9 на более высоких уровнях [19–22]. Предполагают, что данные различия между наивными и В-клетками памяти связаны с разными адаптивными функциями: В-клетки памяти экспрессируют повышенные уровни TLR и обладают



большой способностью, по сравнению с наивными В-клетками, дифференцироваться в плазматические клетки через стимуляцию TLR [98].

Один из наиболее изученных сигнальных ответов TLR – ответ TLR9 на В-клетках, который запускается олигодезоксинуклеотидами (ODN), полученными из бактериальной и вирусной ДНК, содержащие неметилированные мотивы CpG (CpG-ODN) [99]. Результаты передачи сигналов TLR9 на В-клетках человека разнообразны и включают клеточную активацию, регуляцию костимулирующих молекул, включая CD23, CD25, CD40, CD54, CD80, CD86, CD69 и HLA-DR, секрецию IL-6 и IL-10, T-независимое переключение изотипов иммуноглобулинов, транскрипцию генов зародышевых линий, соматическую гипермутацию и выработку иммуноглобулина, не зависящую от В-клеточного рецептора (BCR) [100]. Связывание TLR9 на В-клетках памяти дополнительно усиливает его собственную экспрессию, повышает чувствительность клеток к активации, независимо от стимулирующего антигена, при этом одновременно усиливая специфический антительный ответ. В то время как В-клетки памяти более чувствительны к сигналам с TLR, активация наивных В-клеток при определенных условиях также приводит к созреванию и секреции Ig [101].

TLR7 и TLR8, которые обладают сходной лигандной специфичностью и экспрессируются вместе с TLR9 в эндосомном компартменте В-клеток, имеют сходные сигнальные пути с TLR9. Агонисты TLR7, такие как продукты одноцепочечной РНК, синтетические аналоги гуанозина (имиквимод или локсорибин) и производные имидазохинолина (например, CL097), могут активировать как наивные, так и В-клетки памяти человека. Активация TLR7 приводит как к клеточной дифференцировке, так и к продукции иммуноглобулинов [102]. Интересно, что для TLR7-опосредованной стимуляции удаление плазматических дендритных клеток (пДК) снижает продукцию иммуноглобулинов, демонстрируя необходимость прямого или косвенного взаимодействия с пДК. Поскольку добавление IFN-альфа восстанавливает секрецию иммуноглобулинов, этот цитокин необходим для продукции антител в нормальных культурах В-клеток [103]. Эксперименты как *in vivo*, так и *in vitro*

показали, что для переключения В-клеток на изотипы IgG необходимо одновременное присутствие, как минимум, двух сигналов наряду с вовлечением BCR: активация TLR, вовлечение CD40 и / или IFN-альфа [104]. Эти наблюдения привели к исследованиям, предполагающим, что активация TLR может обеспечивать длительный стимул, важный для поддержания пролиферации В-клеток памяти и дифференцировки в зрелые секретирующие антитела клетки, которые первоначально индуцируются BCR и посредством Т-клеток [105, 106].

Связывание и активация TLR7 и TLR9 может служить сигналом для начала дифференцировки В-клеток после антигенной стимуляции через BCR. Однако, имеются данные, в которых сообщается о дефектах в TLR7 и TLR9 на В-клетках пациентов с ОВИН [97]. Поскольку активация TLR, по-видимому, является неотъемлемым механизмом активации и последующей выживаемости В-клеток памяти [107], исследование у пациентов с ОВИН дефектов TLR9 выявило, что их В-клетки не активировались лигандом CpG-ODN даже при костимуляции BCR, как и секрецией ИЛ-6 и ИЛ-10 [97], таким образом, не происходила активация TLR, наблюдалась низкая пролиферация В-клеток, отсутствие их созревания, переключения изотипов и выработки IgG и IgA [97].

Еще в 2010 году Danilo Escobar и соавторы исследовали активацию В-клеток у 14 пациентов с ОВИН, индуцированную TLR9-специфическим лигандом (CpG-ODN) и бактериальными лизатами *S. pneumoniae* и *H. influenzae*, которые, как известно, стимулируют несколько типов TLR. Было обнаружено, что у пациентов с ОВИН В-клетки как при коактивации анти-IgM антителами, так и без, экспрессируют более низкие уровни CD86 после стимуляции TLR9 лигандами CpG-ODN, *S. pneumoniae* и *H. influenzae*, а также демонстрируют более низкий индекс пролиферации при стимуляции бактериальными экстрактами. Ученые пришли к выводу о дефектах в передаче сигналов TLR В-лимфоцитов пациентов с ОВИН [108].

В исследовании Yu J. E. и соавторов было показано, что активация TLR3 на мононуклеарных клетках периферической крови (от англ. *peripheral blood mononuclear cells – PBMCs*, включают лимфоциты (Т-, В- и NK-клетки), моноциты

и дендритные клетки)) и фибробластах при ОВИН приводит к нормальной продукции IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$ , потенциально обеспечивающих адекватную защиту от вирусов. Несмотря на то, что PVMCs и пДК при ОВИН продуцируют меньшее количество IFN- $\alpha$  при воздействии лигандов TLR [97], IFN- $\alpha$  усиливает TLR7-индуцированную пролиферацию наивных и В-клеток памяти у большинства пациентов с ОВИН и увеличивает процент изотип-переключенных В-клеток памяти в этих культурах. Однако, одно лишь восстановление уровня только IFN- $\alpha$  вряд ли улучшит синтез IgG и IgA *in vitro*, так как нормальные В-клетки, запускаемые TLR7, требуют дополнительных цитокинов, таких как IL-2 и IL-10, для продукции иммуноглобулинов [102].

TLR7, TLR8 и TLR9 передают сигнал через общий адаптерный белок MyD88, тогда как сигналы TLR3 идут через MyD88-независимый путь с участием TRIF и фактора ответа на интерферон (IRF3) [109]. Эти различия могут помочь в дальнейшем в раскрытии дефектов TLR при ОВИН. Учитывая внутриклеточную локализацию этих рецепторов, также возможно, что внутриклеточное перемещение, доставка и обработка лигандов TLR в клетках могут быть нарушены при ОВИН. При этом следует отметить, что мутации IRAK4 и MyD88 (белки в каскаде реакций после активации TLRs) у здоровых людей не приводят к явным дефектам в антительном ответе [110].

Подобно В-клеткам пДК экспрессируют высокие уровни TLR7 и TLR9; вирусная или лигандная стимуляция этих рецепторов обычно приводит к секреции большого количества IFN 1 типа. Хотя IFN- $\alpha$  обычно рассматривается как противовирусный или антипролиферативный цитокин [111], он также усиливает чувствительность В-клеток к TLR7-8 индуцированной активации, праймирует В-клетки за счет повышения чувствительности к перекрестному связыванию BCR и обеспечивает дальнейшее усиление TLR-опосредованного переключения изотипов и секрецию иммуноглобулинов [104, 112].

Также возможно, что даже незначительные незаметные мутации изменения в генах TLRs вносят изменения в аминокислотные последовательности у пациентов с ОВИН. Например, однонуклеотидный полиморфизм влияет

на клеточный ответ при стимуляции TLRs и, таким образом, повышает восприимчивость к инфекциям или воспалительным заболеваниям [113, 114].

Таким образом, окончательно иерархическая роль TLR в биологии В-клеток не ясна: являются ли эти рецепторы необходимыми для развития некоторых путей нормального гуморального иммунитета или стимуляция TLRs служит больше как адъювант для существующих функций? На основании исследований можно предположить, что пути передачи сигналов посредством TLR могут обеспечивать вторичные стимулы для развития В-клеток, однако иные молекулярные механизмы могут компенсировать дефектную передачу сигналов через данные врожденные рецепторы [115]. Более подробное понимание статуса врожденного иммунитета при активации лигандами TLRs необходимо для выявления специфических дефектов во врожденных иммунных реакциях у пациентов с ОВИН, которые могут объяснить, вероятно, вариабельность клинических симптомов.

Значительное уменьшение количества CD27+ В-клеток памяти у пациентов с ОВИН (один из лабораторных критериев постановки диагноза) может объяснить сниженную активацию / количество TLR при ОВИН; однако было показано, что даже циркулирующие В-клетки памяти CD27+ больных демонстрируют неполноценный ответ по сравнению с CD27+ В-клетками группы контроля. Эти данные показывают, что одни внутренние дефекты активации TLR сопровождают или приводят к неэффективному образованию при ОВИН изотип-переключенных В-клеток памяти, продуцирующих антитела, тогда как другие TLR-опосредованные ответы остаются неизменными. Кроме того, эти дефекты не ограничиваются В-клетками, отмечается также, что рДС пациентов с ОВИН продуцируют мало IFN- $\alpha$  для стимуляции TLR7 и TLR9 [116].

## 1.9. Эффекторы врожденного иммунитета при ОВИН

При изучении врожденного иммунитета у пациентов с нарушением гуморального звена иммунитета, особенно у пациентов с ОВИН, приходится сталкиваться с рядом проблем. Первой и наиболее значимой является изменчивый характер заболевания, который отражается в разнообразном клиническом фенотипе пациентов. Особенности при различных фенотипах заболевания могут быть причиной различных и даже противоречащих друг другу результатов исследований, приводящим к разным выводам.

Вторая проблема – это редкая встречаемость заболевания в популяции, которая влияет на точность результатов статистической обработки. Более того, пациенты с ОВИН после установления диагноза нуждаются в как можно скорее начатой ежемесячной заместительной терапии иммуноглобулином, и, как следствие, количество диагностированных пациентов, не получающих терапию, для изучения патогенеза заболевания уменьшается. В результате подавляющее большинство опубликованных исследований относится к пациентам, получающим заместительную терапию иммуноглобулинами.

Третья проблема, но не менее важная – это воздействие в ходе экспериментов на клетки крови, в том числе **полиморфонуклеарные лейкоциты**, приводящее к неточным результатам, поскольку они являются короткоживущими клетками *in vivo* и чрезвычайно чувствительными к изменениям *in vitro*, как уже было описано ранее.

Данные имеющихся исследований свидетельствуют о том, что изменения затрагивают практически все клетки врожденной иммунной системы у пациентов с ОВИН.

НК-клетки, которые являются одним из основных компонентов врожденного иммунитета, играют важную роль в противоопухолевом и противовирусном иммунитете. Хорошо известно, что НК-клетки осуществляют иммунный надзор не только за счет цитотоксических эффекторных функций, но также и за счет

секреции цитокинов и способности взаимодействовать как с клетками врожденного, так и адаптивного иммунитета [117]. NK-клетки включают два основных подмножества, определяемых на основе поверхностной экспрессии CD56 и CD16; субпопуляция NK с набором поверхностных рецепторов CD3-CD16+CD56dim в основном выполняет цитотоксические функции, а субпопуляция NK-клеток с фенотипом CD3-CD16-CD56bright играет, главным образом, основную роль в секреции цитокинов [118]. Высокая экспрессия HLA-DR на CD3-CD16+CD56dim указывает на то, что эти клетки были простимулированы, активированы, передали сигнал и были продуцированы IFN- $\gamma$ , перфорин и гранзим. Нормальная экспрессия IFN- $\gamma$  может указывать на нормальный ответ NK-клеток.

При исследовании субпопуляций в крови пациентов с ОВИН нередко наблюдается снижение числа NK-клеток. Известно, что NK-клетки обладают цитотоксической способностью. Низкие уровни NK-клеток и их функциональная активность могут быть связаны с рецидивирующими инфекциями из-за слабой защитной реакции. В связи с тем, что для пациентов с дефектом гуморального звена иммунитета характерны рецидивирующие инвазивные бактериальные инфекции с гнойными осложнениями, обусловленные *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*, вероятно, что высокий уровень экспрессии IFN- $\gamma$  может быть связан с повышенной активацией макрофагов в ответ на данные инкапсулированные бактерии. У взрослых пациентов с агаммаглобулинемией субпопуляции CD3-CD16+CD56+ NK-клетки могут быть снижены [119].

Влияние заместительной терапии на функционирование NK клеток изучено недостаточно, однако, учитывая, что ВВИГ выполняют иммуномодулирующую функцию при некоторых аутоиммунных заболеваниях [120], возможно, ВВИГ регулируют и функционирование NK-клеток у пациентов с ПИД, находящихся на заместительной терапии иммуноглобулинами.

Изменения затрагивают и другие клетки врожденной иммунной системы. Исследования показали, что дендритные клетки у пациентов с ОВИН имеют сильно измененную дифференцировку, созревание, функцию и сниженные уровни костимулирующих молекул, которые имеют решающее значение для стимуляции

Т-клеток [121]. Более того, снижение количества естественных клеток-киллеров [122] и изменения моноцитов у пациентов с ОВИН прямо коррелируют с экспрессией маркеров активации Т-клеток и дисбалансом В-клеток [123]. В этом исследовании также было показано, что при ОВИН отмечаются повышенные уровни sCD14 в сыворотке и увеличение моноцитов CD14brightCD16+, что напрямую коррелирует с существующими нарушениями в Т- и В-лимфоцитах. Более того, гиперактивация моноцитов происходила независимо от уровней ЛПС в плазме, что позволяет предположить, что моноциты могут представлять собой важные мишени для терапии, дополняющей ВВИГ, с целью контроля гранулематозных и лимфопролиферативных проявлений при ОВИН.

В исследовании J. Carbone полученные результаты указывают на состояние постоянной активации Т-лимфоцитов, которое автор связывает с клиническими осложнениями заболевания, часто наблюдаемыми у пациентов с ОВИН [124].

#### 1.10. Заключение

Таким образом, несмотря на то, что за последние десятилетия удалось раскрыть этиологию многих форм ПИД и улучшить как диагностику, так и терапию моногенных заболеваний благодаря накопленной в мире информации по прогнозу течения в зависимости от выявленной мутации, многое в патогенезе остается до сих пор неизученным, в том числе в отношении самой многочисленной группы с нарушением синтеза антител. Специфические антитела против многих инфекционных агентов присутствуют в достаточных количествах в препаратах ВВИГ, однако они не обеспечивают защиту от всех инфекций, так как концентрации антител против болезней с низким охватом вакцинации в общей популяции (например, клещевой энцефалит) или против заболеваний с низкой распространенностью (например, менингококковый менингит) являются переменными или недостаточными. Глобально отсутствуют фундаментальные

исследования по эффективности и безопасности вакцинации данной группы пациентов несмотря на то, что вакцинопрофилактика многих вакциноуправляемых респираторных инфекций, часто приводящих к тяжелому течению, развитию осложнений и летальных исходов заболевания – единственный способ защитить данную когорту больных.

Имеющиеся данные по вакцинации против вируса гриппа пациентов с ОВИН, эпидемии которого наблюдаются ежегодно, ограничиваются скорее наблюдениями за несколькими пациентами, отсутствует комплексный подход к изучению поствакцинального иммунитета, полученные же скудные данные, например, по синтезу специфических антител, крайне противоречивы и не могут быть сравнимы ввиду использования разных доз, схем, сроков вакцинации, а также типов используемых вакцин. В связи с этим сохраняется множество нерешённых вопросов (формирование клеточной памяти, факторы, влияющие на антителообразование, условия для развития полноценного как гуморального, так и клеточного иммунитета, безопасность применения, повышение эффективности вакцинации за счет применения индивидуальных схем), требующих проведения изучения на бóльшей выборке пациентов, а также с определением маркеров не только гуморального звена иммунитета, применимого для здоровых людей, но и других показателей активации иммунитета.



## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Участники исследования

В исследовании из регистра Института иммунологии были проанализированы 297 амбулаторных карт пациентов с ПИД и отобраны 203 пациента с диагнозом ОВИН, который был установлен в соответствии с критериями European Society on Immunodeficiency Disorders (ESID). Однако, в связи с коморбидностью больных и в соответствии со строгими критериями включения в исследование, а также с необходимостью купирования обострения при поступлении пациентов в стационар, ежегодной сменой штаммового состава вакцин против гриппа, ограниченными сроками проведения вакцинации против гриппа (осенне-зимний период), провести иммунизацию оказалось возможным только 15 пациентам с ОВИН.

Таким образом, в сезон гриппа 2018-2019 на базе отделения иммунопатологии клиники ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России и ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» МЗ РФ в исследовании приняли участие 6 пациентов с диагнозом общей вариабельной иммунной недостаточности, которым однократно вводилась 1 доза 0,5 мл четырехвалентной субъединичной адьювантной вакцины против вируса гриппа «Гриппол Квадривалент» (ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия). Ровно через год 5 из 6 испытуемых были повторно вакцинированы трехвалентной субъединичной адьювантной вакциной против вируса гриппа «Гриппол Плюс» (ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия) из семейства вакцин Гриппол. Средний возраст пациентов с ОВИН составил  $36,6 \pm 2,03$  лет.

В сезон гриппа 2019-2020 после получения информированного согласия были иммунизированы еще 9 пациентов с ОВИН одномоментно двумя дозами трехвалентной субъединичной адьювантной вакцины против вируса гриппа

«Гриппол Плюс». Подробная демографическая и клиническая характеристика пациентов с ОВИН представлена в Приложении Б.

В качестве группы контроля для определения рабочих концентраций для иммунологических показателей выступали здоровые добровольцы, которые были вакцинированы по аналогичным схемам, что и пациенты с ОВИН. 32 здоровых добровольца в возрасте от 19 до 48 лет ( $32,56 \pm 1,67$  года) в сезон 2018-2019 были также вакцинированы одной дозой четырехвалентной вакцины, 10 из которых были повторно вакцинированы через 1 год (в сезон 2019-2020) трехвалентной адъювантной вакциной против гриппа «Гриппол Плюс».

Между двумя группами не было значительных различий в отношении возраста и пола. Все участники в предшествующие два сезона (2016-2017, 2017-2018) не были вакцинированы против гриппа так же, как и не было зарегистрированных случаев подтвержденной перенесенной инфекции.

## 2.2. Критерии включения и невключения

- Подтвержденный диагноз ОВИН в соответствии с диагностическими критериями, установленными Европейским обществом по Иммунодефицитным заболеваниям (<http://esid.org/WorkingParties/Registry/Diagnosis-criteria>) и Американской академией по Аллергии, Астме и Иммунологии для диагностики и лечения ПИД [9].

- Исключены причины вторичной гипогаммаглобулинемии.

- Проведение заместительной иммунотерапии препаратами ВВИГ не позднее, чем за 28 дней до вакцинации, и не ранее, чем через 21 день после нее, то есть перерыв между двумя последующими введениями иммуноглобулинов не менее семи недель.

- Отсутствие симптомов гриппа и гриппоподобных заболеваний в течение последних шести месяцев.

- Отсутствие симптомов острой инфекции на момент вакцинации.
- Отсутствие приема на момент исследования и за 3 месяца до его начала глюкокортикостероидных препаратов или иной иммуносупрессивной терапии.
- Отсутствие симптомов энтеропатии с потерей белка, а также подозрения на онкологическое или лимфопролиферативное заболевание у пациентов с ОВИН на момент исследования.
- Отсутствие уровня специфических противовирусных антител в защитных титрах ( $> 1 : 40$ ) в довакцинальных образцах крови.
- Наличие в анамнезе аллергии на яичные белки или какой-либо компонент исследуемой вакцины.
- Исключены лица с когнитивными или поведенческими нарушениями, или психическими расстройствами, или злоупотребляющие алкоголем, что могло помешать участию в исследовании.
- Проведение вакцинации против любых иных инфекций в течение 1,5-2 месяцев до включения в исследование.
- Добровольное подписание информированного согласия на участие в исследовании.

### 2.3. Вакцины и вакцинация

Вакцины «Гриппол Квадривалент» (ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия) и «Гриппол Плюс» (ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия) были доступны для иммунизации лиц от 18 до 60 лет в сезон гриппа 2018-2019 и 2019-2020, соответственно, и включали штаммы, соответствующие рекомендациям ВОЗ в северном полушарии 2018-2019 гг. для четырехвалентных вакцин (A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09-подобный вирус; A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2)-подобный вирус; B/Colorado/06/2017-подобный вирус (B/Victoria/2/87 линия); B/Phuket/3073/2013-подобный вирус (B/Yamagata/16/88

линия) и 2019-2020 гг. для трехвалентных вакцин (A/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09-подобный вирус; A/Kansas/14/2017 (H3N2)-подобный вирус; B/Colorado/06/2017-подобный вирус (линия B/Victoria/2/87)). Вакцины содержали по 5 мкг гемагглютинина каждого включенного штамма гриппа и азоксимера бромид 500 мкг (без консерванта).

Вакцинация проводилась в отделении иммунопатологии клиники Института иммунологии ФМБА России с соблюдением всех правил асептики и антисептики, а также в соответствии с инструкцией, прилагаемой к препаратам.

#### 2.4. Безопасность

Добровольцев наблюдали в течение 30-45 минут после каждой иммунизации для мониторинга немедленных побочных реакций. Участникам были предоставлены дневники наблюдений, а также постоянно поддерживалась связь путем ежедневного телефонного опроса с регистрацией частоты развития местных и системных реакций в течение 14 дней после вакцинации. Местные реакции оценивались по частоте возникновения боли в месте введения, эритемы, экхимозов, уплотнения и отека. К системным реакциям были отнесены: озноб, недомогание, миалгия, артралгия, головная боль, тошнота, потливость, кашель и повышение температуры тела (температура в подмышечной области фебрильная  $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ , пиретическая  $\geq 39,0^{\circ}\text{C}$ ), а также использование анальгетиков или жаропонижающих препаратов. В зависимости от диаметра местные реакции расценивались как: «нет реакции» – от 1 до 10 мм, легкие – от 11 до 25 мм, умеренные – от 26 до 50 мм, а от 51 до 100 мм или  $> 100$  мм – тяжелые. Клиническое наблюдение проводилось за всеми здоровыми и пациентами с ОВИН с регистрацией необычных явлений с первого по 30-й день.

## 2.5. Юридические аспекты исследования

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. Исследование проводилось в соответствии с Национальным стандартным протоколом Российской Федерации ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» и международными стандартами GCP [125]. Исследование основано на этических принципах и рекомендациях ВОЗ и Минздрава России. Все пациенты подписали информированное согласие на участие.

## 2.6. Методы исследования

Лабораторная часть исследования осуществлялась в лаборатории механизмов регуляции иммунитета НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова в Москве. Забор образцов крови для анализа показателей иммунного ответа проводился в трех временных точках: непосредственно в день вакцинации до иммунизации, через 7 дней и через  $24 \pm 3$  дня после нее.

### 2.6.1. Исследование иммуногенности

Иммуногенность вакцин оценивали с помощью стандартной методики (МУ 3.3.2.1758–03) в реакции торможения гемагглютинации (РТГА), проводимой на образцах сыворотки, собранных до, через  $24 \pm 3$  дня и 3 месяца после вакцинации против гриппа, путем измерения титров антител к штаммам гриппа, входящих в состав вакцин. РТГА проводили с агглютинирующими единицами антигенов и 0,5 % куриными эритроцитами с предварительным нагреванием

исследуемых сывороток до 56° С в течение 1 часа (для удаления неспецифических ингибиторов и повышения чувствительности реакции). Первичный анализ оценки иммуногенности у пациентов с ОВИН проводили через  $24 \pm 3$  дня после введения препарата, а вторичный анализ – через 3 месяца только в группе больных, вакцинированных в сезон гриппа 2018-2019, в соответствии с протоколом, который был обоснован с медицинской точки зрения как потенциально влияющий на результаты иммуногенности.

Иммунологическая эффективность вакцинации против гриппа оценивалась по следующим критериям: уровень сероконверсии, серопротекции и фактор сероконверсии – в соответствии с критериями последней редакции Руководства по клинической оценке вакцин от 26 апреля 2018 года Комитета по лекарственным препаратам для человека (Committee on Human Medicinal Products – CHMP) для взрослых пациентов.

Уровень серопротекции – доля исследуемых с титром антител (АТ)  $\geq 1 : 40$  на 21-й день после вакцинации (референсные значения для здоровых – выше 70 %).

Уровень сероконверсии – доля исследуемых, у которых титр АТ на 21-й день после вакцинации повысился более, чем в 4 раза по сравнению с исходным уровнем при уровне АТ  $\geq 10$  или при довакцинальном титре АТ  $< 10$  до значений  $\geq 40$  (референсные значения для здоровых – выше 40 %).

Фактор сероконверсии (GMR) – кратность нарастания среднего геометрического значения титра антител (GMT) на 21-й день после вакцинации в сравнении с исходным (референсные значения для здоровых – более чем в 2,5 раза).

В зависимости от исходных титров антител здоровые добровольцы были разделены на две группы – серонегативные ( $\leq 1 : 20$ ) и серопозитивные ( $\geq 1 : 40$ ) к разным штаммам гриппа, входящим в состав четырехвалентной полимер-субъединичной (адьювантной) вакцины.

Однако, в соответствии с данными методическими рекомендациями Европейского агентства по лекарственным средствам от 2018 года по клинической оценке вакцин, помимо оценки иммуногенности вакцин по указанным выше трем критериям (средние геометрические титры АТ (GMT) и их соотношение до и после

вакцинации (GMR), уровень сероконверсии и серопротекции)), были впервые выделены еще четыре, в том числе, и по оценке клеточного и клеточно-опосредованного иммунитета, которые в меньшей степени проводятся в рутинной практике, а некоторые и вовсе недоступны:

- доля серонегативных и серопозитивных участников до и после вакцинации;
- поствакцинальные уровни серопротекции и сероконверсии отдельно для серопозитивных и серонегативных участников на исходном уровне;
- оценка клеточно-опосредованного компонента иммунного ответа (например, путем количественного определения Т-лимфоцитов, специфических для вакцинного антигена (ов) и / или антигенов, выделенных из микроорганизмов дикого типа, *in vitro* методом непосредственного включения меток или на основании высвобождения цитокинов);
- оценка клеточного иммунитета: количество и доля участников до и после вакцинации с сенсibilизированными (то есть антиген-специфическими) Т-лимфоцитами (включая сенсibilизированные CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты), представленными в зависимости от антигенных (ого) веществ (а), использованных (ого) для стимуляции, и цитокинов, обнаруженных в ходе анализа (ов).

Таким образом, впервые было проведено исследование иммуногенности четырехвалентной полимер-субъединичной (адьювантной) вакцины против гриппа (aTIV4) с оценкой поствакцинальных уровней серопротекции и сероконверсии отдельно для серопозитивных и серонегативных участников на исходном уровне.

## 2.6.2. Исследование клеточного иммунного ответа

### 2.6.2.1. Оценка субпопуляционной структуры лимфоцитов

Субпопуляционную структуру лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОВИН под воздействием вакцин против гриппа исследовали *in vitro* методом проточной цитометрии на приборе FC500 (Beckman Coulter, США) с использованием моноклональных антител (мАТ) к CD45-FITC/CD3-ECD/CD19-PE, CD45-FITC/CD3-ECD/CD4-PE, CD45-FITC/CD3-ECD/CD8-PE, CD45-FITC/CD3-ECD/CD16CD56-PE.

### 2.6.2.2. Оценка внутриклеточных Толл-подобных рецепторов иммунокомпетентных клеток

Содержание TLRs-экспрессирующих гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов периферической крови у пациентов с ОВИН под воздействием вакцин против гриппа исследовали *in vitro* методом проточной цитометрии с применением мАТ к TLR3-PE, TLR7-FITC, TLR8-FITC, TLR9-PE (e-Bioscience, США) с использованием проточного цитометра Cytomix FC-500 (Beckman Coulter, США) по методике, описанной в инструкции производителя.



## 2.7. Статистическая обработка данных

### 2.7.1. Обработка данных по антителам

Проверка нормальности распределения признаков проводилась критерием Шапиро-Уилкса (Shapiro-Wilk normality test). В результате были выявлены значительные отклонения распределения признаков от нормального. Описательная статистика уровня АТ представлена средним геометрическим титром и его 95 % доверительным интервалом (GMT, 95 % CI). Также было рассчитано геометрическое среднее кратное увеличение по сравнению с исходным уровнем (фактор сероконверсии) и его 95 % доверительный интервал (GMR, 95 % CI).

Анализ динамики признаков и сравнение между группами исследования проводился с помощью построения робастной линейной модель смешанных эффектов (RLMEM) [126]. Статистическая значимость коэффициентов модели была определена с использованием аппроксимации степеней свободы Саттертуэйта [127]. Апостериорные сравнения (между группами в контрольных точках и между контрольными точками для каждой группы) проводились с помощью построения соответствующих контрастов на основе рассчитанной модели с помощью пакета emmeans [128]. Построение модели проводилось на преобразованных исходных данных, применялась логарифмическая трансформация [129]. При сравнении формирования поствакцинального иммунитета после первичной вакцинации одной и двумя дозами в качестве фиксированных факторов были определены время после введения вакцинного препарата ( $24 \pm 3$  дня) и одна или две дозы вакцины, отдельные пациенты были заданы как случайные факторы. При сравнении формирования поствакцинального иммунитета после первичной и после повторной вакцинации одной дозой препарата в качестве фиксированных факторов были определены время после введения вакцинного препарата ( $24 \pm 3$  дня) и этап вакцинации

(первичная / повторная), отдельные пациенты (учитывался связанный характер выборок как во времени, так и этапами вакцинации) были заданы как случайные факторы.

Сравнение фактора сероконверсии между группами исследования проводилось с помощью критерия Манна-Уитни в случае несвязанных выборок (одна и две дозы вакцины) и с помощью парного критерия Вилкоксона в случае связанных выборок (первичная и повторная вакцинация одной дозой).

Для качественных признаков находили абсолютные и относительные (в %) частоты, для относительных показателей рассчитывался 95 % доверительный интервал, рассчитанный по методу Вилсона. Сравнения двух групп по качественным номинальным показателям проводили в ходе анализа таблиц сопряжённости точным критерием Фишера. Для связанных выборок (до – после вакцинации) применялся точный тест Мак-Немара [130]. В случае более двух измерений применялся омнибусный тест Q Кохонена с последующим проведением апостериорных сравнений точным тестом Мак-Немара.

Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ , незначимыми – при  $p \geq 0,10$ , в промежуточных случаях ( $0,05 < p < 0,1$ ) обсуждали тенденции к различиям [131]. Расчёты и графические построения производились с использованием программы GraphPad Prism (v.9.3.0 лицензия GPS-1963924) и статистической среды R (v.3.6, лицензия GNU GPL2).

### 2.7.2. Обработка результатов оценки клеточного звена иммунитета (CD и TLR)

Проверка нормальности распределения признаков проводилась критерием Шапиро-Уилкса (Shapiro-Wilk normality test). В результате были выявлены значительные отклонения распределения признаков от нормального. Для показателей клеточного звена формирования поствакцинального иммунитета (абсолютного и относительного количественного клеток) приведены медианы,

интерквартильный размах и 95 % доверительный интервал для медианы. Дельта изменений процентного и абсолютного числа клеток рассчитывалась как разница между значениями после и до вакцинации, описательная статистика представлена медианой и её 95 % доверительным интервалом.

Анализ динамики признаков и сравнение между группами исследования проводился с помощью построения робастной линейной модель смешанных эффектов (RLMEM) [126]. Статистическая значимость коэффициентов модели была определена с использованием аппроксимации степеней свободы Саттертуэйта [127]. Апостериорные сравнения (между группами в контрольных точках и между контрольными точками для каждой группы) проводились с помощью построения соответствующих контрастов на основе рассчитанной модели с помощью пакета emmeans [128]. Построение модели проводилось на преобразованных исходных данных, применялось арксинусное преобразование (для процентного содержания клеток) и логарифмическая трансформация (для абсолютного числа клеток) [132]. При сравнении формирования поствакцинального иммунитета после первичной вакцинации одной и двумя дозами в качестве фиксированных факторов были определены время после введения вакцинного препарата ( $24 \pm 3$  дня) и одна или две дозы вакцины, отдельные пациенты были заданы как случайные факторы. При сравнении формирования поствакцинального иммунитета после первичной и после повторной вакцинации одной дозой препарата в качестве фиксированных факторов были определены время после введения вакцинного препарата ( $24 \pm 3$  дня) и этап вакцинации (первичная / повторная), отдельные пациенты (учитывался связанный характер выборок как во времени, так и этапами вакцинации) были заданы как случайные факторы.

Сравнение дельты изменений числа клеток между группами исследования проводилось с помощью критерия Манна-Уитни в случае несвязанных выборок (одна и две дозы вакцины) и с помощью парного критерия Вилкоксона в случае связанных выборок (первичная и повторная вакцинация одной дозой).

Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ , незначимыми – при  $p \geq 0,10$ , в промежуточных случаях ( $0,05 < p < 0,1$ ) обсуждали тенденции к различиям [131]. Расчёты и графические построения производились с использованием программы GraphPad Prism (v.9.3.0 лицензия GPS-1963924) и статистической среды R (v.3.6, лицензия GNU GPL2).

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 3.1. Клиническая оценка течения поствакцинального периода у пациентов с ОВИН и здоровых при введении 3- и 4-валентных полимер-субъединичных (адьювантных) препаратов

Все участники завершили исследование без развития серьезных поствакцинальных реакций вне зависимости от примененного препарата так же, как и схемы введения. Среди 32 здоровых добровольцев, которым вводилась квадριвалентная вакцина против гриппа, местные реакции были зарегистрированы у 9 % (3 человека) и характеризовались локальной умеренной гиперемией, сохранявшейся в течение двух суток. Системная реакция – недомогание – наблюдалась у 3 % (1 человек) через 3 часа после вакцинации и сохранялась в течение суток. Наблюдаемые поствакцинальные явления не требовали назначения каких-либо лекарственных средств. В течение года, следующего за проведением вакцинации, проводился анализ возникновения гриппа в исследуемой группе пациентов, а также сбор информации о болезни контактных лиц.

В ходе исследования по наблюдению за течением поствакцинального периода у пациентов с ОВИН (15 пациентов), вакцинированных против гриппа с использованием четырех- или трехвалентных вакцин как при первичной, так и при повторной (через 1 год) вакцинации одной или двумя одновременно дозами, лишь у 6 % (1 пациент) местные реакции в виде умеренной гиперемии (диаметром до 50 мм) и локального отека появились через 2 часа после инъекции и сохранялись в течение трех суток после вакцинации. Только одна (6 %) системная реакция (озноб) была зарегистрирована в день вакцинации без последующего повышения температуры и регрессировала через 12 часов. Следует отметить, что, несмотря на длительный период без проведения базисной терапии ВВИГ в течение 7 недель в связи с проведением вакцинации, ни одному из больных ОВИН не потребовалось

его срочное введение до окончания вышеуказанного срока в связи с отсутствием обострения сопутствующей хронической патологии так же, как и присоединение ОРИ.

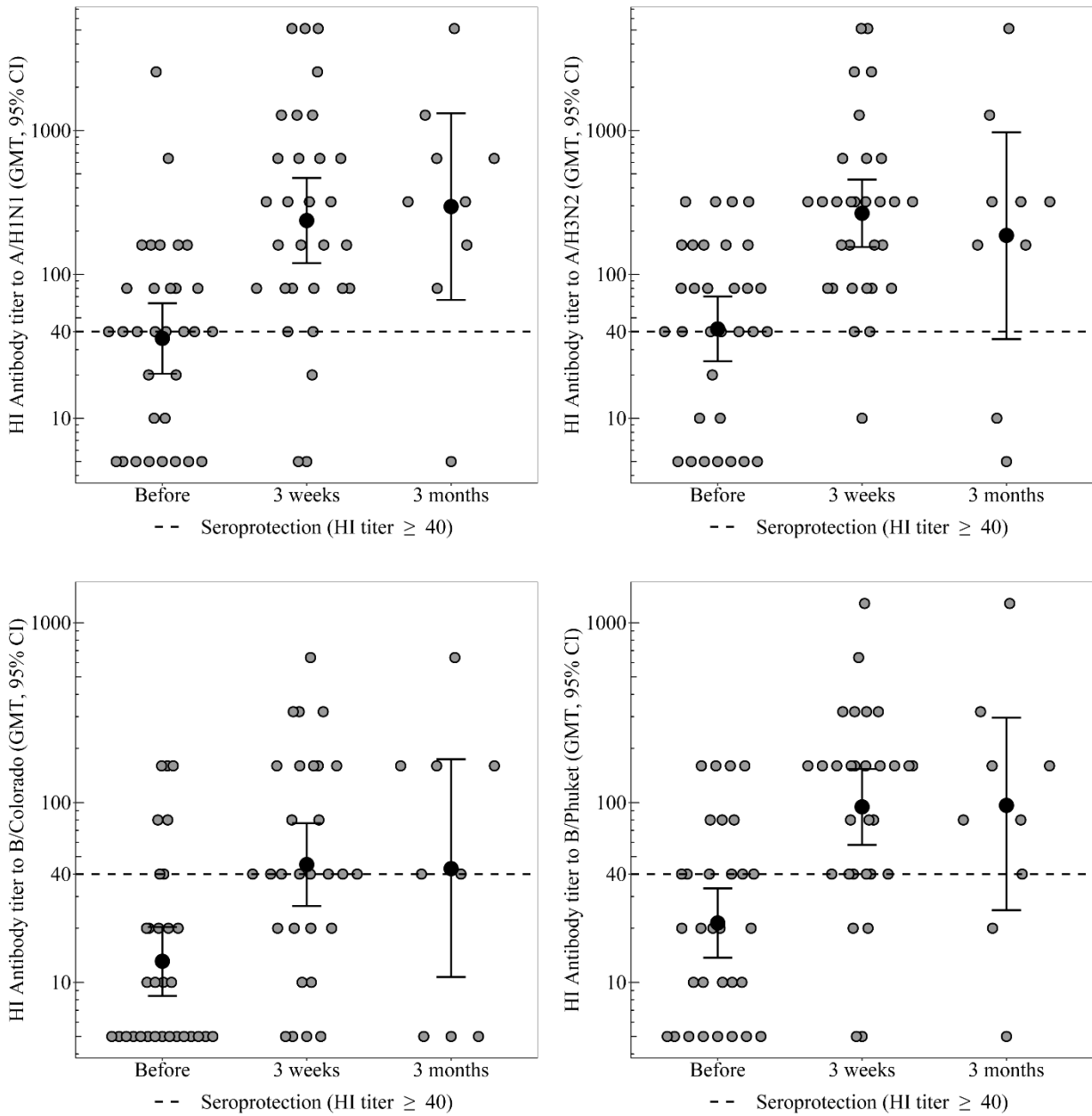
Также из 9 пациентов с ОВИН, вакцинированных одновременно двумя дозами вакцины, 2 пациента (22 %) и одна пациентка (16 %) из 6 больных, вакцинированных одной дозой препарата, отметили в течение 1-2 месяцев после иммунизации значительное улучшение состояния, усиление активности, а также то, что при контакте с членами семей, проживавшими с ними на одной территории и заболевшими лабораторно подтвержденным вирусом гриппа, не отметили у себя симптомов заболевания.

### 3.2. Изучение иммуногенности полимер-субъединичных вакцин против гриппа у пациентов с ОВИН и здоровых

#### 3.2.1. Исследование показателей иммуногенности вакцины против гриппа у здоровых

У здоровых пациентов, иммунизированных четырехвалентной адъювантной вакциной со сниженным количеством антигенов против всех четырех штамм-специфических поверхностных антигенов до 5 мкг, вакцина доказала свою иммуногенность по таким критериям, как уровень серопротекции ( $\geq 70\%$ ), сероконверсии ( $\geq 40\%$ ), фактор сероконверсии ( $\geq 2,5$ ) как спустя  $24 \pm 3$  дня после вакцинации, так и через 3 месяца (рисунок 1), что проводилось на первом году проводимого исследования для оценки динамики формирования гуморального иммунитета у пациентов с ОВИН ( $n = 6$ ), вакцинированных одной дозой четырехвалентной субъединичной адъювантной вакцины. Учитывая ограниченное число (6) пациентов с ОВИН, сначала приведена оценка иммуногенности

четырёхвалентной адьювантной вакцины в группе здоровых, далее индивидуально по каждому больному.



1.2.

Рисунок 1 – Уровень антител и кратность нарастания среднего геометрического титра антител (95 % ДИ) в группе здоровых добровольцев до, через  $24 \pm 3$  дня и через 3 месяца после иммунизации четырехвалентной адьювантной субъединичной вакциной

В таблице 1 представлен уровень серопротекции ( $HI \geq 40$  должна составлять  $> 70\%$ ) через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 в группе здоровых исследуемых с учетом изначального уровня АТ (рисунок 2).

Таблица 1 – Уровни серопротекции к штаммам вируса гриппа с учетом изначального уровня АТ через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 у здоровых

Штамм вируса	Период	Изначально серонегативные			Изначально серопозитивные			Между группами <sup>1</sup>
		Абс.	%	95 %ДИ	Абс.	%	95 %ДИ	
А/Н1N1	До вакцинации	0/12	0	[0-26]	20/20	100	[83-100]	<b>p &lt; 0,001</b>
	Через 24±3 дня	7/10	70	[35-93]	20/20	100	[83-100]	<b>p = 0,03</b>
Анализ динамики <sup>2</sup>		<b>p = 0,02</b>			p = 1,00			–
А/Н3N2	До вакцинации	0/10	0	[0-31]	22/22	100	[85-100]	<b>p &lt; 0,001</b>
	Через 24±3 дня	10/10	100	[69-100]	19/20	95	[75-100]	p = 1,00
Анализ динамики		<b>p = 0,002</b>			p = 1,00			–
В/Колорадо	До вакцинации	0/24	0	[0-14]	7/7	100	[59-100]	<b>p &lt; 0,001</b>
	Через 24±3 дня	12/22	54	[32-76]	7/7	100	[59-100]	<b>p = 0,03</b>
Анализ динамики		<b>p &lt; 0,001</b>			p = 1,00			–
В/Пхукет	До вакцинации	0/18	0	[0-19]	13/13	100	[75-100]	<b>p &lt; 0,001</b>
	Через 24±3 дня	12/16	72	[48-93]	13/13	100	[75-100]	p = 0,08
Анализ динамики		<b>p &lt; 0,001</b>			p = 1,00			–

<sup>1</sup> – применялся критерий Хи-квадрат, в случае наличия в таблице ячеек с ожидаемыми частотами менее 5 % применялся точный критерий Фишера;  
<sup>2</sup> – применялся критерий Мак-Немара



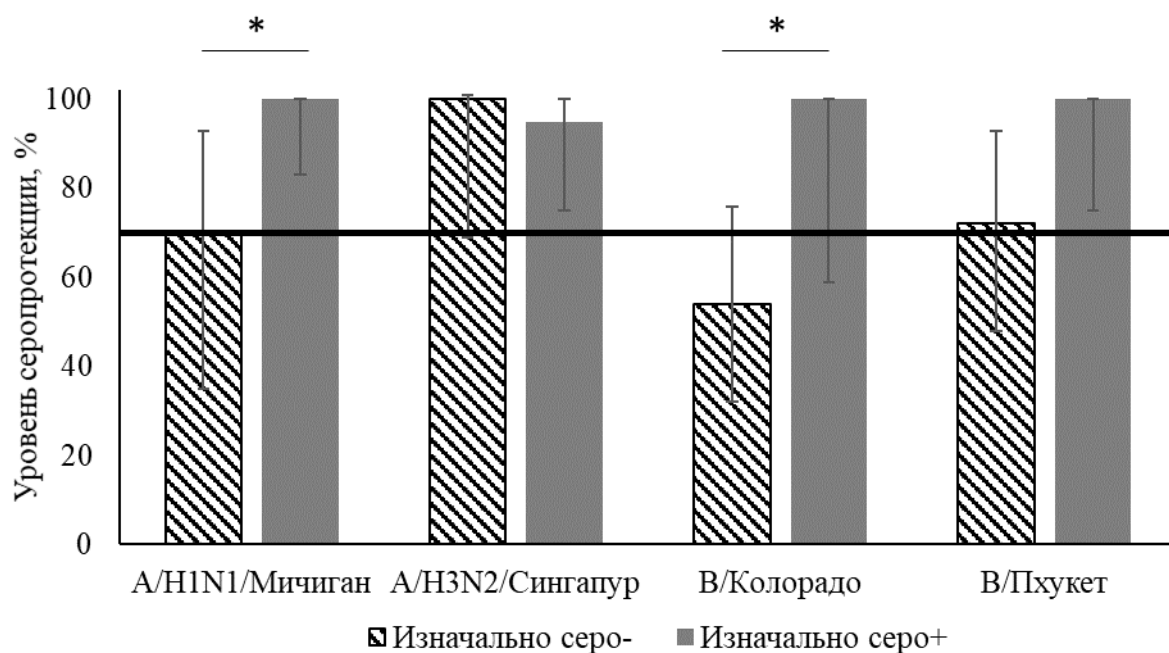


Рисунок 2 – Уровень серопротекции к штаммам вируса гриппа с учетом изначального уровня АТ через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 у здоровых

До вакцинации в группе изначально серопозитивных участников уровень серопротекции был 100 % ко всем рассматриваемым штаммам. В поствакцинальном периоде он практически не менялся, оставаясь на уровне 95-100 %. В группе изначально серонегативных исследуемых уровень серопротекции до вакцинации составил 0 % ко всем штаммам. Через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации отмечается статистически значимый прирост уровня серопротекции до 70 % к штамму А/Н1N1, 100 % к штамму А/Н3N2, 54 % к штамму В/Колорадо и 75 % к штамму В/Пхукет.

В таблице 2 представлен уровень сероконверсии (критерий сероконверсии > 40 % с 4-х кратным нарастанием титров АТ против исходного) в группе здоровых исследуемых с учетом изначального уровня АТ (рисунок 3).

Таблица 2 – Уровень сероконверсии к штаммам вируса гриппа с учетом изначального уровня АТ через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 у здоровых

Группы сравнения		Штаммы вируса			
		А/Н1N1	А/Н3N2	В/Колорадо	В/Пхукет
Изначально серонегативные	Абс.	7/10	10/10	10/22	10/16
	%	70	100	46	63
	95 % ДИ	[35-93]	[69-100]	[24-68]	[35-85]
Изначально серопозитивные	Абс.	8/20	8/20	3/7	5/13
	%	40	40	43	39
	95 % ДИ	[19-64]	[19-64]	[10-82]	[14-68]
Сравнение между группами <sup>1</sup>		$p = 0,12$	<b><math>p = 0,002</math></b>	$p = 1,00$	$p = 0,20$

<sup>1</sup> – применялся критерий Хи-квадрат, в случае наличия в таблице ячеек с ожидаемыми частотами менее 5 % применялся точный критерий Фишера

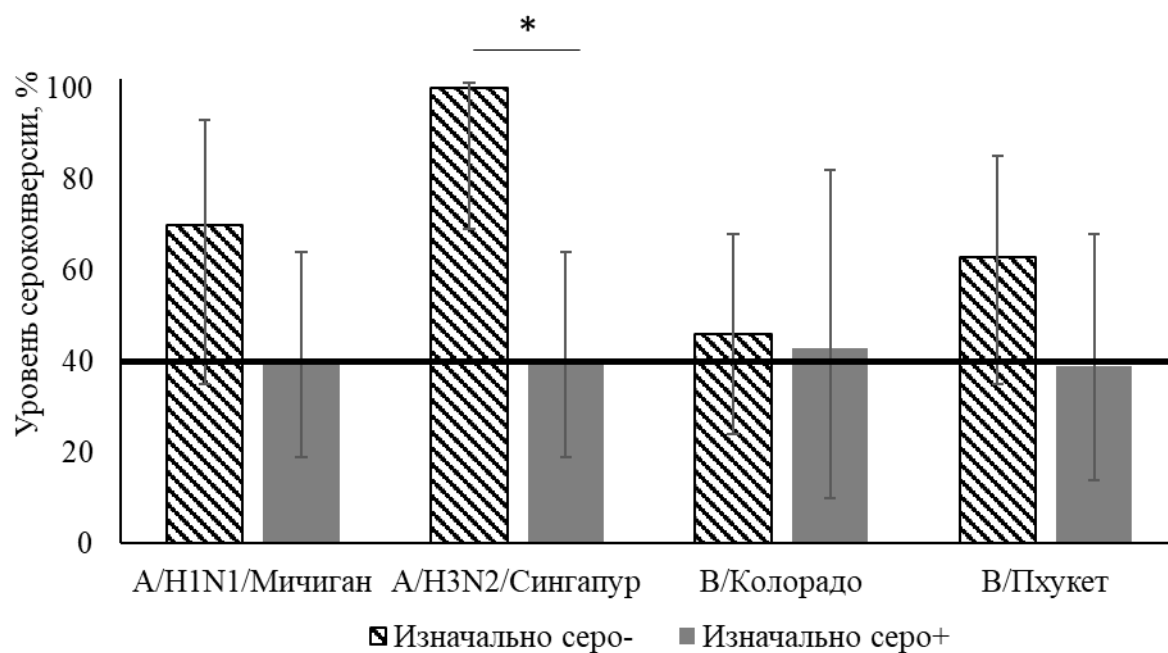


Рисунок 3 – Уровень сероконверсии к штаммам вируса гриппа с учетом изначального уровня АТ через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 у здоровых

В группе здоровых добровольцев, изначально серонегативных, уровень сероконверсии соответствует критерию эффективности по всем рассматриваемым штаммам и составляет: 70 % к штамму А/Н1N1, 100 % к штамму А/Н3N2, 46 % к штамму В/Колорадо и 63 % к штамму В/Пхукет. В группе изначально серопозитивных пациентов уровень сероконверсии через  $24 \pm 3$  дня после иммунизации составил 40 % к штамму А/Н1N1, также 40 % к штамму А/Н3N2, 43 % к штамму В/Колорадо и 39 % к штамму В/Пхукет.

В таблице 3 представлен фактор сероконверсии (критерий GMR до и после вакцинации должен быть  $> 2,5$ ) в группе здоровых исследуемых с учетом изначального уровня АТ (рисунок 4).

Таблица 3 – Фактор сероконверсии к штаммам вируса гриппа с учетом изначального уровня АТ через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 у здоровых

Группы сравнения		Штаммы вируса			
		А/Н1N1	А/Н3N2	В/Колорадо	В/Пхукет
Изначально серонегативные	GMR	9,8	34,3	3,8	5,9
	95 % ДИ	[2,5-38,5]	[11,6-101,3]	[2,4-5,8]	[3,3-10,6]
Изначально серопозитивные	GMR	4,8	2,8	2,5	2,8
	95 % ДИ	[2,4-9,6]	[1,4-5,6]	[1,5-4,0]	[1,6-4,8]
Сравнение между группами <sup>1</sup>		0,30	<b>&lt; 0,001</b>	0,31	<b>0,05</b>
<sup>1</sup> – применялся критерий Манна-Уитни					

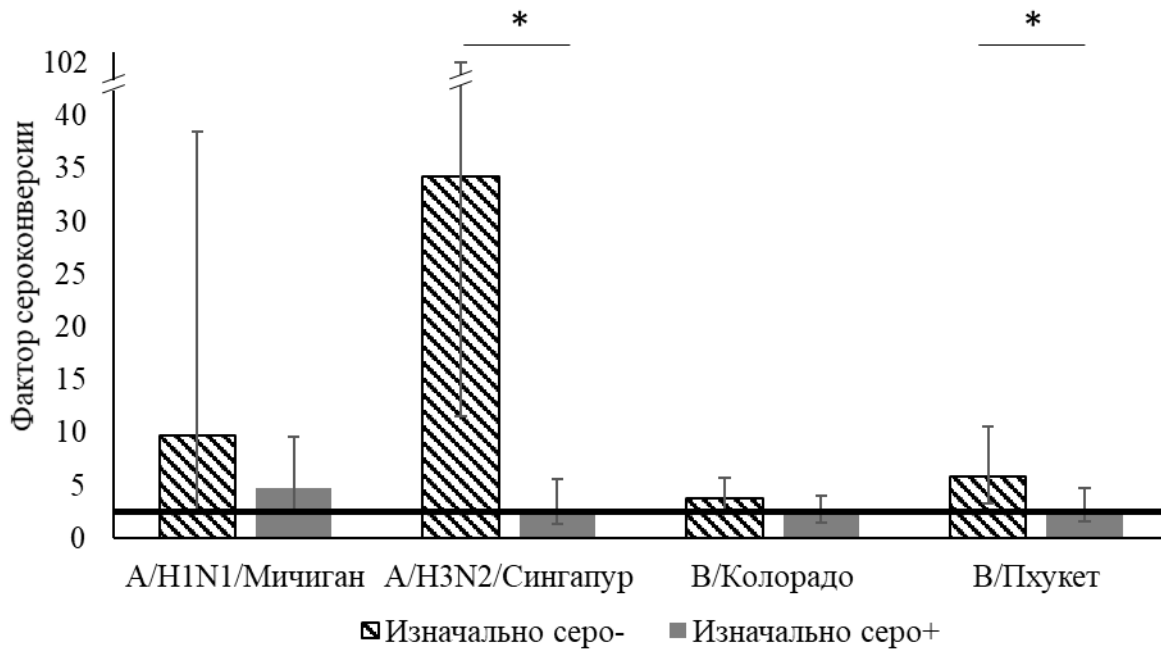


Рисунок 4 – Фактор сероконверсии к штаммам вируса гриппа с учетом изначального уровня АТ через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 у здоровых

В группе здоровых, изначально являющихся серонегативными, через  $24 \pm 3$  дня фактор сероконверсии составил для штаммов А/Н1N1, А/Н3N2, В/Колорадо, В/Пхукет соответственно 9,8; 34,3; 3,8; 5,9, а для исходно серопозитивных лиц в те же сроки исследования он составил 4,8; 2,8; 2,5 и 2,8, соответственно.

В таблице 4 представлены средние геометрические концентрации титров АТ (СГТ) в группе здоровых исследуемых с учетом изначального уровня АТ (рисунок 5).

Таблица 4 – Средние геометрические концентрации титров АТ (СГТ) к штаммам вируса гриппа с учетом изначального уровня АТ через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 у здоровых

Штамм	Период	Изначально серонегативные		Изначально серопозитивные		Между группами <sup>1</sup>
		СГТ	95 % ДИ	СГТ	95 % ДИ	
А/Н1N1	До вакцинации	7,1	[5,0-10,0]	95,1	[57,5-157,4]	$p < 0,001$
	Через $24 \pm 3$ дня	65,0	[16,0-264,4]	452,5	[235,5-869,5]	$p = 0,004$
	Анализ динамики <sup>2 3</sup>	<b><math>p = 0,004</math></b>		<b><math>p &lt; 0,001</math></b>		–
А/Н3N2	До вакцинации	6,6	[4,7-9,3]	96,6	[68,5-136,4]	$p < 0,001$
	Через $24 \pm 3$ дня	226,3	[75,1-681,5]	288,4	[147,9-562,4]	$p = 0,67$
	Анализ динамики	<b><math>p &lt; 0,001</math></b>		<b><math>p = 0,005</math></b>		–
В/Колорадо	До вакцинации	7,5	[5,9-9,6]	88,3	[49,6-157,3]	$p < 0,001$
	Через $24 \pm 3$ дня	27,4	[16,3-46,1]	214,9	[115,6-403,4]	$p < 0,001$
	Анализ динамики	<b><math>p &lt; 0,001</math></b>		<b><math>p = 0,004</math></b>		–
В/Пхукет	До вакцинации	8,9	[6,6-12,0]	71,9	[49,4-104,8]	$p < 0,001$
	Через $24 \pm 3$ дня	51,9	[26,5-101,6]	198,0	[117,3-334,4]	$p = 0,003$
	Анализ динамики	<b><math>p &lt; 0,001</math></b>		<b><math>p = 0,002</math></b>		–

<sup>1</sup> – применялся критерий Стьюдента;  
<sup>2</sup> – применялся критерий Стьюдента для парных выборок;  
<sup>3</sup> – все критерии рассчитывались на прологарифмированных исходных данных

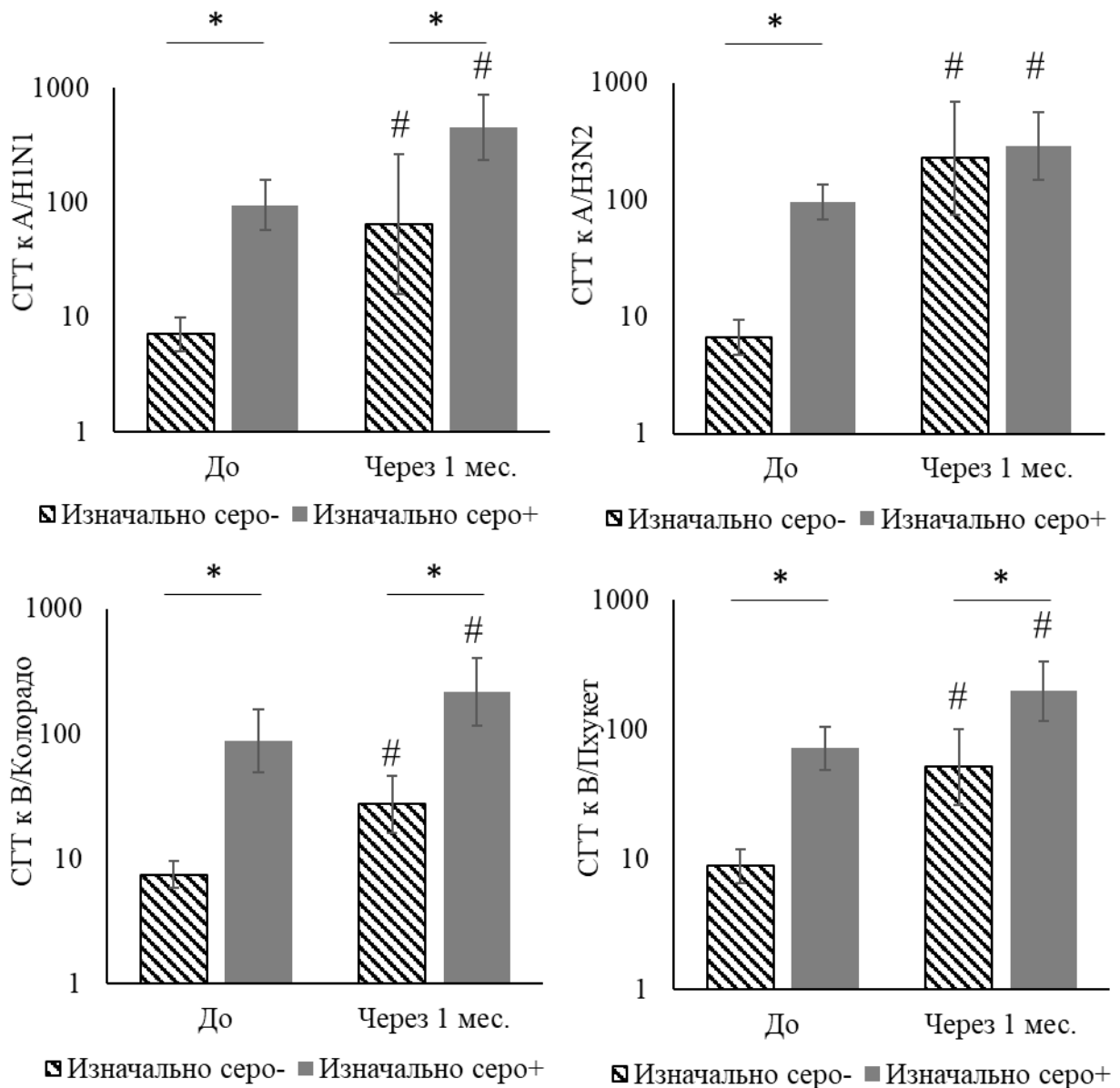


Рисунок 5 – Средние геометрические концентрации титров АТ (СГТ) к штаммам вируса гриппа с учетом изначального уровня АТ через  $24 \pm 3$  дня после введения аТIV4 у здоровых

В поствакцинальном периоде у здоровых добровольцев, относящихся к серонегативным, через  $24 \pm 3$  дня СГТ АТ к штаммам вируса гриппа достоверно повышалась против исходного до 65,0; 226,3; 27,4 и 51,9, соответственно, для штаммов А/Н1N1, А/Н3N2, В/Колорадо, В/Пхукет, а у серопозитивных лиц к исследуемым разновидностям линий вируса гриппа также отмечено значимое увеличение СГТ АТ до 452,5; 288,4; 214,9 и 198,0, соответственно.

Индивидуальный анализ содержания антител к различным штаммам вируса гриппа показал, что 2 из 6 пациентов с ОВИН исходно были серопозитивны, у одного выявлялись титры АТ 1 : 40 к штаммам А/Н1N1, А/Н3N2, а у другого, к этим же штаммам, 1 : 80 (таблица 5). Остальные 4 пациента были серонегативными ко всем 4 вакцинным штаммам вируса гриппа. В поствакцинальном периоде через  $24 \pm 3$  дня дополнительно один пациент становится серопозитивным (1 : 80) к штамму А/Н3N2.

Спустя 3 месяца число серопозитивных увеличилось еще на одного человека к штаммам А/Н1N1, А/Н3N2, титр АТ равен 1 : 40. Выявлена тенденция к росту титров АТ через 3 месяца к штамму А/Н3N2 с 1 : 5 до 1 : 20, у 3 пациентов к штамму В/Колорадо: с 1 : 5 до 1 : 20; с 1 : 5 до 1 : 10; с 1 : 10 до 1 : 20. К штамму В/Пхукет лишь в одном случае выявлен прирост АТ с 1 : 5 до 1 : 10.

### 3.2.2. Оценка критериев иммуногенности четырехвалентной адьювантной вакцины против гриппа у пациентов с ОВИН, иммунизированных одной дозой

На основании индивидуального анализа титра специфических антител у каждого пациента с ОВИН, вакцинированных одной дозой четырехвалентной субъединичной адьювантной вакцины против гриппа, в течение трех месяцев можно отметить, что у 3 из 6 пациентов отмечалось увеличение титра антител более чем в 2 раза к линии гриппа В/Victoria (более того, у одного пациента титр антител возрос в 4 раза) через 3 месяца после вакцинации, чего не наблюдалось при анализе крови через 3 недели. Однако, защитный титр антител  $\geq 1 : 40$  к штаммам двух линий (Yamagata и Victoria) не был достигнут в целом и составлял не более 1 : 20. Следует отметить, что для пациентов с ОВИН условным показателем эффективности вакцинации является повышение поствакцинального уровня антител в 2-4 раза по сравнению с уровнем до вакцинации.

Что касается уровня антител к А/Н3N2, то у 3 пациентов отмечалось повышение титра антител до 1 : 20, 1 : 40 и 1 : 80 (в 2, 4 и 8 раз, соответственно); они также были обнаружены в двух из шести проб крови через 3 месяца и одной из шести – через 3 недели после иммунизации. Для штамма А/Н1N1 только у одного пациента в поствакцинальном периоде отмечалось увеличение титра антител в 2 раза через 3 месяца по сравнению с исходным (1 : 20) и достигало защитного уровня (1 : 40).

Таблица 5 – Индивидуальные значения уровня антител уровня и фактора сероконверсии в группе пациентов с ОВИН, вакцинированных одной дозой четырехвалентной адъювантной субъединичной вакцины

Штамм	Пациент	Индивидуальные значения титра антител			Соотношение титра антител (3 недели)
		До	24 ± 3 дня после вакцинации	3 месяца после вакцинации	
А/Н1N1	1	20	10	10	0,5
	2	20	20	20	1
	3	40	40	40	1
	4	20	20	20	1
	5	20	20	40	1
	6	80	40	40	0,5
Уровень сероконверсии (24 ± 3 дня): 0 %, 95 % CI = [0 %-46 %], p = 0,03 – в сравнении со здоровыми <sup>1</sup>					
GMR (3 недели): 0,8, 95 % CI = [0,5-1,2], p < 0,001 – в сравнении со здоровыми <sup>2</sup>					
А/Н3N2	1	10	5	5	0,5
	2	5	5	20	1
	3	40	40	40	1
	4	10	80	40	8
	5	20	20	40	1
	6	80	80	40	1
Уровень сероконверсии (24 ± 3 дня): 17 %, 95 % CI = [0 %-64 %], p = 0,05 – в сравнении со здоровыми					
GMR (3 недели): 1,3, 95 % CI = [0,5-3,4], p = 0,014 – в сравнении со здоровыми					



Продолжение Таблицы 5

В/Колорадо	1	5	5	5	1
	2	5	5	5	1
	3	10	10	20	1
	4	5	10	20	2
	5	5	5	10	1
	6	20	10	10	0,5
Уровень сероконверсии ( $24 \pm 3$ дня): 0 %, 95 % CI = [0 %-46 %], $p = 0,04$ – в сравнении со здоровыми					
GMR (3 недели): 1,0, 95 % CI = [0,6-1,6], $p = 0,002$ – в сравнении со здоровыми					
В/Пхукет	1	10	5	5	0,5
	2	10	10	10	1
	3	20	10	10	0,5
	4	5	5	10	1
	5	10	10	10	1
	6	20	20	20	1
Уровень сероконверсии ( $24 \pm 3$ дня): 0 %, 95 % CI = [0 %-46 %], $p = 0,03$ – в сравнении со здоровыми					
GMR (3 недели): 0,8, 95 % CI = [0,5-1,2], $p < 0,001$ – в сравнении со здоровыми					
<sup>1</sup> – применялся точный критерий Фишера;					
<sup>2</sup> – применялся критерий Манна-Уитни					

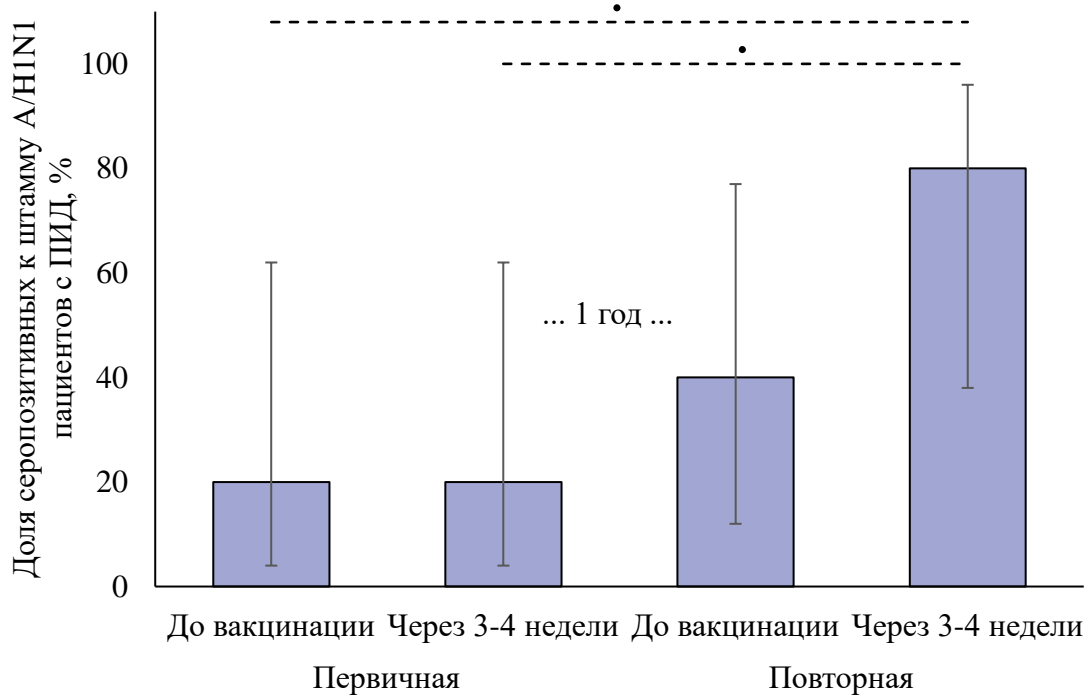
### 3.2.3. Оценка критериев иммуногенности четырехвалентной адьювантной вакцины против гриппа у пациентов с ОВИН, иммунизированных одной дозой первично и повторно через год

В таблице 6 приведен уровень серопротекции (доли пациентов с  $AT \geq 40$ ) в группе пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины первично и повторно через год после первой вакцинации.

Таблица 6 – Уровень серопротекции (доля пациентов с  $AT \geq 40$ ) в группе пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации ( $n = 5$ )

Этап вакцинации	Контрольные точки	Уровень серопротекции в контрольных точках		
		Абс.	%	95 % ДИ
<i>Штамм A/H1N1</i>				
Первичная	До вакцинации (точка 1)	1	20	[4; 62]
	Через $24 \pm 3$ дня (точка 2)	1	20	[4; 62]
Повторная	До ревакцинации (точка 3) *	2	40	[12; 77]
	Через $24 \pm 3$ дня (точка 4)	4	80	[38; 96]
Общий тест изменений <sup>1</sup> : $p = 0,07$ , между точками: $p^{1-2} = 1,00$ , $p^{2-3} = 0,32$ , $p^{3-4} = 0,16$ , $p^{1-3} = 0,56$ , $p^{1-4} = 0,08$ , $p^{2-4} = 0,08$				
<i>Штамм A/H3N2</i>				
Первичная	До вакцинации (точка 1)	1	20	[4; 62]
	Через $24 \pm 3$ дня (точка 2)	2	40	[12; 77]
Повторная	До ревакцинации (точка 3)	2	40	[12; 77]
	Через $24 \pm 3$ дня (точка 4)	2	40	[12; 77]
Общий тест изменений <sup>2</sup> : $p = 0,73$				
<i>Штамм B/Колорадо</i>				
Первичная	До вакцинации (точка 1)	0	0	[0; 43]
	Через $24 \pm 3$ дня (точка 2)	0	0	[0; 43]
Повторная	До ревакцинации (точка 3)	0	0	[0; 43]
	Через $24 \pm 3$ дня (точка 4)	0	0	[0; 43]
Общий тест изменений <sup>2</sup> : $p = 1,00$				
<i>Штамм B/Пхукет</i>				
Первичная	До вакцинации (точка 1)	0	0	[0; 43]
	Через $24 \pm 3$ дня (точка 2)	0	0	[0; 43]
Повторная	До ревакцинации (точка 3)	0	0	[0; 43]
	Через $24 \pm 3$ дня (точка 4)	0	0	[0; 43]
Общий тест изменений <sup>2</sup> : $p = 1,00$				
* через год после первичной вакцинации <sup>1</sup> – применялся критерий Q Кохонена, апостериорные сравнения (между отдельными контрольными точками) проводились точным тестом Мак-Немара, где $p^{1-2}$ – сравнение между исходным уровнем и после первичной вакцинации, $p^{2-3}$ – между уровнем после первичной вакцинации и через год после неё, $p^{3-4}$ – между уровнем до повторной вакцинации (через год после первичной) и после неё, $p^{1-3}$ – между исходным уровнем и через год после первичной вакцинации, $p^{1-4}$ – между исходным уровнем и через $24 \pm 3$ дня после повторной вакцинации, $p^{2-4}$ – между уровнем после первичной вакцинации и после повторной вакцинации				

Анализ динамики уровня серопротекции к штамму А/Н1N1 на разных этапах вакцинации выявил наличие изменений на пограничном уровне статистической значимости ( $p = 0,07$ ). В частности, через  $24 \pm 3$  дня после повторной вакцинации по сравнению с исходным уровнем (до первичной вакцинации) доля серопозитивных пациентов выросла с 20 [4;62] % до 80 [38;96] % ( $p = 0,08$ ) (рисунок 6). Уровень серопротекции к остальным штаммам оставался без изменений на всем периоде исследования.



\* – различия на пограничном уровне значимости  $p < 0,10$ , применялся точный критерий Мак-Немара

Рисунок 6 – Доля серопозитивных к штамму А/Н1N1 пациентов с ПИД на различных этапах вакцинации (приведены процентные значения и 95 % доверительный интервал)

Анализ уровня сероконверсии (доли пациентов с увеличением титра АТ в 4 раза и более) показал, что в результате первичной вакцинации 4-кратный и более прирост АТ был зафиксирован только у одного пациента (с 20 до 80 к штамму А/Н3N2). После повторной вакцинации относительно уровня до ревакцинации (через год после первичной вакцинации) ни у одного пациента не было зарегистрировано 4-кратного увеличения АТ, относительно исходного уровня (до первичной вакцинации) только у одного участника исследования наблюдалось 4-кратное увеличение уровня АТ (с 20 до 80 к штаммам А/Н1N1 и А/Н3N2 у одного и того же пациента).

В таблице 7 приведены средние геометрические титры АТ (GMT) в контрольных точках исследования (до первичной и повторной вакцинации и через  $24 \pm 3$  дня после) в группах пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины. Там же приведены результаты построения линейных моделей смешанных эффектов (RLMEM) зависимости уровня АТ от этапа вакцинации (первично/повторно) и времени после введения вакцинного препарата отдельно для каждого штамма.

Выявлено статистически значимое разнонаправленное изменение уровня АТ в зависимости от этапа вакцинации (первичная/повторная) к штамму А/Н1N1 ( $t = 2,5$ ,  $p = 0,05$ ,  $df = 13$ ) (рисунок 7). Если через  $24 \pm 3$  дня после первичной вакцинации уровень АТ остаётся без значительных изменений, то после повторной вакцинации отмечается статистически значимый прирост уровня АТ до 34,8 [8,47; 143,2] по сравнению с уровнем до ревакцинации ( $p = 0,05$ , проводилась через год после первичной вакцинации) и с уровнем после первичной вакцинации ( $p = 0,02$ ).

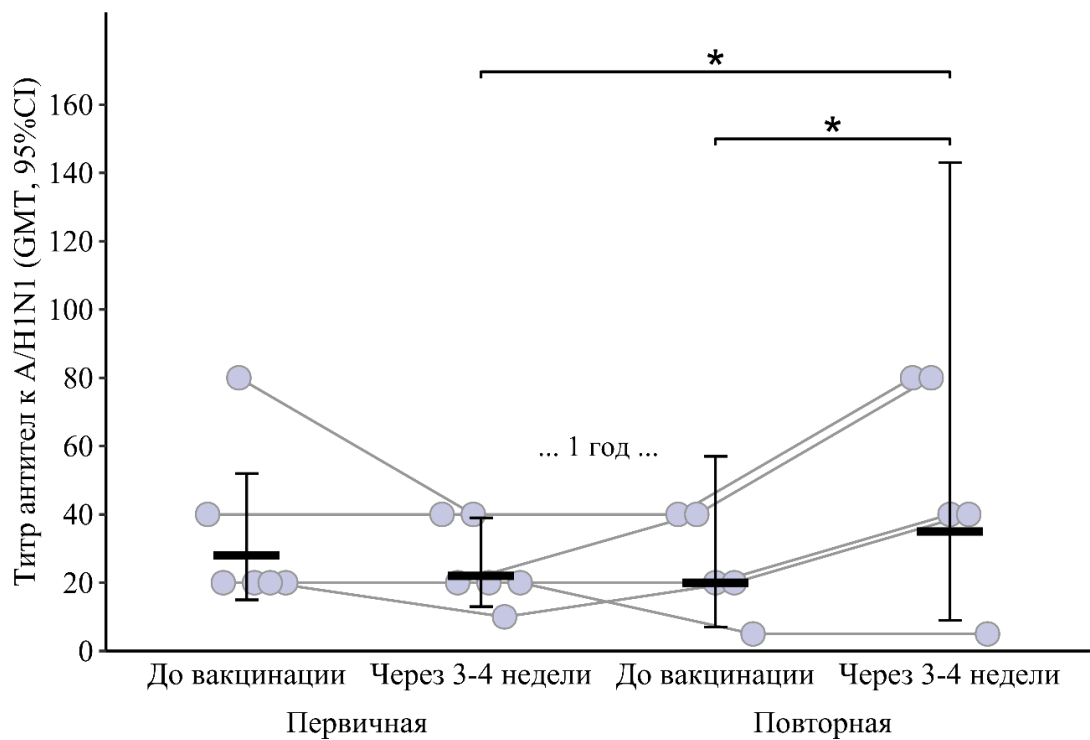
Таблица 7 – Средний геометрический титр АТ (GMT) в группе пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации (n = 6 при первичной, n = 5 при повторной)

Этап вакцинации	Контрольные точки	Титр АТ в контрольных точках	
		GMT	95 % ДИ
<i>Штамм А/Н1N1</i>			
Первичная	До вакцинации (точка 1)	28	[15; 52]
	Через 24 ± 3 дня (точка 2)	22	[13; 39]
Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3) *	20	[7; 57]
	Через 24 ± 3 дня (точка 4)	35	[9; 143]
RLMER: Этап: $t(13) = -0,5$ , $p = 0,65$ , Время: $t(13) = -1,6$ , $p = 0,14$ , Этап×Время: $t(13) = 2,5$ , $p = 0,05$ Между точками: $p^{1-2} = 0,47$ , $p^{2-3} = 0,83$ , $p^{3-4} = 0,05$ , $p^{1-3} = 0,64$ , $p^{1-4} = 0,12$ , $p^{2-4} = 0,02$			
<i>Штамм А/Н3N2</i>			
Первичная	До вакцинации (точка 1)	18	[6; 52]
	Через 24 ± 3 дня (точка 2)	22	[6; 85]
Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	17	[6; 53]
	Через 24 ± 3 дня (точка 4)	23	[6; 82]
RLMER: Этап: $t(13) = 0,4$ , $p = 0,73$ , Время: $t(12) = 0,2$ , $p = 0,83$ , Этап×Время: $t(12) = 0,01$ , $p = 1,00$			
<i>Штамм В/Колорадо</i>			
Первичная	До вакцинации (точка 1)	7	[4; 13]
	Через 24 ± 3 дня (точка 2)	7	[5; 11]
Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	6	[4; 8]
	Через 24 ± 3 дня (точка 4)	7	[4; 11]
RLMER: Этап: $t(9) = -0,4$ , $p = 0,67$ , Время: $t(9) = 0,4$ , $p = 0,71$ , Этап×Время: $t(9) = 0,1$ , $p = 0,90$			
<i>Штамм В/Пхукет</i>			
Первичная	До вакцинации (точка 1)	11	[6; 19]
	Через 24 ± 3 дня (точка 2)	9	[5; 15]
Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	7	[4; 11]
	Через 24 ± 3 дня (точка 4)	10	[4; 24]
RLMER: Этап: $t(12) = -1,6$ , $p = 0,14$ , Время: $t(12) = -1,0$ , $p = 0,35$ , Этап×Время: $t(12) = 1,5$ , $p = 0,16$			

## Продолжение таблицы 7

\* через год после первичной вакцинации

<sup>1</sup> – применялась робастная линейная модель смешанных эффектов (RLMEM), где время ( $24 \pm 3$  дня) после введения вакцинного препарата («Время») и этап вакцинации («Этап») – фиксированные факторы, отдельные пациенты (учитывался связанный характер выборок как во времени, так и этапами вакцинации) – случайные. Число степеней свободы представлено как  $t(df)$ . Апостериорные сравнения (между группами в контрольных точках и между контрольными точками для каждой группы) проводились с помощью построения соответствующих контрастов на основе рассчитанной модели, где  $p^{1-2}$  – сравнение между исходным уровнем и уровнем после первичной вакцинации,  $p^{2-3}$  – между уровнем после первичной вакцинации и через год после неё,  $p^{3-4}$  – между уровнем до повторной вакцинации (через год после первичной) и после неё,  $p^{1-3}$  – между исходным уровнем и через год после первичной вакцинации,  $p^{1-4}$  – между исходным уровнем и через  $24 \pm 3$  дня после повторной вакцинации,  $p^{2-4}$  – между уровнем после первичной вакцинации и после повторной вакцинации



\* – статистически значимые на уровне  $p \leq 0,05$ , для расчета применялась линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 7 – Титр антител у пациентов с ПИД в зависимости от этапа вакцинации одной дозой препарата исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, средний геометрический титр (GMT) и его 95 % доверительный интервал)

Фактор сероконверсии (средний геометрический прирост – GMR) через  $24 \pm 3$  дня после первичной и повторной вакцинации, а также за весь период наблюдения (через  $24 \pm 3$  дня после повторной вакцинации относительно уровня до первичной вакцинации) представлен в таблице 8.

Таблица 8 – Фактор сероконверсии (GMR) в группах пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации (n = 5)

Штамм	За весь период		Этапы вакцинации				Отличие между этапами <sup>1</sup>
			Первичная		Повторная		
	GMR	95 % ДИ	GMR	95 % ДИ	GMR	95 % ДИ	
А/Н1N1	1,23	[0,88; 1,72]	0,87	[0,59; 1,36]	1,74	[1,18; 2,55]	p = 0,13
А/Н3N2	1,32	[0,77; 2,25]	1,32	[0,36; 4,87]	1,32	[0,82; 2,11]	p = 0,99
В/Колорадо	1,15	[0,93; 1,42]	1,15	[0,78; 1,69]	1,15	[0,78; 1,69]	p = 0,99
В/Пхукет	1,07	[0,74; 1,55]	0,76	[0,47; 1,21]	1,52	[0,95; 2,43]	p = 0,25

<sup>1</sup> – применялся критерий Вилкоксона для связанных выборок

По фактору сероконверсии (среднему геометрическому приросту уровня АТ) между первичной и повторной вакцинацией не было выявлено статистически значимых различий ни для одного из рассматриваемых штаммов.

Отдельно рассмотрен такой показатель, как доля случаев с 2-кратным и более приростом АТ (рисунок 8). После первичной вакцинации было зарегистрировано по одному случаю на 5 пациентов к штаммам А/Н3N2 и В/Колорадо. После повторной вакцинации 2-кратный и более прирост наблюдался у 4 человек к штамму А/Н1N1, у 2 пациентов к штамму А/Н3N2, у одного к штамму В/Колорадо и у 3 к штамму В/Пхукет. По каждому отдельному штамму статистически значимых различий выявлено не было, но связанный характер выборок и гомогенность отношения шансов прироста АТ по исследуемым штаммам (p = 0,17, проверялась критерием Берслоу-Доу) позволяет применить

критерий Кохрана-Мантеля-Хенселя, который показал, что обобщённый по всем рассматриваемым штаммам шанс 2-кратного прироста АТ, в результате повторной вакцинации одной дозой в 6,7 [1,4; 34,5] раза выше (отношение шансов Мантеля-Хенселя), чем при первичной вакцинации одной дозой ( $p = 0,02$ ).

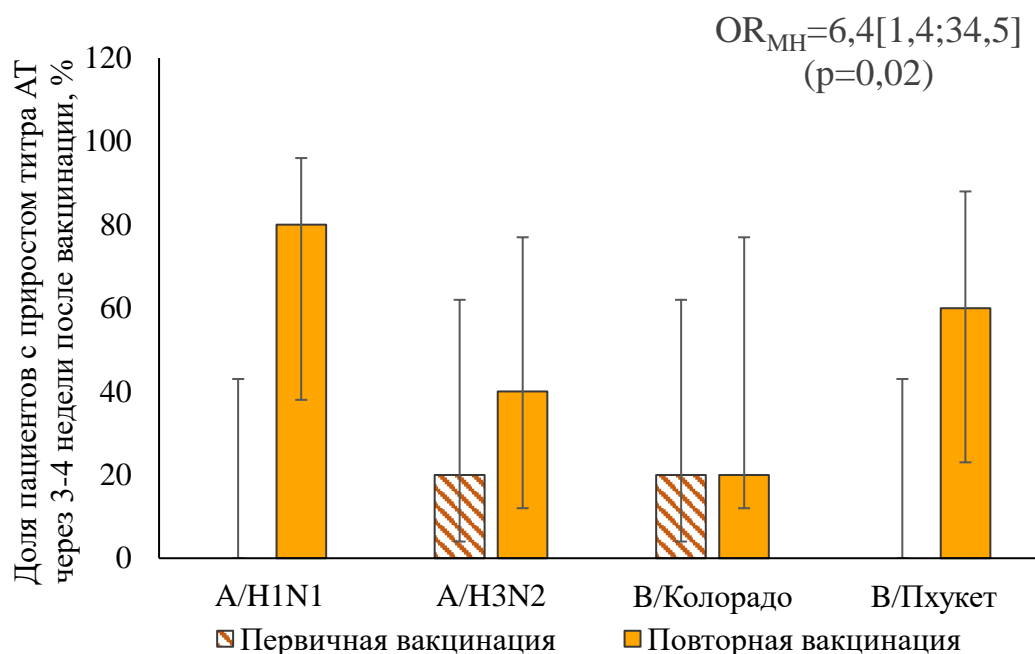


Рисунок 8 – Доля пациентов с 2-кратным и более приростом титра АТ через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации в зависимости от этапа, приведены процентные показатели и 95 % доверительный интервал (применялся критерий Кохрана-Мантеля-Хенселя с обобщением отношения шансов по штаммам)

### 3.2.4. Оценка критериев иммуногенности вакцин против гриппа у пациентов с ОВИН, иммунизированных одной и двумя (одномоментно) дозами

В таблице 9 приведен уровень серопротекции (доля пациентов с  $AT \geq 40$ ) и уровень сероконверсии (доля исследуемых, у которых уровень АТ через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации повысился более чем в 4 раза по сравнению с исходным уровнем) в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины.



Таблица 9 – Уровень серопротекции и сероконверсии в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины

Показатели	Период	Группы первично вакцинированных пациентов с ПИД						Между группами <sup>1</sup>
		1 доза (n = 6)			2 дозы (n = 9)			
		Абс.	%	95 % CI	Абс.	%	95 % CI	
<i>Штамм A/H1N1</i>								
Уровень серопротекции	До вакцинации	2	33 %	[10; 70]	5	56 %	[27; 81]	p = 0,63
	Через 24 ± 3 дня	2	33 %	[10; 70]	6	67 %	[35; 88]	p = 0,30
	Анализ изменений <sup>2</sup>	p = 1,00			p = 0,50			–
Уровень сероконверсии		0	0	[0; 39]	0	0	[0; 30]	p = 1,00
<i>Штамм A/H3N2</i>								
Уровень серопротекции	До вакцинации	2	33 %	[10; 70]	1	11 %	[2; 43]	p = 0,53
	Через 24 ± 3 дня	3	50 %	[19; 81]	2	22 %	[6; 55]	p = 0,33
	Анализ изменений	p = 0,50			p = 0,50			–
Уровень сероконверсии		1	17	[3; 56]	0	0	[0; 30]	p = 0,40
<i>Штамм B/Колорадо</i>								
Уровень серопротекции	До вакцинации	0	0	[0; 39]	0	0	[0; 30]	p = 1,00
	Через 24 ± 3 дня	0	0	[0; 39]	0	0	[0; 30]	p = 1,00
	Анализ изменений	p = 1,00			p = 1,00			
Уровень сероконверсии		0	0	[0; 39]	2	22,2	[6; 55]	p = 0,49
<sup>1</sup> – применялся точный критерий Фишера <sup>2</sup> – применялся критерий Мак-Немара								

Ни по одному из показателей не выявлено статистически значимых различий ни в динамике у каждого пациента, ни между группами. Но, стоит отметить, что данные показатели (уровень серопротекции и сероконверсии) изначально предназначены для оценки иммунного ответа здоровых пациентов, для пациентов с ПИД они являются слишком «грубыми». Поэтому далее рассмотрены непосредственно титры АТ и их изменение.

Средние геометрические титры АТ (GMT) в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины, исходно и через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации приведены в таблице 10. Там же приведены результаты построения линейных моделей смешанных эффектов (RLMEM) зависимости уровня АТ от схемы первичной вакцинации (одна / две дозы) и времени после вакцинации отдельно для каждого штамма.

Таблица 10 – Средние геометрические титры АТ (GMT) в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины

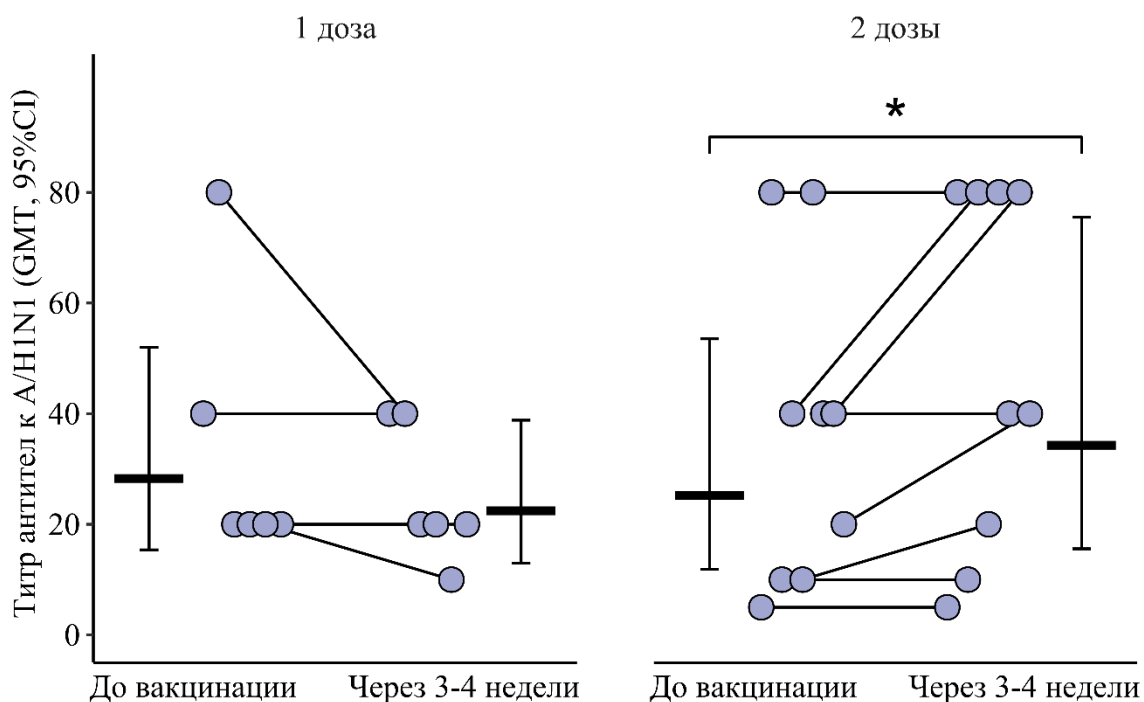
Штамм	Период	Группы первично вакцинированных пациентов с ПИД				Между группами
		1 доза (n = 6)		2 дозы (n = 9)		
		GMT	95 % CI	GMT	95 % CI	
A/H1N1	До вакцинации	28	[15; 52]	25	[12; 54]	p = 0,94
	Через $24 \pm 3$ дня	22	[13; 39]	34	[16; 75]	p = 0,29
	Анализ изменений	p = 0,17		p = 0,02		–
	RLMEM <sup>1</sup> Доза: t (14) = -0,1, p = 0,93, Время: t (13) = -1,4, p = 0,19, Доза×Время: t (13) = 2,5, p = 0,02					
A/H3N2	До вакцинации	18	[6; 52]	11	[6; 19]	p = 0,30
	Через $24 \pm 3$ дня	22	[6; 85]	17	[10; 29]	p = 0,89
	Анализ изменений	p = 0,89		p = 0,01		–
	RLMEM Доза: t (17) = -1,0, p = 0,31, Время: t (13) = 0,1, p = 0,89, Доза×Время: t (13) = 2,1, p = 0,05					
B/Колорадо	До вакцинации	7	[4; 13]	7	[5; 10]	p = 0,91
	Через $24 \pm 3$ дня	7	[5; 11]	11	[7; 18]	p = 0,18
	Анализ изменений	p = 0,97		p = 0,02		–
	RLMEM Доза: t (21) = -0,1, p = 0,91, Время: t (13) = 0,04, p = 0,96, Доза×Время: t (13) = 2,5, p = 0,02					
<sup>1</sup> – применялась робастная линейная модель смешанных эффектов (RLMEM), где время после вакцинации («Время») и одна или две дозы вакцины («Доза») – фиксированные факторы, отдельные пациенты – случайные. Число степеней свободы представлено как t (df). Апостериорные сравнения (между группами в контрольных точках и между контрольными точками для каждой группы) проводились с помощью построения соответствующих контрастов на основе рассчитанной модели						

Фактор сероконверсии (средний геометрический прирост – GMR) через  $24 \pm 3$  дня после первичной вакцинации представлен в таблице 11.

Таблица 11 – Фактор сероконверсии (GMR) в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины

Штамм	Группы исследования пациентов с ПИД				Между группами <sup>1</sup>
	1 доза (n = 6)		2 дозы (n = 9)		
	GMR	95 % ДИ	GMR	95 % ДИ	
A/H1N1	0,79	[0,55; 1,16]	1,36	[1,03; 1,80]	p = 0,03
A/H3N2	1,00	[0,63; 1,58]	1,59	[1,00; 2,52]	p = 0,07
B/Колорадо	1,00	[0,63; 1,58]	1,59	[1,00; 2,52]	p = 0,21
<sup>1</sup> – применялся критерий Манна-Уитни					

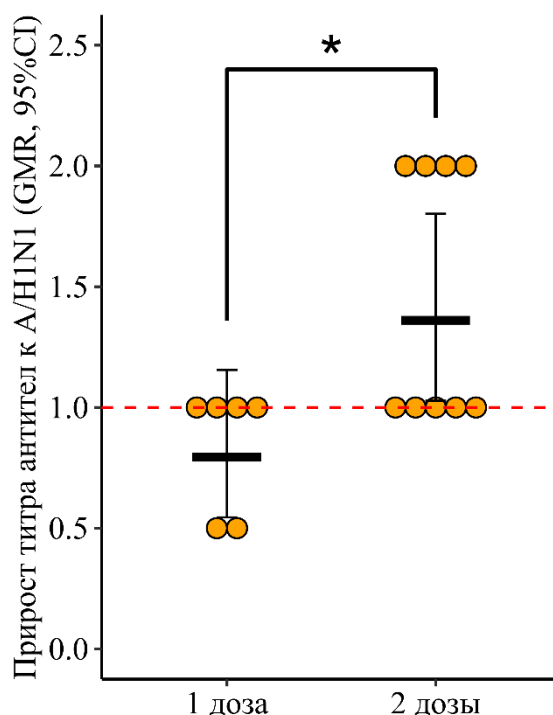
Построение и анализ линейной модели смешанных эффектов зависимости уровня АТ к штамму А/Н1Н1 от количества доз и времени после вакцинации позволил выявить, что в среднем за рассматриваемый период титр АТ к А/Н1Н1 в группах пациентов с ПИД, первично вакцинированных одной и двумя дозами, статистически значимо не различался ( $t = -0,1$ ,  $p = 0,93$ ,  $df = 14$ ). Также стоит отметить отсутствие согласованной динамики в группах исследования ( $t = -1,4$ ,  $p = 0,19$ ,  $df = 13$ ), однако, была выявлена статистически значимая разнонаправленная динамика ( $t = 2,5$ ,  $p = 0,02$ ,  $df = 13$ ) (рисунок 9).



\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$ , для расчета использовалась линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 9 – Титр антител у пациентов с ПИД к штамму A/H1N1 в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, средний геометрический титр (GMT) и его 95 % доверительный интервал)

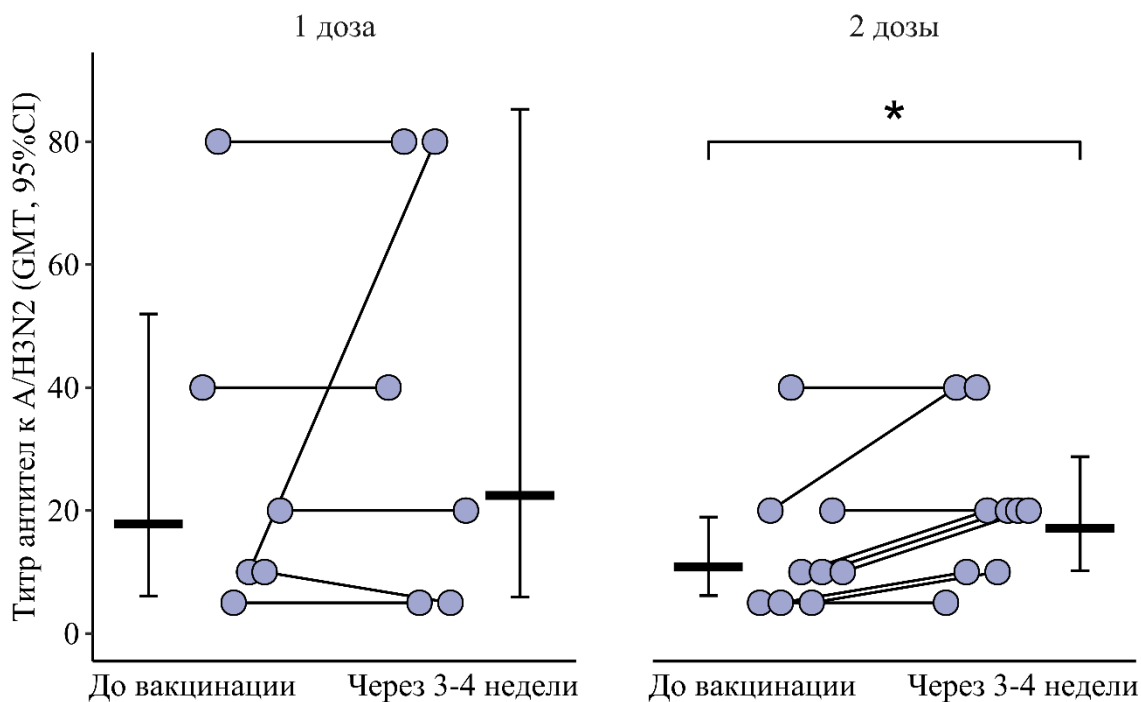
В частности, в группе пациентов, вакцинированных одной дозой, через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации отмечается статистически не значимое снижение титра АТ, объясняемое случайными флуктуациями, в то время как в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами, выявлен статистически значимый прирост относительно исходного уровня с 25 [12; 54] до 34 [16; 75] ( $p = 0,02$ ). Средний геометрический прирост титра также статистически значимо выше в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами: 1,36 [1,03; 1,80] против 0,79[0,55; 1,16] ( $p = 0,03$ ) (рисунок 10).



\* – статистически значимые различия между группами исследования на уровне  $p \leq 0,05$   
 . – тенденция к различиям между группами исследования на уровне  $p < 0,10$ , применялся критерий Манна-Уитни

Рисунок 10 – Фактор сероконверсии к штамму А/Н1N1 у пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации (приведены индивидуальные значения, средний геометрический прирост (GMR) и его 95 % доверительный интервал)

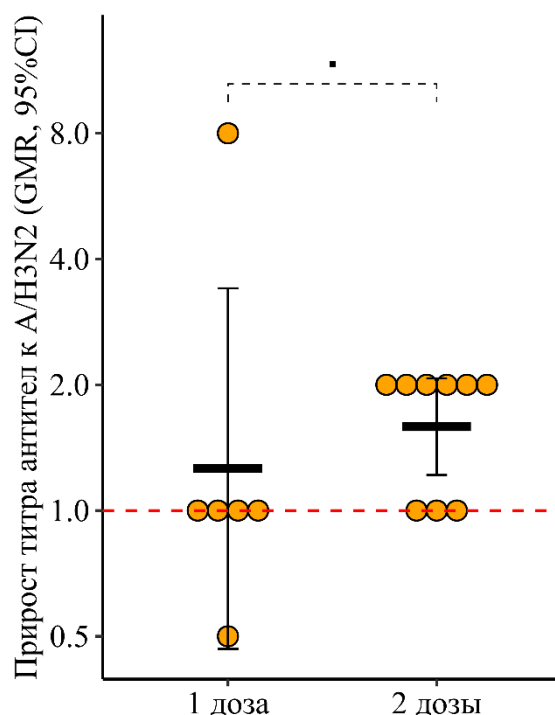
Анализ поствакцинального ответа к штамму А/Н3N2 показал, что через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации титр АТ в группах исследования изменяется по-разному ( $t = 2,1$ ,  $p = 0,05$ ,  $df = 13$ ): если в группе пациентов, вакцинированных одной дозой, прирост статистически не значимый ( $p = 0,89$ ), то в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами, отмечается статистически значимое увеличение титра АТ с 11 [6; 19] до 17 [10; 29] ( $p = 0,01$ ) (рисунок 11).



\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$ , для расчета использовалась линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 11 – Титр антител у пациентов с ПИД к штамму А/Н3N2 в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, средний геометрический титр (GMT) и его 95 % доверительный интервал)

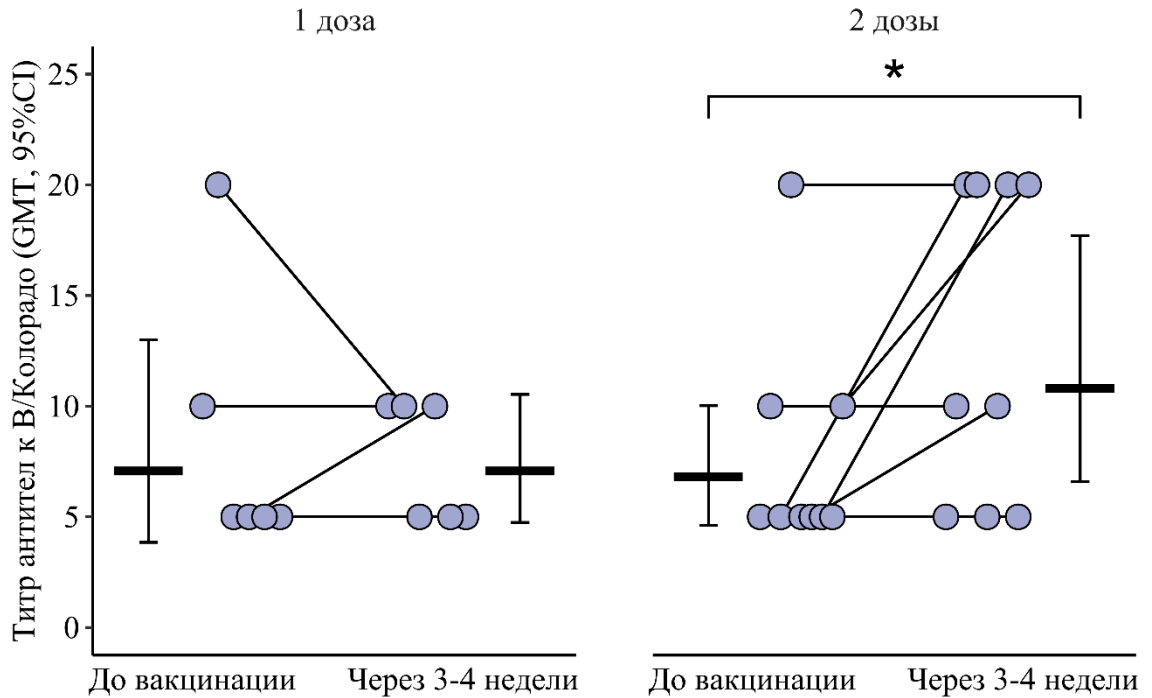
Интенсивность изменения титра АТ (средний геометрический прирост – фактор сероконверсии) выше в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами: 1,59 [1,00; 2,52] против 1,00 [0,63; 1,58] ( $p = 0,07$  – на уровне тенденции) (рисунок 12).



\* – статистически значимые различия между группами исследования на уровне  $p \leq 0,05$   
 . – тенденция к различиям между группами исследования на уровне  $p < 0,10$ , применялся критерий Манна-Уитни

Рисунок 12 – Фактор сероконверсии к штамму А/Н3N2 у пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации (приведены индивидуальные значения, средний геометрический прирост (GMR) и его 95 % доверительный интервал)

Анализ поствакцинального ответа к штамму В/Колорадо выявил, что в среднем за период уровень АТ не зависит от схемы вакцинации ( $t = -0,1$ ,  $p = 0,91$ ,  $df = 21$ ) и не имеет выраженного направления изменений в результате вакцинации ( $t = 0,04$ ,  $p = 0,96$ ,  $df = 13$ ), но при этом, в зависимости от схемы вакцинации, средний титр АТ меняется по-разному ( $t = 2,5$ ,  $p = 0,02$ ,  $df = 13$ ) (рисунок 13).

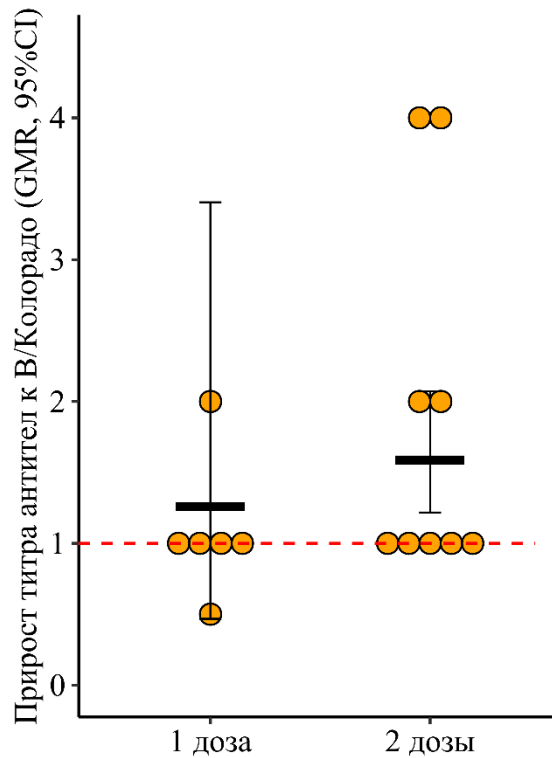


\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$ , для расчета использовалась линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 13 – Титр антител у пациентов с ПИД к штамму В/Колорадо в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, средний геометрический титр (GMT) и его 95 % доверительный интервал)

Если в группе пациентов, вакцинированных одной дозой вакцины, средний геометрический титр через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации остаётся без изменений относительно исходного уровня, то в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами, отмечается статистически значимый прирост титра с 7 [5; 10] до 11 [7; 18] ( $p = 0,02$ ) (рисунок 14).



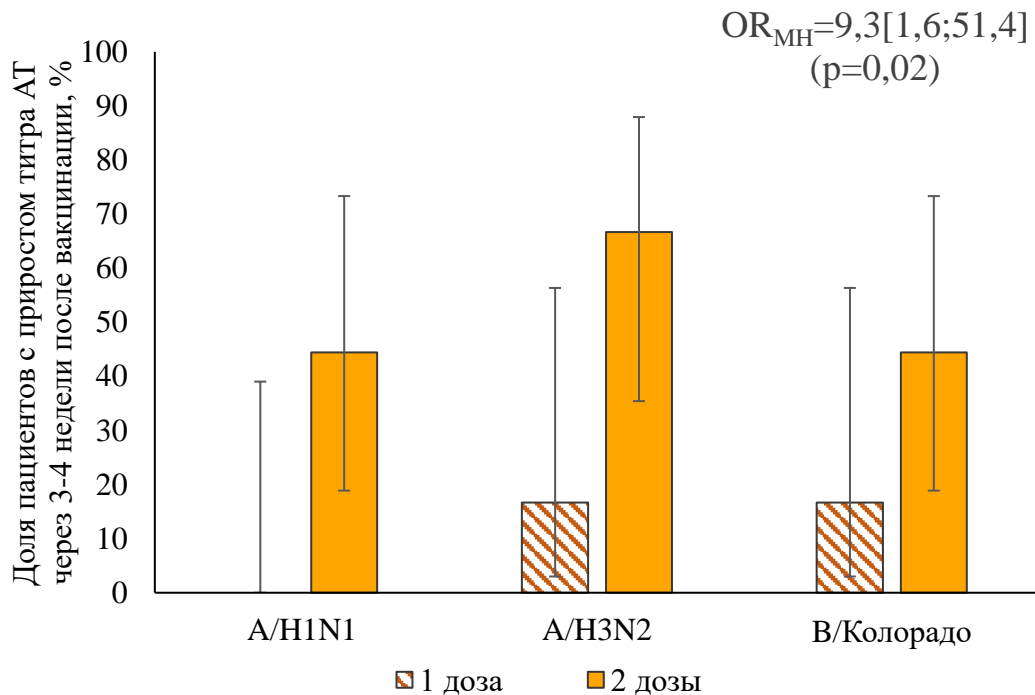


\* – статистически значимые различия между группами исследования на уровне  $p \leq 0,05$   
 . – тенденция к различиям между группами исследования на уровне  $p < 0,10$ , применялся критерий Манна-Уитни

Рисунок 14 – Фактор сероконверсии к штамму В/Колорадо у пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации (приведены индивидуальные значения, средний геометрический прирост (GMR) и его 95 % доверительный интервал)

В целом, если рассматривать все штаммы в совокупности, можно утверждать, что в группе пациентов, вакцинированных одной дозой, случаи прироста титра АТ у отдельных пациентов являются единичными, в то время как в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами, доля таких пациентов значительно выше (рисунок 15). По каждому отдельному штамму статистически значимых различий выявлено не было, но связанный характер выборок (каждый из трех штаммов рассматривался на одном и том же пациенте) и гомогенность отношения шансов прироста АТ по исследуемым штаммам ( $p = 0,62$ , проверялась критерием Берслоу-Доу) позволяет применить более мощный критерий (критерий Кохрана-Мантеля-Хенселя), который показал, что шанс прироста АТ в результате

вакцинации двумя дозами в 9,3 [1,6; 51,4] раза выше (отношение шансов Мантеля-Хенселя), чем при вакцинации одной дозой ( $p = 0,02$ ) независимо от штамма.



Примечание: применялся критерий Кохрана-Мантеля-Хенселя с обобщением отношения шансов по штаммам

Рисунок 15 – Доля пациентов с 2-кратным и более приростом титра АТ через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации ко всем трем штаммам в зависимости от схемы вакцинации (приведены процентные показатели и 95 % доверительный интервал)

### 3.3. Исследование субпопуляционной структуры лимфоцитов у пациентов с ОВИН, вакцинированных против гриппа

#### 3.3.1. Влияние четырехвалентной адъювантной вакцины против гриппа на субпопуляционную структуру лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОВИН после введения одной дозы первично и повторно через год

Большинство рассматриваемых показателей и после вакцинации, и после ревакцинации оставались без изменений (таблицы 12, 13).

Таблица 12 – Процентное и абсолютное содержание субпопуляций лимфоцитов в сыворотке крови в группах пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации ( $n = 6$  при первичной вакцинации,  $n = 5$  при повторной вакцинации)

Показатель	Этап вакцинации	Контрольные точки	Значения показателей в контрольных точках		
			Med(Q1-Q3)	95 % CI	
Лейкоциты	Абс.	Первичная	До вакцинации (точка 1)	5418(4768-7178)	[4385; 9116]
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	5962(4468-6909)	[3971; 7852]
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3) *	4603(4155-6341)	[3854; 6942]
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	4905(4062-5874)	[3349; 6519]
	RLMEM <sup>1</sup> Этап: $t(5) = -2,5, p = 0,05$ , Время: $t(6) = 0,2, p = 0,88$ , Этап × Время: $t(4) = -0,3, p = 0,81$ Между точками: $p^{1-2} = 0,87, p^{2-3} = 0,05, p^{3-4} = 0,99, p^{1-3} = 0,01, p^{1-4} = 0,05, p^{2-4} = 0,01$				
Лимфоциты	%	Первичная	До вакцинации (точка 1)	33,9(28,7-37,6)	[28,1; 42,7]
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	33,1(24,3-36,7)	[22,3; 40,1]
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	31,1(25,9-39)	[22,6; 41,0]
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	29,4(29,1-41,9)	[28,8; 48,1]
	RLMEM Этап: $t(11) = -0,5, p = 0,62$ , Время: $t(13) = -0,8, p = 0,47$ , Этап × Время: $t(13) = 1,1, p = 0,30$				

Продолжение таблицы 12

Лимфоциты	Абс.	Первичная	До вакцинации (точка 1)	1856(1709-2227)	[1608; 2628]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	1937(1419-2231)	[887; 2630]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	1826(1081-2145)	[1039; 2162]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	1754(1181-2214)	[985; 2516]	
		RLMEM Этап: t (9) = -1,2, p = 0,28, Время: t (10) = -0,5, p = 0,60, Этап × Время: t (10) = 0,5, p = 0,60				
CD3+CD19-	%	Первичная	До вакцинации (точка 1)	78,3(73,4-83,5)	[73,3; 91,4]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	82,8(75,6-87,7)	[74,3; 92,3]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	81,2(78,8-87,6)	[77,5; 89,5]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	80,0(76,8-86,3)	[74,1; 90,8]	
	RLMEM Этап: t (10) = 1,5, p = 0,18, Время: t (11) = 2,1, p = 0,05, Этап × Время: t (8) = -1,8, p = 0,11 Между точками: p <sup>1-2</sup> = 0,04, p <sup>2-3</sup> = 0,99, p <sup>3-4</sup> = 0,62, p <sup>1-3</sup> = 0,14, p <sup>1-4</sup> = 0,28, p <sup>2-4</sup> = 0,71					
	Абс. Абс.	Первичная	До вакцинации (точка 1)	1475(1356-1716)	[1300; 2089]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	1615(1101-1852)	[765; 2108]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	1461(947,5-1702)	[890; 1756]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	1522(989,5-1779)	[730; 2027]	
	RLMEM Этап: t (8) = -0,8, p = 0,43, Время: t (9) = 0,01, p = 1,00, Этап × Время: t (9) = 0,13, p = 0,90					
CD3-CD19+	%	Первичная	До вакцинации (точка 1)	9,8(6,7-14,3)	[2,5; 15,6]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	7,5(5,1-11,0)	[2,8; 14,0]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	8,4(5,7-12,7)	[3,7; 14,8]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	8,7(5,5-12,2)	[3,8; 12,6]	
	RLMEM Этап: t (9) = 0,01, p = 0,97, Время: t (9) = -2,0, p = 0,07, Этап × Время: t (7) = 0,2, p = 0,84 Между точками: p <sup>1-2</sup> = 0,05, p <sup>2-3</sup> = 0,28, p <sup>3-4</sup> = 0,26, p <sup>1-3</sup> = 0,97, p <sup>1-4</sup> = 0,42, p <sup>2-4</sup> = 0,80					
	Абс.	Первичная	До вакцинации (точка 1)	220,5(108,5-291,3)	[44; 292]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	170,5(53,3-217,8)	[51; 223]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	153(60,5-271)	[42; 315]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	152(67,0-177)	[34; 184]	
	RLMEM Этап: t (10) = -0,7, p = 0,48, Время: t (9) = -1,4, p = 0,20, Этап × Время: t (9) = 1,0, p = 0,33					

Продолжение таблицы 12

CD3+CD4+	%	Первичная	До вакцинации (точка 1)	35,5(21,6-41,6)	[19,8; 41,8]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	33,6(22,7-42,6)	[20,5; 44,6]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	39,1(20,4-44,5)	[19,4; 45,1]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	34,3(19,8-43,4)	[18,8; 48,7]	
	RLMEM Этап: t (12) = 0,1, p = 0,96, Время: t (9) = 0,01, p = 0,99, Этап × Время: t (11) = -0,2, p = 0,86					
	Абс.	Первичная	До вакцинации (точка 1)	687,0(361,5-848,5)	[357; 1045]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	612,5(456,3-802,5)	[208; 873]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	506(287,5-888,5)	[221; 932]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	523(334,0-699,0)	[330; 728]	
	RLMEM Этап: t (9) = -1,2, p = 0,24, Время: t (11) = -0,3, p = 0,80, Этап × Время: t (10) = 0,0, p = 0,96					
CD3+CD8+	%	Первичная	До вакцинации (точка 1)	43,9(36,2-49,7)	[33,8; 49,8]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	42,4(36,0-49,1)	[34,5; 51,5]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	41,7(34,7-53,2)	[32,2; 56,1]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	40,4(33,5-55,6)	[29,1; 57,3]	
	RLMEM Этап: t (10) = 0,01, p = 0,97, Время: t (9) = -0,1, p = 0,95, Этап × Время: t (9) = 0,2, p = 0,83					
	Абс.	Первичная	До вакцинации (точка 1)	835,5(753-926,3)	[633; 972]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	794,0(509-1057)	[383; 1270]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	685(525,5-860,5)	[468; 917]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	723(421,5-1179)	[287; 1353]	
	RLMEM Этап: t (10) = -0,9, p = 0,37, Время: t (9) = -0,4, p = 0,72, Этап × Время: t (9) = 0,6, p = 0,59					
CD3-CD16/56+	%	Первичная	До вакцинации (точка 1)	9,6(7,5-12,3)	[4; 13,4]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	9,3(7,1-11,5)	[5,8; 14]	
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	7,1(6,7-9,3)	[6,5; 11]	
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	10,1(6,1-10,7)	[5,7; 11,3]	
	RLMEM Этап: t (8) = -1,1, p = 0,31, Время: t (10) = 0,1, p = 0,93, Этап × Время: t (9) = 0,8, p = 0,46					

Продолжение таблицы 12

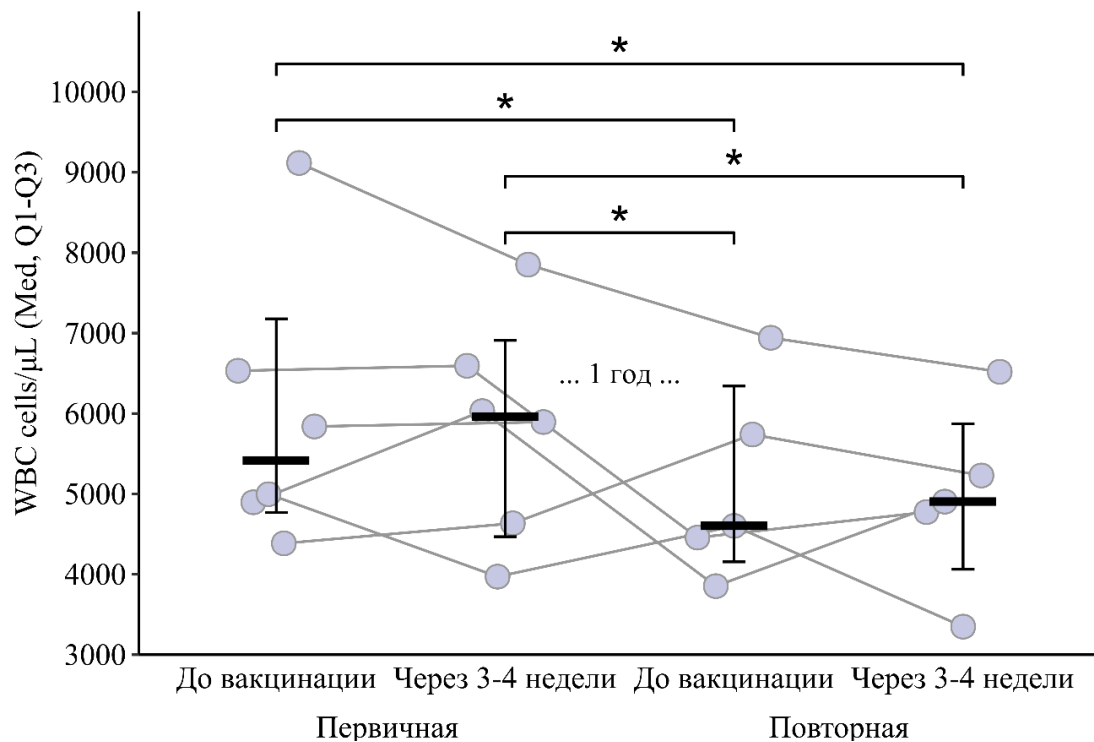
CD3-CD16/56+	Абс.	Первичная	До вакцинации (точка 1)	209,5(124,8-246,8)	[70; 249]
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	162,0(99,9-284,3)	[66,5; 294]
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	141(77,5-176,0)	[71; 201]
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	114(88,5-238,5)	[78; 284]
		RLMEM Этап: t (12) = -1,7, p = 0,12, Время: t (12) = -0,5, p = 0,60, Этап × Время: t (11) = 1,4, p = 0,19			
ИРИ	Абс.	Первичная	До вакцинации (точка 1)	0,8(0,4-1,1)	[0,4; 1,2]
			Через 24 ± 3 дня (точка 2)	0,7(0,5-1,2)	[0,4; 1,2]
		Повторная (через год)	До вакцинации (точка 3)	1,1(0,4-1,3)	[0,4; 1,4]
			Через 24 ± 3 дня (точка 4)	1,0(0,4-1,2)	[0,3; 1,2]
		RLMEM Этап: t (12) = 0,3, p = 0,76, Время: t (9) = 0,01, p = 0,99, Этап × Время: t (10) = -0,2, p = 0,88			
* через год после первичной вакцинации					
<sup>1</sup> – применялась робастная линейная модель смешанных эффектов (RLMEM), где время после вакцинации (“Время”) и первичная или повторная вакцинация (“Этап”) – фиксированные факторы, отдельные пациенты – случайные. Число степеней свободы представлено как t (df). Апостериорные сравнения (между группами в контрольных точках и между контрольными точками для каждой группы) проводились с помощью построения соответствующих контрастов на основе рассчитанной модели, где p <sup>1-2</sup> – сравнение между исходным уровнем и после первичной вакцинации, p <sup>2-3</sup> – между уровнем после первичной вакцинации и через год после неё, p <sup>3-4</sup> – между уровнем до повторной вакцинации (через год после первичной) и после неё, p <sup>1-3</sup> – между исходным уровнем и через год после первичной вакцинации, p <sup>1-4</sup> – между исходным уровнем и через 24 ± 3 дня после повторной вакцинации, p <sup>2-4</sup> – между уровнем после первичной вакцинации и после повторной вакцинации					

Таблица 13 – Дельта изменений процентного и абсолютного содержания субпопуляций лимфоцитов в сыворотке крови в группах пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации

Показатель		За весь период		Этапы вакцинации				Различия между этапами <sup>1</sup>
				Первичная		Повторная		
		Med	95 % CI <sup>1</sup>	Med	95 % CI	Med	95 % CI	<i>p</i>
Лейкоциты	Абс.	-1648	[-2597; 844,5]	58,5	[-1264; 1134]	-423	[-1254; 1051]	<i>p</i> = 0,89
Лимфоциты	%	0,5	[-2,8; 5,4]	-3,9	[-9,9; 12]	6,6	[-12,2; 11]	<i>p</i> = 0,50
	Абс.	-461	[-716; 641,5]	-136,8	[-721; 792,5]	-54	[-450; 630,5]	<i>p</i> = 0,50
CD3+CD19-	%	0,5	[-6,8; 13,7]	2,9	[0,9; 5,8]	-1,2	[-11,6; 10,8]	<i>p</i> = 0,50
	Абс.	-167	[-570; 652]	-68,5	[-535; 692]	-160	[-226; 517]	<i>p</i> = 0,50
CD3-CD19+	%	-1,6	[-8,3; 7,3]	-2	[-3,9; 0,3]	-1,6	[-7,5; 7,8]	<i>p</i> = 0,89
	Абс.	-106	[-131; 56]	-74	[-145; 51]	-57	[-131; 73]	<i>p</i> = 0,89
CD3+CD4+	%	-1,7	[-22,7; 28,9]	0,4	[-4,6; 4,8]	-1	[-26,3; 29,3]	<i>p</i> = 0,89
	Абс.	-260	[-393; 307]	-104,5	[-172; 176]	-117	[-409; 316]	<i>p</i> = 0,89
CD3+CD8+	%	0,8	[-20,2; 20]	0,1	[-6,1; 3,2]	0,6	[-27; 21,6]	<i>p</i> = 0,79
	Абс.	-249	[-506; 720]	-6,5	[-410; 359]	-81	[-361; 668]	<i>p</i> = 0,35
CD3-CD16/56+	%	1,2	[-7,7; 2,5]	-0,2	[-2,7; 2,1]	3,3	[-5,3; 4,2]	<i>p</i> = 0,22
	Абс.	-35	[-168; 93]	7,5	[-76,5; 45]	30	[-123; 133]	<i>p</i> = 0,69
ИРИ	Абс.	-0,1	[-0,8; 0,8]	0	[-0,2; 0,1]	-0,1	[-1; 0,8]	<i>p</i> = 0,69

<sup>1</sup> – применялся критерий Вилкоксона для связанных выборок

Но, стоит обратить внимание на динамику абсолютного числа лейкоцитов: выявлена взаимосвязь значений данного показателя и этапа вакцинации ( $t = -2,5$ ,  $p = 0,05$ ,  $df = 5$ ). Через  $24 \pm 3$  дня после первичной вакцинации относительно исходного уровня показатель не изменился, оставаясь в пределах 5418 (4768-7178) – 5962 (4468-6909) клеток/ $\mu\text{L}$ . Однако через год после первичной вакцинации, перед ревакцинацией, отмечалось статистически значимое снижение показателя относительно исходного уровня до 4603 (4155-6341) клеток/ $\mu\text{L}$  ( $p = 0,01$ ). После проведения ревакцинации абсолютное число лейкоцитов по-прежнему оставалось ниже исходного уровня – 4905 (4062-5874) клеток/ $\mu\text{L}$  ( $p = 0,05$ ) (рисунок 16). В целом, за рассматриваемый период абсолютное число лейкоцитов снизилось в среднем на 1648 [-2597; 844,5] клеток/ $\mu\text{L}$ .



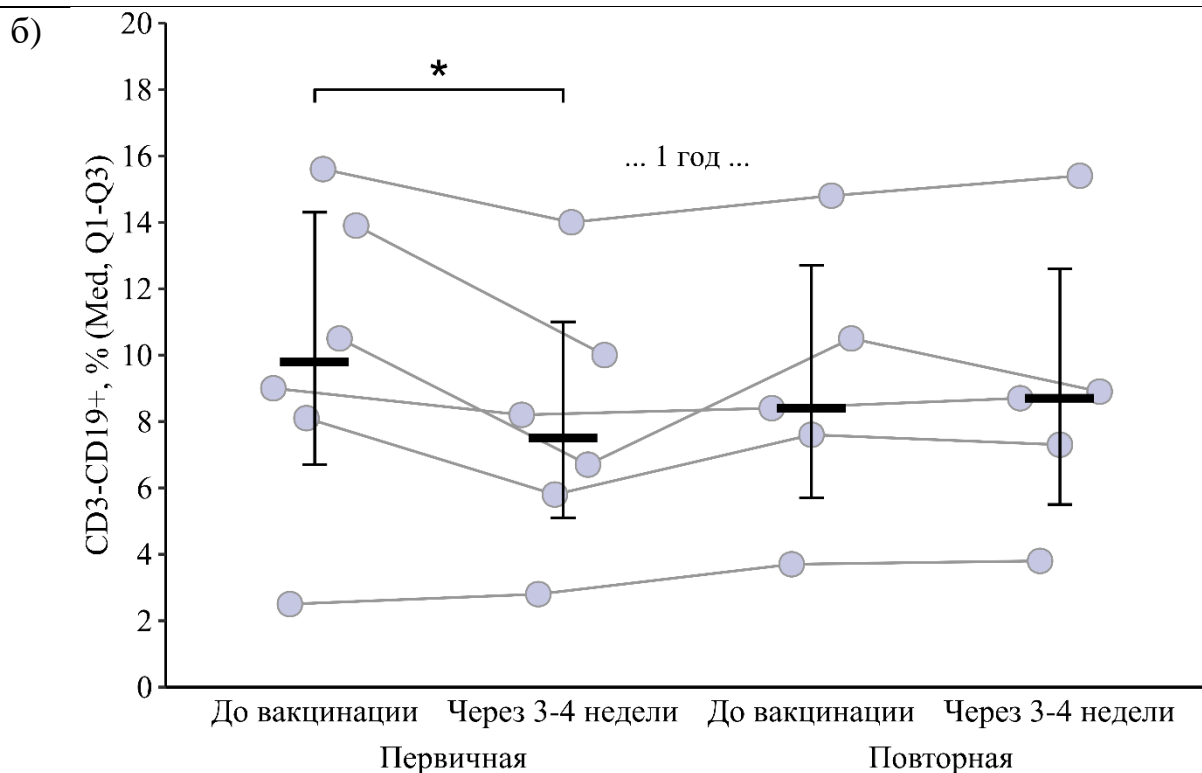
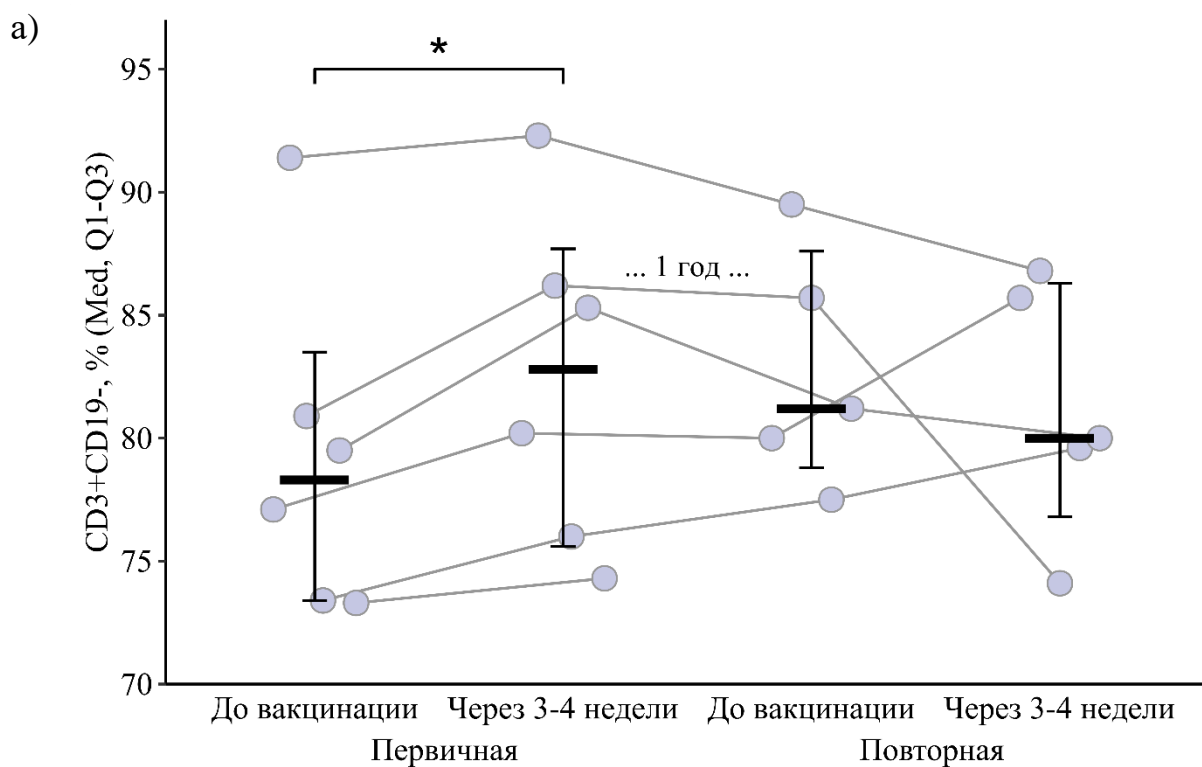
\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$ , для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 16 – Уровень лейкоцитов у пациентов с ПИД в зависимости от этапа вакцинации одной дозой препарата исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, средний геометрический титр (GMT) и его 95 % доверительный интервал)



Через  $24 \pm 3$  дня после первичной вакцинации было отмечено статистически значимое изменение процентного содержания CD3+CD19- (прирост с 78,3 (73,4-83,5) % до 82,8 (75,6-87,7) %,  $p = 0,04$ ) и CD-CD19+ (снижение с 9,8 (6,7-14,3) % до 7,5 (5,1-11,0) %,  $p = 0,05$ ). В динамике через год после первичной вакцинации данные показатели возвращаются к исходному уровню для CD3+CD19- ( $p = 0,14$ ) и CD3+CD19+ ( $p = 0,97$ ). После проведения повторной вакцинации статистически значимого изменения данных показателей не наблюдалось: процентное содержание CD3+CD19- составило 80,0 (76,8-86,3) % ( $p = 0,62$  по сравнению с уровнем до ревакцинации и  $p = 0,28$  по сравнению с исходным уровнем), относительное количество CD3-CD19+ составило 8,7 (5,5-12,2) % ( $p = 0,26$  по сравнению с уровнем до ревакцинации и  $p = 0,42$  по сравнению с исходным уровнем) (рисунок 17 а, б).

Анализ интенсивности изменений в зависимости от этапа (таблица 13) не выявил статистически значимых различий изменения содержания субпопуляций лимфоцитов в зависимости от того, первично проводилась вакцинация или повторно.



\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$ , для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 17 – Содержание субпопуляций лимфоцитов CD3+CD19- и CD3-CD19+ в крови пациентов с ПИД в зависимости от этапа вакцинации одной дозой препарата исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, средний геометрический титр (GMT) и его 95 % доверительный интервал)

3.3.2. Влияние трехвалентной адьювантной вакцины против гриппа на субпопуляционную структуру лимфоцитов периферической крови у пациентов с ОВИН, вакцинированных одной и двумя (одномоментно) дозами

Таблица 14 – Процентное и абсолютное содержание субпопуляций лимфоцитов в крови в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины

Показатель	Период	Значение показателей в группах первично вакцинированных пациентов с ПИД				Между группами	
		1 доза (n = 6)		2 дозы (n = 9)			
		Med (Q1-Q3)	95 % CI	Med (Q1-Q3)	95 % CI		
Лейкоциты	Абс.	До вакцинации	5418 (4768-7178)	[4385; 9116]	5230(4463-6201)	[4380; 6437]	p = 0,66
		Через 24 ± 3 дня	5962 (4468-6909)	[3971; 7852]	5688(4258-7504)	[3877; 8312]	p = 0,66
	RLMEM <sup>1</sup>	Доза: t (17) = -0,4, p = 0,66, Время: t (13) = -0,2, p = 0,86, Доза×Время: t (13) = 0,01, p = 1,00					
Лимфоциты	%	До вакцинации	33,9(28,7-37,6)	[28,1; 42,7]	33,5(28,9-36,1)	[28,5; 36,4]	p = 0,69
		Через 24 ± 3 дня	33,1(24,3-36,7)	[22,3; 40,1]	34,9(27,9-40,8)	[24,0; 40,9]	p = 0,28
	RLMEM	Доза: t (21) = -0,4, p = 0,70, Время: t (13) = -1,4, p = 0,17, Доза×Время: t (13) = 1,6, p = 0,14					
Лимфоциты	Абс.	До вакцинации	1856(1709-2227)	[1608; 2628]	1638(1263-2017)	[1232; 2129]	p = 0,46
		Через 24 ± 3 дня	1937(1419-2231)	[887; 2630]	1649(1145-2729)	[1115; 3028]	p = 0,86
	RLMEM	Доза: t (21) = -0,8, p = 0,46, Время: t (13) = -0,6, p = 0,58, Доза×Время: t (13) = 0,6, p = 0,57					
CD3+CD19-	%	До вакцинации	78,3(73,4-83,5)	[73,3; 91,4]	86,7(78,0-90,5)	[77,8; 90,9]	p = 0,17
		Через 24 ± 3 дня	82,8(75,6-87,7)	[74,3; 92,3]	86,1(78,5-88,5)	[77,9; 88,6]	p = 0,70
	Анализ изменений	<b>p &lt; 0,001</b>		p = 0,11		–	
RLMEM	Доза: t (13) = 1,4, p = 0,20, Время: t (13) = 4,0, p = 0,001, Доза×Время: t (13) = -4,4, p < 0,001						

Продолжение таблицы 14

CD3+CD19-	Абс.	До вакцинации	1475(1356-1716)	[1300; 2089]	1472(996-1803)	[963; 1856]	p = 0,67
		Через 24 ± 3 дня	1615(1101-1852)	[765; 2108]	1200(962,5-2142)	[942; 2359]	p = 0,80
		RLMEM	Доза: t (19) = -0,4, p = 0,67, Время: t (13) = -0,4, p = 0,70, Доза×Время: t (13) = 0,2, p = 0,83				
CD3-CD19+	%	До вакцинации	9,8(6,7-14,3)	[2,5; 15,6]	5(3,0-13,0)	[3,0; 13,0]	p = 0,28
		Через 24 ± 3 дня	7,5(5,1-11,0)	[2,8; 14,0]	6,4(2,8-12,2)	[2,2; 12,2]	p = 0,60
		Анализ изменений	<b>p = 0,009</b>		p = 0,53		-
	RLMEM	Доза: t (13) = -1,1, p = 0,30, Время: t (13) = -2,1, p = 0,06, Доза×Время: t (13) = 2,1, p = 0,05					
	Абс.	До вакцинации	221(109-291)	[44; 292]	82(45-198)	[40; 212]	p = 0,21
Через 24 ± 3 дня		171(53-218)	[51; 223]	79(36-274)	[35; 297]	p = 0,57	
RLMEM		Доза: t (14) = -1,2, p = 0,23, Время: t (13) = -1,6, p = 0,13, Доза×Время: t (13) = 1,5, p = 0,15					
CD3+CD4+	%	До вакцинации	35,5(21,6-41,6)	[19,8; 41,8]	33,6(27-43,4)	[26,8; 44,9]	p = 0,62
		Через 24 ± 3 дня	33,6(22,7-42,6)	[20,5; 44,6]	33(28,6-41,3)	[28,4; 41,9]	p = 0,75
		RLMEM	Доза: t (14) = 0,5, p = 0,63, Время: t (13) = 0,1, p = 0,93, Доза×Время: t (13) = -0,5, p = 0,64				
	Абс.	До вакцинации	687(361,5-848,5)	[357; 1045]	536(429,5-818,5)	[414; 892]	p = 0,73
		Через 24 ± 3 дня	612,5(456,3-802,5)	[208; 873]	495(410-914,5)	[388; 960]	p = 0,95
RLMEM		Доза: t (16) = -0,4, p = 0,73, Время: t (13) = -0,8, p = 0,47, Доза×Время: t (13) = 0,7, p = 0,52					
CD3+CD8+	%	До вакцинации	43,9(36,2-49,7)	[33,8; 49,8]	48(37-52,4)	[35,2; 53,3]	p = 0,67
		Через 24 ± 3 дня	42,4(36-49,1)	[34,5; 51,5]	43,3(37,8-47,9)	[34,5; 48,5]	p = 0,85
	RLMEM	Доза: t (15) = 0,4, p = 0,67, Время: t (13) = -0,2, p = 0,88, Доза×Время: t (13) = -0,5, p = 0,64					

Продолжение таблицы 14

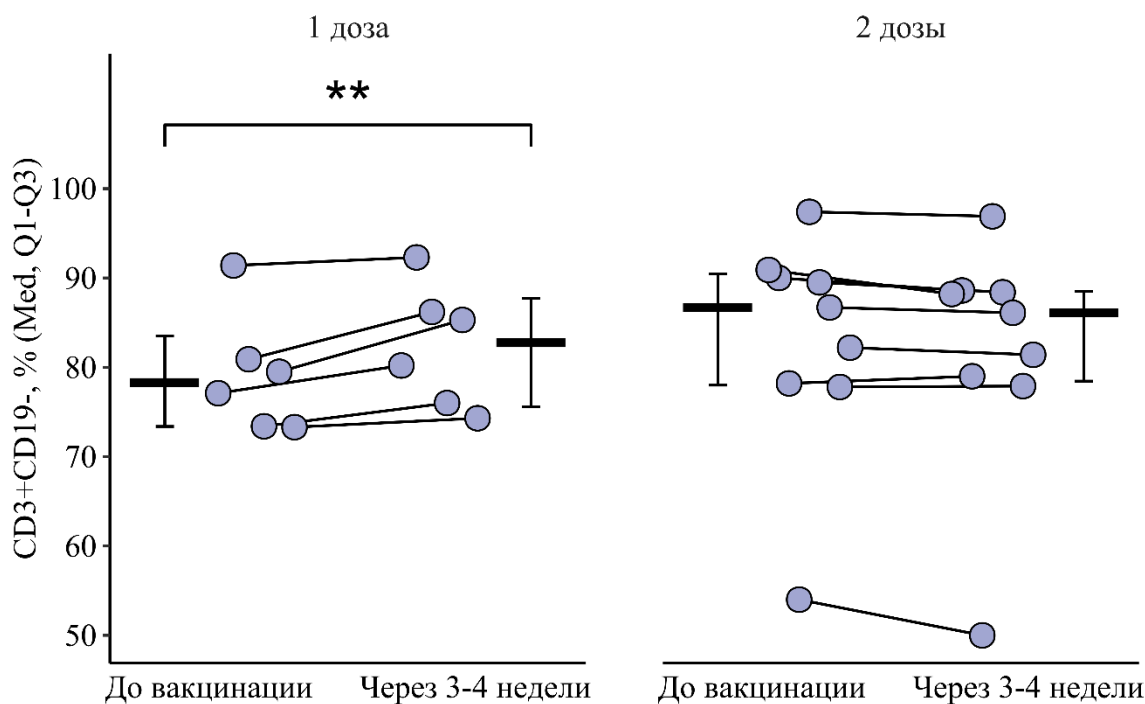
CD3+CD8+	Абс.	До вакцинации	835,5(753-926)	[633; 972]	749(536-945)	[481; 1005]	p = 0,56
		Через 24 ± 3 дня	794(509-1057)	[383; 1270]	651(548,5-1073)	[527; 1173]	p = 0,75
	RLMEM	Доза: t (21) = -0,6, p = 0,57, Время: t (13) = -0,5, p = 0,63, Доза×Время: t (13) = 0,2, p = 0,81					
CD3-CD16/56+	%	До вакцинации	9,6(7,5-12,3)	[4,0; 13,4]	6,6(4,5-12,2)	[3,9; 13,1]	p = 0,32
		Через 24 ± 3 дня	9,3(7,1-11,5)	[5,8; 14,0]	6,7(4,6-9,9)	[4,1; 10,3]	p = 0,34
	RLMEM	Доза: t (14) = -1,0, p = 0,34, Время: t (13) = 0,1, p = 0,91, Доза×Время: t (13) = 0,1, p = 0,94					
ИРИ	Абс.	До вакцинации	209(124-246)	[70,0; 249]	87(81-262)	[79; 342]	p = 0,23
		Через 24 ± 3 дня	162(100-284)	[66,5; 294]	92(68-234)	[65; 312]	p = 0,31
	RLMEM	Доза: t (17) = -1,2, p = 0,25, Время: t (13) = -0,5, p = 0,66, Доза×Время: t (13) = 0,3, p = 0,80					
ИРИ	Абс.	До вакцинации	0,8(0,4-1,1)	[0,4; 1,2]	0,9(0,6-1,2)	[0,5; 1,3]	p = 0,75
		Через 24 ± 3 дня	0,7(0,5-1,2)	[0,4; 1,2]	0,8(0,7-1,0)	[0,6; 1,0]	p = 0,88
	RLMEM	Доза: t (15) = 0,3, p = 0,76, Время: t (12) = 0,1, p = 0,96, Доза×Время: t (12) = -0,4, p = 0,72					
<p><sup>1</sup> – применялась робастная линейная модель смешанных эффектов (RLMEM), где время после вакцинации («Время») и одна или две дозы вакцины («Доза») – фиксированные факторы, отдельные пациенты – случайные. Число степеней свободы представлено как t(df). Апостериорные сравнения (между группами в контрольных точках и между контрольными точками для каждой группы) проводились с помощью построения соответствующих контрастов на основе рассчитанной модели.</p>							

Таблица 15 – Дельта изменений процентного и абсолютного содержания субпопуляций лимфоцитов в крови в группах пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами вакцины

Показатели		Дельта изменений в группах исследования пациентов с ПИД				Между группами <sup>1</sup>
		1 доза (n = 6)		2 дозы (n = 9)		
		Med	95 % CI	Med	95 % CI	
Лейкоциты	Абс.	+58,5	[-1264; 1134]	-152	[-1006; 1142]	p = 0,78
Лимфоциты	%	-3,8	[-9,8; 11,9]	-0,4	[-2,5; 5,1]	p = 0,18
	Абс.	-137	[-721; 793]	-57	[-403; 1136]	p = 0,61
CD3+CD19-	%	<b>+2,9</b>	<b>[0,9; 5,8]</b>	<b>-0,8</b>	<b>[-2,7; 0,1]</b>	<b>p &lt; 0,001</b>
	Абс.	-69	[-535; 692]	-35	[-380; 502]	p = 0,78
CD3-CD19+	%	<b>-1,9</b>	<b>[-3,9; 0,3]</b>	<b>+0,2</b>	<b>[-0,9; 1,4]</b>	<b>p = 0,03</b>
	Абс.	-74	[-145; 51]	-2,9	[-17,5; 39,8]	p = 0,11
CD3+CD4+	%	+0,4	[-4,6; 4,8]	-1,3	[-5,1; 4,3]	p = 0,47
	Абс.	-104	[-172; 176]	-26	[-95; 181]	p = 0,22
CD3+CD8+	%	+0,1	[-6,1; 3,2]	-2,2	[-6,0; 3,6]	p = 0,61
	Абс.	-6,5	[-410; 359]	-35	[-245; 351]	p = 0,95
CD3-CD16/56+	%	-0,2	[-2,7; 2,1]	+0,2	[-1,8; 1,1]	p = 0,79
	Абс.	+7,5	[-77; 45]	-15,9	[-68,7; 61,3]	p = 0,95
ИРИ	Абс.	0	[-0,17; 0,14]	0	[-0,3; 0,2]	p = 0,84

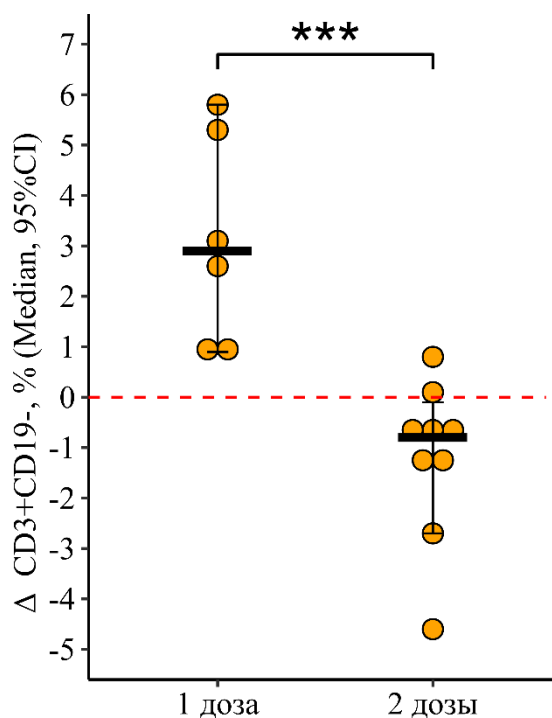
<sup>2</sup> – применялся критерий Манна-Уитни

Выявлено статистически значимое разнонаправленное изменение процентного уровня CD3+CD19- в группах исследования ( $t = -4,4$ ,  $p < 0,001$ ,  $df = 13$ ). Если в группе пациентов, вакцинированных сразу двумя дозами, через месяц после вакцинации данный показатель остаётся без изменений, то в группе пациентов, вакцинированных одной дозой, отмечается статистически значимый рост с 78,3 (73,4-83,5) % до 82,8 (75,6-87,7) % ( $p < 0,001$ ) (рисунок 18). Дельта изменений (разница через месяц и перед вакцинацией) составила в группе с одной дозой +2,9 [0,9; 5,8] %, с двумя дозами -0,8 [-2,7; 0,1] %, различия статистически значимы ( $p < 0,001$ ) (рисунок 19).



\*\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p < 0,01$ ; для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 18 – Содержание субпопуляций лимфоцитов CD3+CD19- в крови пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, медианы и интерквартильный размах)



\* – статистически значимые различия между группами исследования на уровне  $p \leq 0,05$ ;

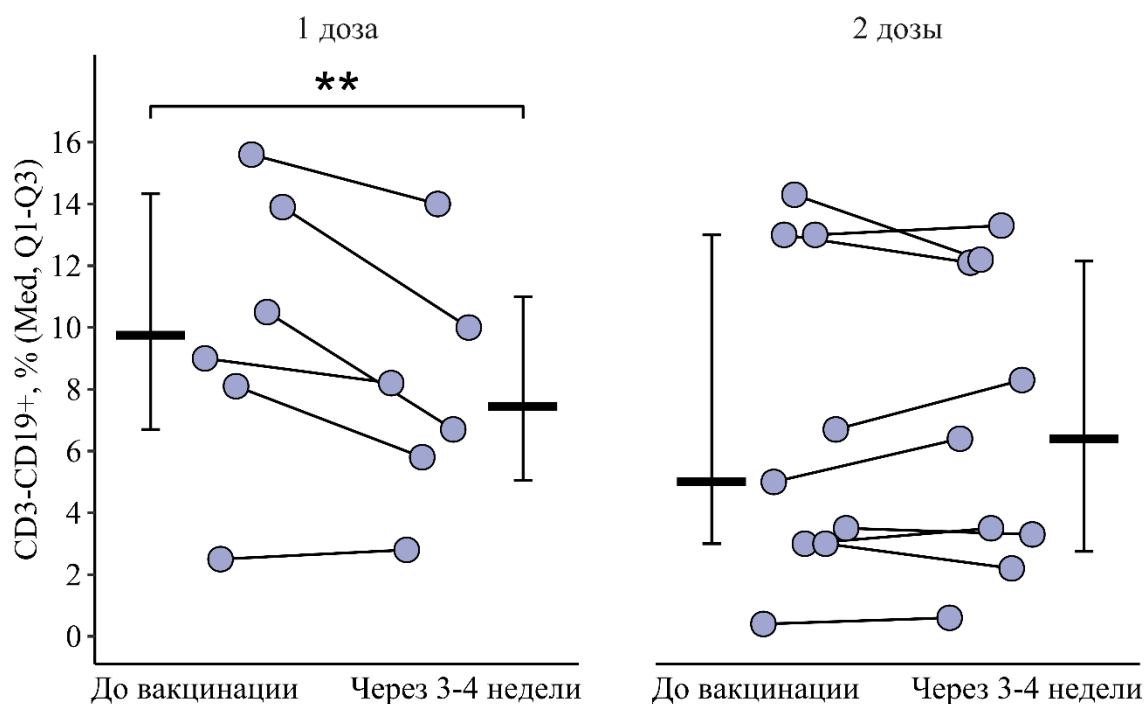
\*\*\* – статистически значимые различия между группами исследования на уровне  $p < 0,001$ ; применялся критерий Манна-Уитни

Рисунок 19 – Дельта (разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) содержания субпопуляций лимфоцитов CD3+CD19- в крови пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и её 95 % доверительный интервал)

Аналогичная ситуация наблюдается для относительной численности CD3-CD19+: выявлена статистически значимая разнонаправленная динамика в группах исследования ( $t = 2,1$ ,  $p = 0,05$ ,  $df = 13$ ). Но, если уровень CD3+CD19- увеличивался в результате вакцинации одной дозой вакцины, то уровень CD3-CD19+, напротив, снижался (рисунок 20). Через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации в группе пациентов, вакцинированных одной дозой вакцины, отмечается снижение процентного содержания CD3-CD19+ с  $9,8$  ( $6,7-14,3$ ) % до  $7,5$  ( $5,1-11,0$ ) % ( $p = 0,009$ ). В группе пациентов, вакцинированных двумя дозами, подобных изменений выявлено не было. Дельта изменений (разница через  $24 \pm 3$  дня и перед вакцинацией) процентного содержания CD3-CD19+ составила в группе с одной

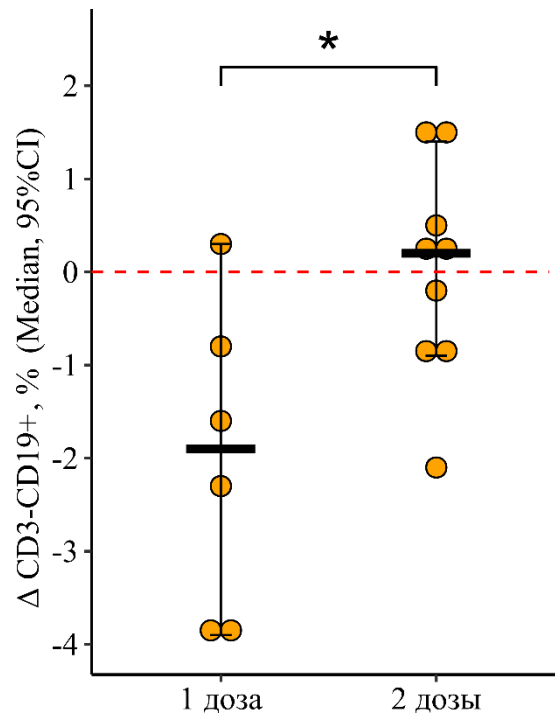


дозой -1,9 [-3,9; 0,3] %, с двумя дозами – +0,2 [-0,9; 1,4] %, различия статистически значимы ( $p = 0,03$ ) (рисунок 21).



\*\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p < 0,01$ , для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 20 – Содержание субпопуляций лимфоцитов CD3 CD19+ в крови пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, медианы и интерквартильный размах)



\* – статистически значимые различия между группами исследования на уровне  $p \leq 0,05$ ; применялся критерий Манна-Уитни

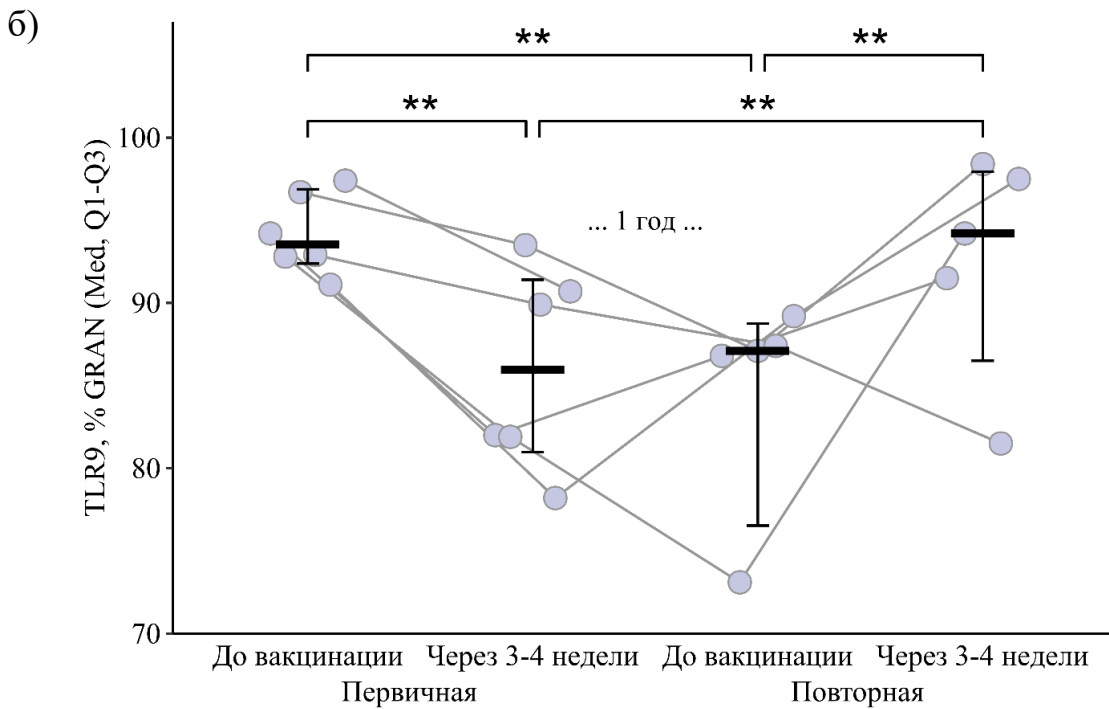
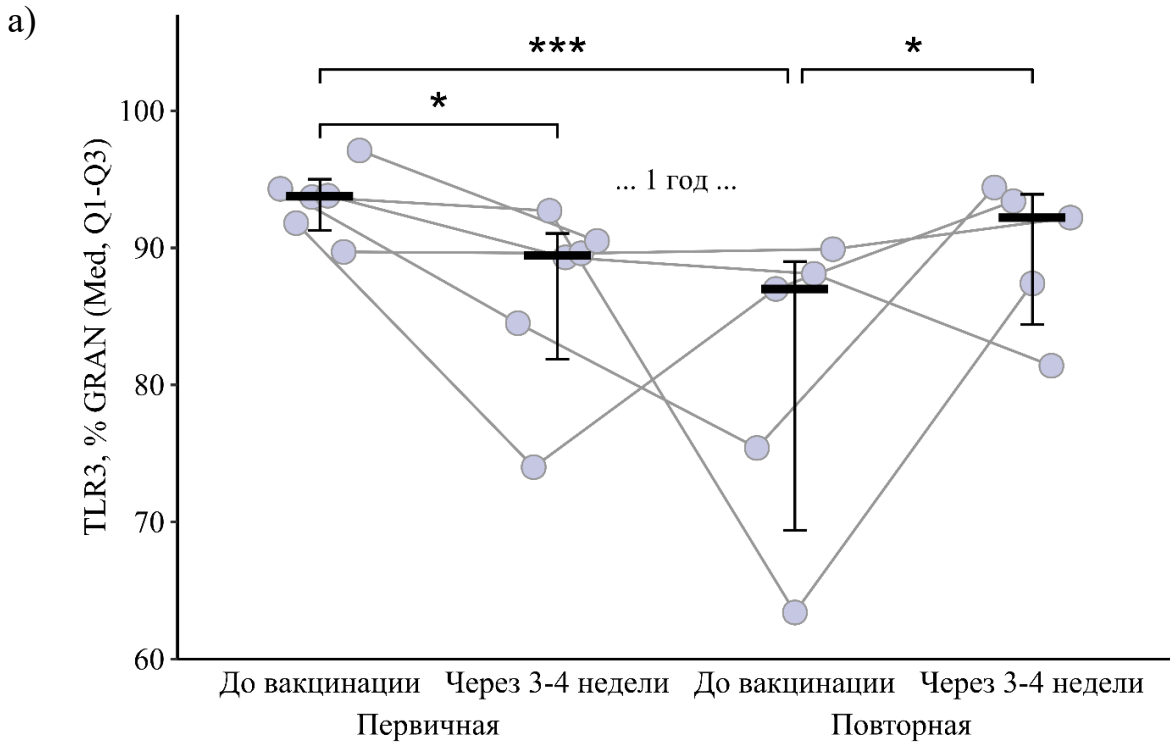
Рисунок 21 – Дельта (разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) содержания субпопуляций лимфоцитов CD3-CD19+ в крови пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и её 95 % доверительный интервал)

### 3.4. Характеристика эндосомальных Толл-подобных рецепторов на иммунокомпетентных клетках у вакцинированных против гриппа пациентов с ОВИН

#### 3.4.1. Влияние вакцин против гриппа на содержание TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 у пациентов с ОВИН, привитых первично и повторно через год одной дозой четырехвалентной вакцины

##### 3.4.1.1. Гранулоциты

Доля гранулоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, после первичной вакцинации снизилась статистически значимо – с 93,8 (91,3-95,0) % до 89,5 (81,9-91,1) % ( $p = 0,03$ ) и с 93,6 (92,4-96,9) % до 86,0 (81,0-91,4) % ( $p = 0,001$ ), соответственно. Через год после проведения первичной вакцинации данные показатели оставались по-прежнему статистически значимо ниже исходных значений: 87,0 (69,4-89,0) % для TLR3 ( $p < 0,001$ ) и 87,1 (80,0-88,3) % для TLR9 ( $p = 0,001$ ). После повторной вакцинации через год после первичной отмечался статистически значимый прирост процентного содержания гранулоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, относительно показателей до ревакцинации – до 92,2 (84,4-93,9) % для TLR3 ( $p = 0,02$ ) и 94,2 (86,5-98,0) % для TLR9 ( $p = 0,001$ ). Таким образом, доля гранулоцитов, экспрессирующих TLR3, стала сопоставима с исходным уровнем до первичной вакцинации ( $p = 0,30$ ) (рисунок 22 а), а процентное содержание гранулоцитов, экспрессирующих TLR9, стало сопоставимо с исходным уровнем ( $p = 0,76$ ) и статистически значимо выше уровня после первичной вакцинации ( $p = 0,001$ ) (рисунок 22 б).



. различия между разными этапами вакцинации на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )

\* статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$

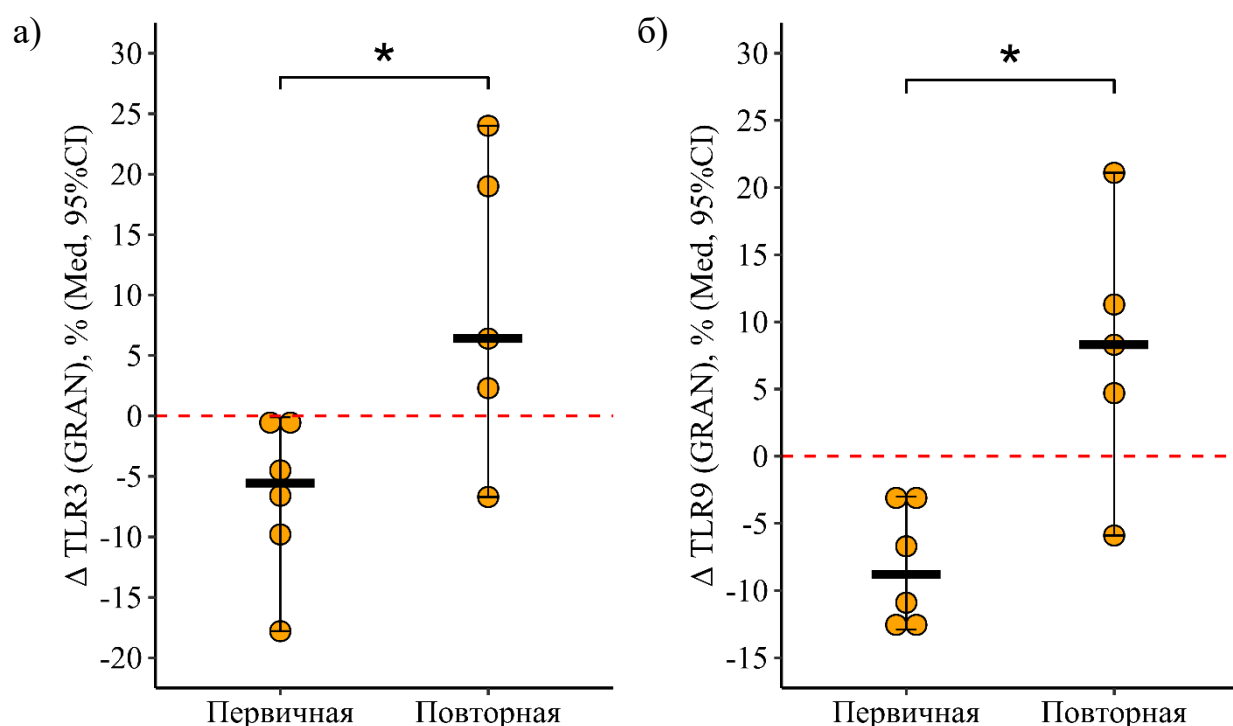
\*\* статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,01$

\*\*\* статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,001$

Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 22 – Процентное содержание гранулоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, у пациентов с ПИД на разных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и интерквартильный размах)

Таким образом, в результате вакцинации и ревакцинации доля гранулоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, относительно исходного уровня статистически значимо не изменилась. Однако, стоит отметить разный характер изменений данных показателей после первичной и повторной вакцинации: снижение после первичной вакцинации (-5,6 [-17,8; -0,1] % для TLR3 и -8,8 [-12,9; -3] % для TLR9) и рост после повторной (+6,4 [-6,7; +24] % для TLR3 и +8,3 [-5,9; +21,1] % для TLR9),  $p = 0,04$  и  $p = 0,02$ , соответственно, по сравнению с изменениями после первичной вакцинации)) (рисунок 23 а, б).



\* – статистически значимые различия между изменениями после первичной и повторной вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$

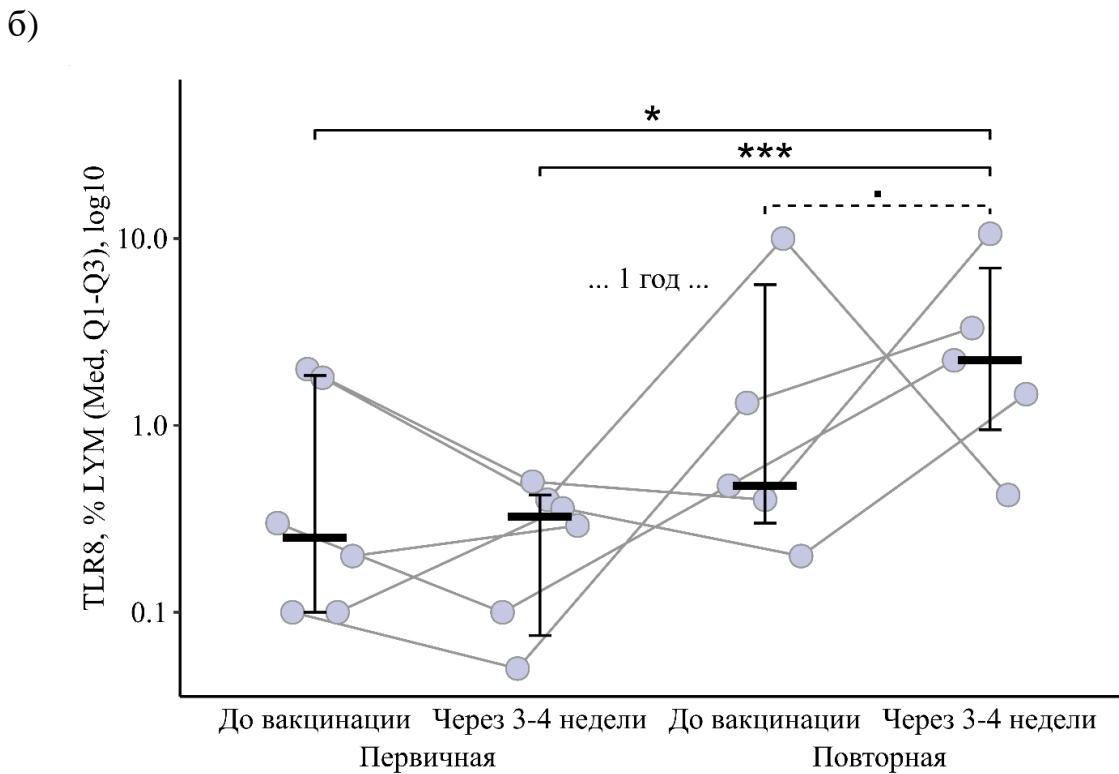
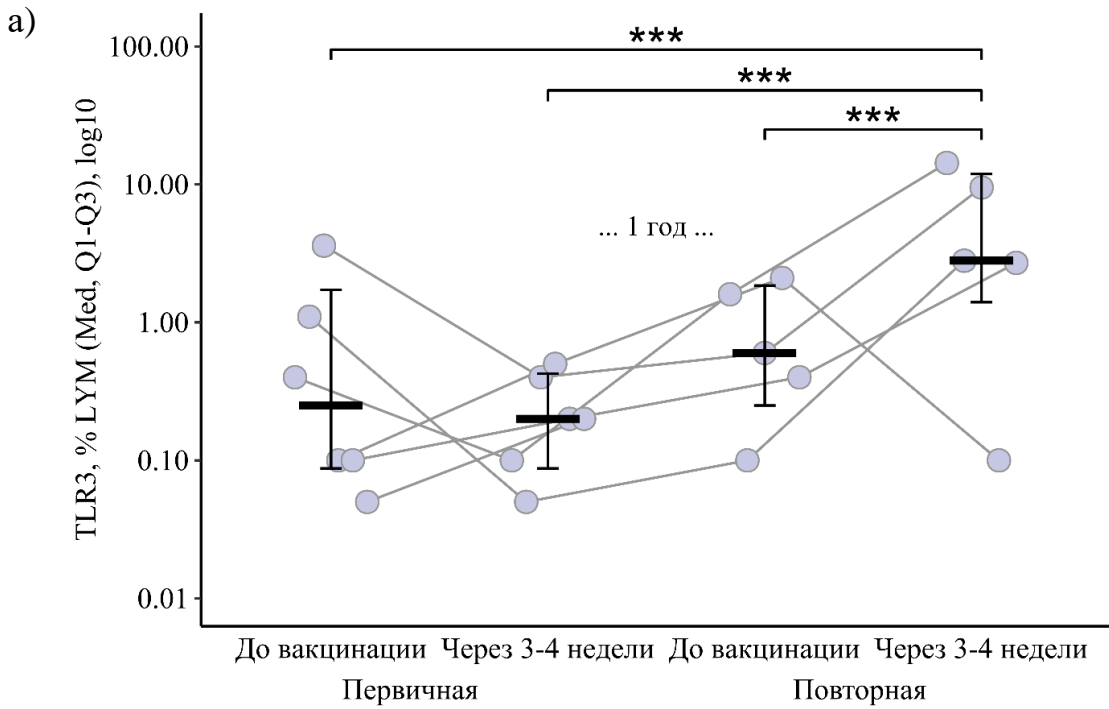
Применялся критерий Манна-Уитни

Рисунок 23 – Дельта ( $\Delta$  – разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) процентного содержания гранулоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, у пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и ее 95 % доверительный интервал)

Процентное содержание гранулоцитов, экспрессирующих TLR8, не показало статистически значимых изменений в ходе вакцинации и ревакцинации и составляло 93,7 (85,2-96,0) % исходно и 89,4 (88,2-93,0) % через  $24 \pm 3$  дня после ревакцинации.

#### 3.4.1.2. Лимфоциты

Процентное содержание лимфоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR8, демонстрирует схожую между собой динамику: отсутствие изменений после первичной вакцинации ( $p = 0,51$  для TLR3 и  $p = 0,41$  для TLR8) и рост после повторной вакцинации (рисунок 24 а, б). В результате повторной вакцинации доля лимфоцитов, экспрессирующих TLR3, выросла до 2,80 (1,4-11,90) % на 2,7 [-1,04; +12,7] % относительно уровня до ревакцинации (с 0,60 (0,25-1,85) %,  $p < 0,001$ )) и на 2,6 [0; +13,9] % относительно исходного уровня (с 0,25 (0,09-1,73) %,  $p < 0,001$ )). Доля лимфоцитов, экспрессирующих TLR8, выросла до 2,23 (0,95-6,96) %, на +1,8 [-9,6; +10,2] % относительно уровня до повторной вакцинации (с 0,48 (0,30-5,66) %,  $p = 0,08$ )) и на +1,9 [-1,4; +8,6] % относительно исходного уровня (с 0,25 (0,10-1,85) %,  $p = 0,02$ )).



. – различия между разными этапами вакцинации на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )

\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$

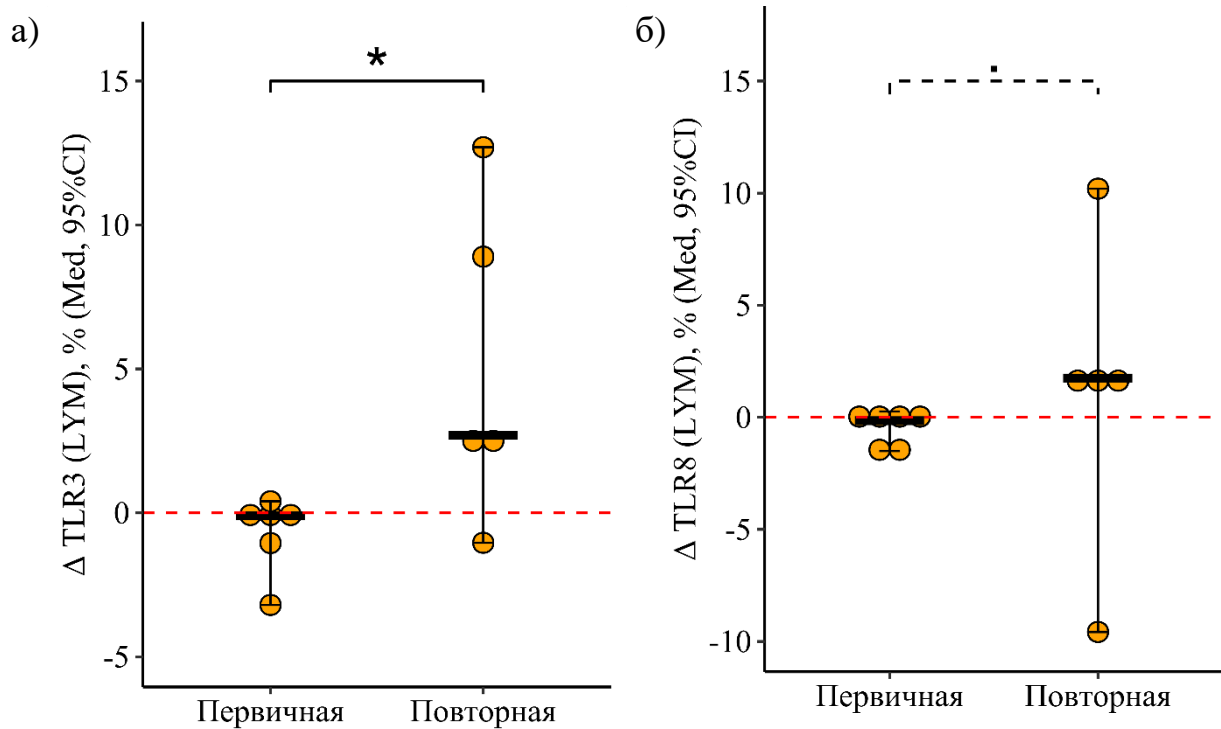
\*\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,01$

\*\*\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,001$

Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 24 – Процентное содержание лимфоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR8, у пациентов с ПИД на разных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и интерквартильный размах)

Таким образом, характер изменений доли лимфоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR8 после первичной и после повторной вакцинации различается ( $p = 0,05$  для TLR3 и  $p = 0,08$  для TLR8), а именно наблюдается отсутствие изменений после первичной вакцинации и прирост после повторной (рисунок 25 а, б).



. – различия между изменениями после первичной и повторной вакцинации на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )

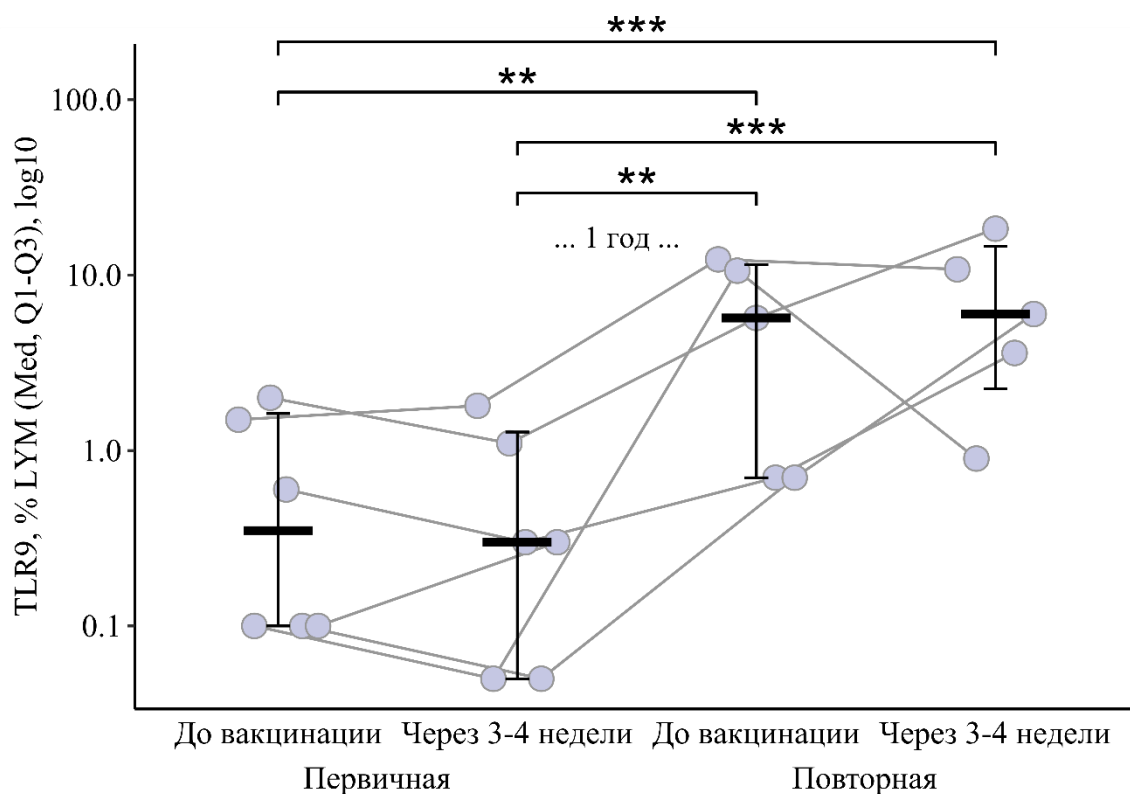
\* – статистически значимые различия между изменениями после первичной и повторной вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$

Применялся критерий Манна-Уитни

Рисунок 25 – Дельта ( $\Delta$  – разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) процентного содержания лимфоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR8, у пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и ее 95 % доверительный интервал)



Процент лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, демонстрирует несколько другую динамику – отсутствие изменений после первичной вакцинации через  $24 \pm 3$  дня (0,35 (0,10-1,63) % до вакцинации, 0,30 (0,05-1,28) % через  $24 \pm 3$  дня,  $p = 0,79$ ), но статистически значимый рост через год (на  $+5,9$  [ $+0,8$ ;  $+16,4$ ] % до 5,70 (0,70-11,45) %,  $p = 0,01$  по сравнению с исходным уровнем)) (рисунок 26, рисунок 27). После повторной вакцинации доля лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, статистически значимо не изменилась (6,00 (2,25-14,60) %,  $p = 0,15$  относительно уровня до ревакцинации)) и осталась выше исходного уровня ( $p < 0,001$ ).



. – различия между разными этапами вакцинации на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )  
 \* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$   
 \*\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,01$   
 \*\*\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,001$   
 Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 26 – Процентное содержание лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, у пациентов с ПИД на разных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и интерквартильный размах)

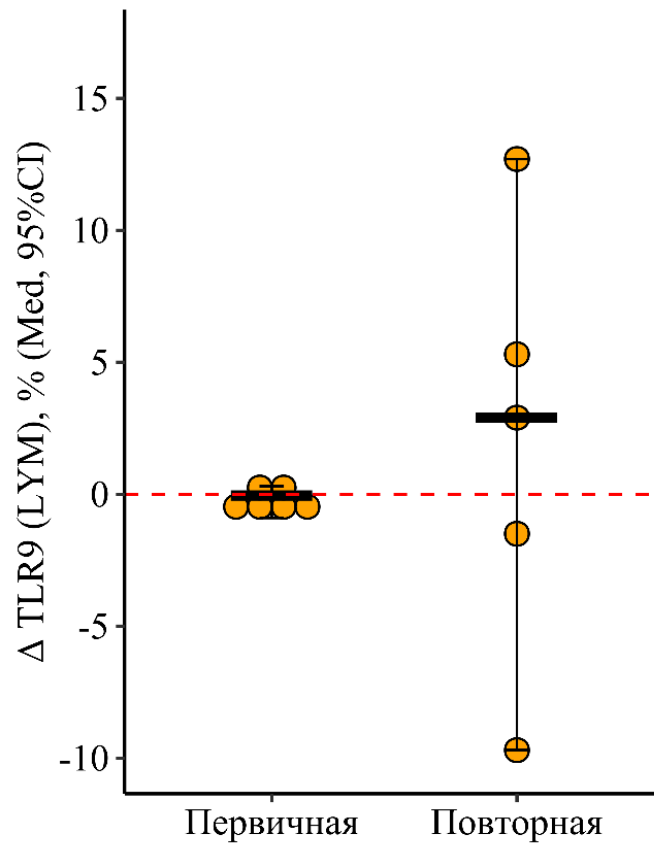
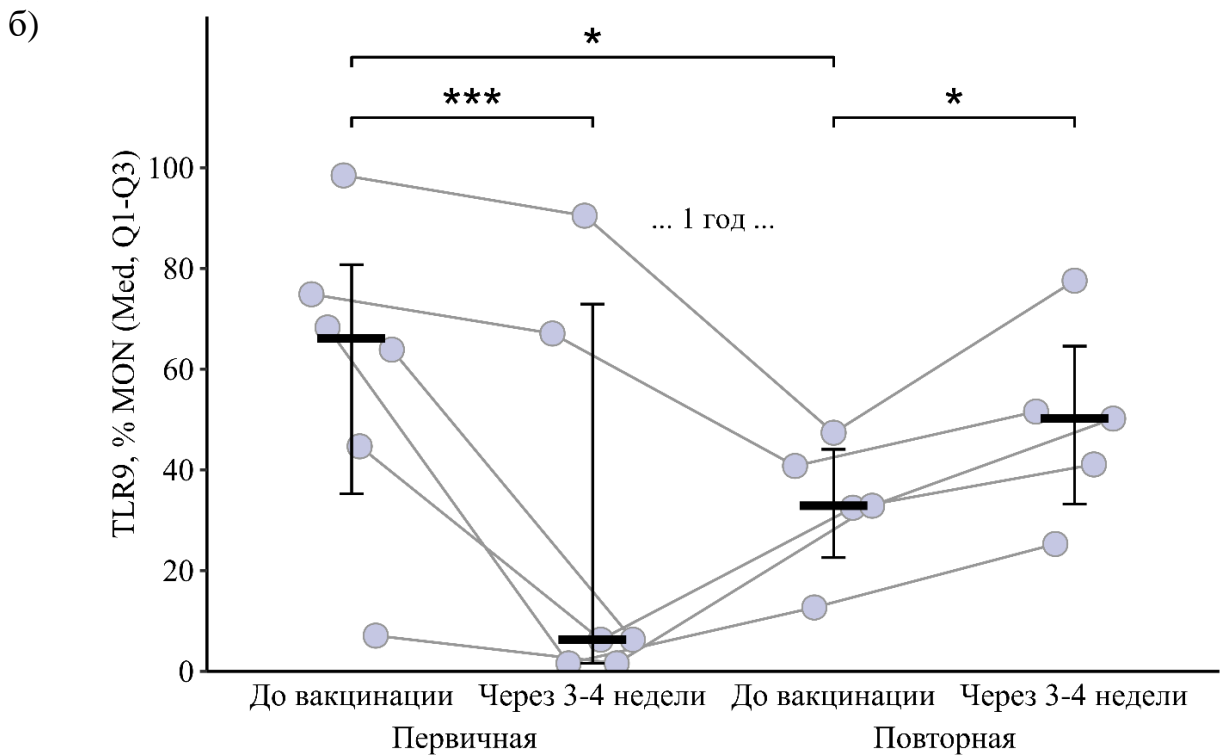
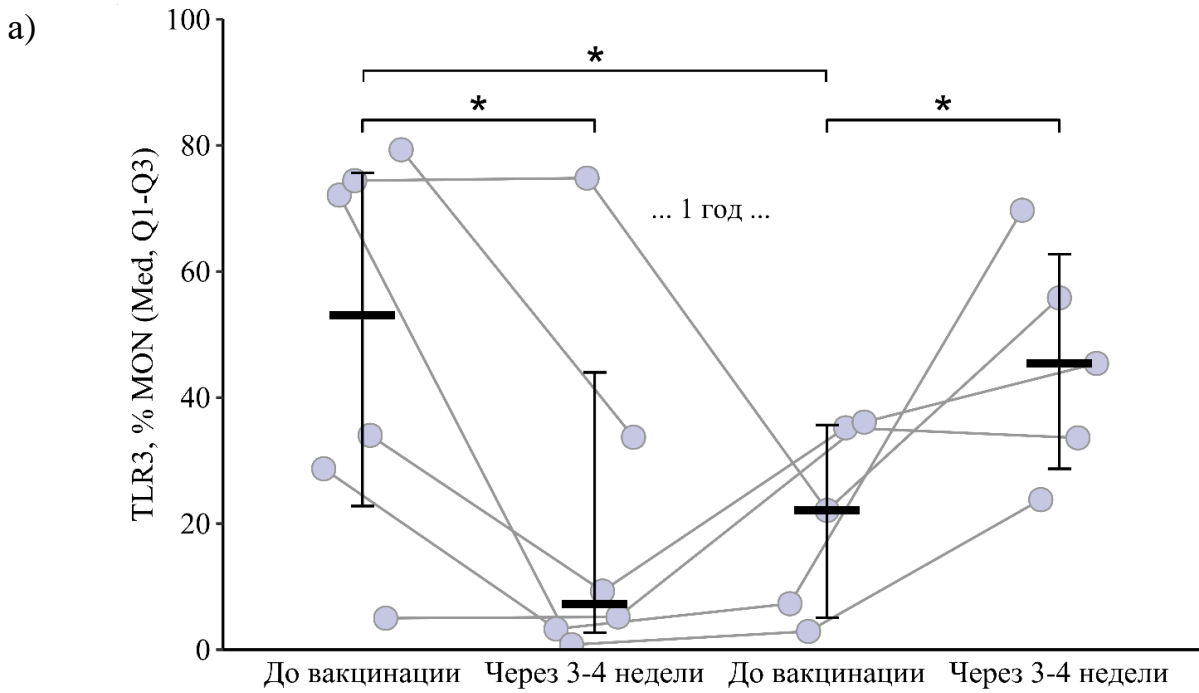


Рисунок 27 – Дельта ( $\Delta$  – разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) процентного содержания лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, у пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и ее 95 % доверительный интервал)

## 3.4.1.3. Моноциты

Доля моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, после первичной вакцинации снизилась статистически значимо: на  $-25,1 [-71,3; +0,4]$  % с  $53,1 (22,8-75,6)$  % до  $7,3 (2,7-44,0)$  % для TLR3 ( $p = 0,01$ ) и на  $-23,2 [-66,7; -5,5]$  % с  $66,1 (35,3-80,8)$  % до  $6,3 (1,6-73,0)$  % для TLR9 ( $p < 0,001$ ). Через год после первичной вакцинации доля моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, несколько выросла (до  $22,1 (5,1-35,7)$  % для TLR3 и до  $32,9 (22,6-44,1)$  % для TLR9), но по-прежнему оставалась ниже исходного уровня ( $p = 0,05$  и  $p = 0,04$ , соответственно). Статистически значимый рост отмечался после повторной вакцинации (относительно уровня до ревакцинации): на  $+20,9 [-1,6; +62,4]$  % до  $45,4 (28,7-62,8)$  % ( $p = 0,04$ ) для TLR3 и на  $+12,6 [8,6; +30,2]$  % до  $50,2 (33,2-64,6)$  % для TLR9 ( $p = 0,05$ ). В результате прироста после повторной вакцинации процентное содержание моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, стало сопоставимо с исходным уровнем ( $p = 0,89$  для TLR3 и  $p = 0,40$  для TLR9) (рисунок 28 а, б).

Доля моноцитов, экспрессирующих TLR8, также снижалась через  $24 \pm 3$  дня после первичной вакцинации: на  $-34,9 [-78,7; +1,6]$  % с  $67,5 (13,9-87,4)$  % до  $7,4 (4,6-24,7)$  %,  $p < 0,001$ . Но через год после вакцинации (до проведения повторной) отмечался рост данного показателя до  $41,9 (25,4-58,2)$  % ( $p = 0,07$  относительно уровня после первичной вакцинации), в результате чего данный показатель стал сопоставим с исходным уровнем ( $p = 0,42$ ). Через  $24 \pm 3$  дня после повторной вакцинации доля моноцитов, экспрессирующих TLR9, составила  $55,6 (42,3-60,9)$  %; не было выявлено значимых изменений относительно уровня до ревакцинации ( $p = 0,82$ ), показатель остался сопоставим с исходным уровнем ( $p = 0,82$ ) и статистически значимо превышал значения показателя после первичной вакцинации ( $p = 0,02$ ) (рисунок 29).



. – различия между разными этапами вакцинации на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )

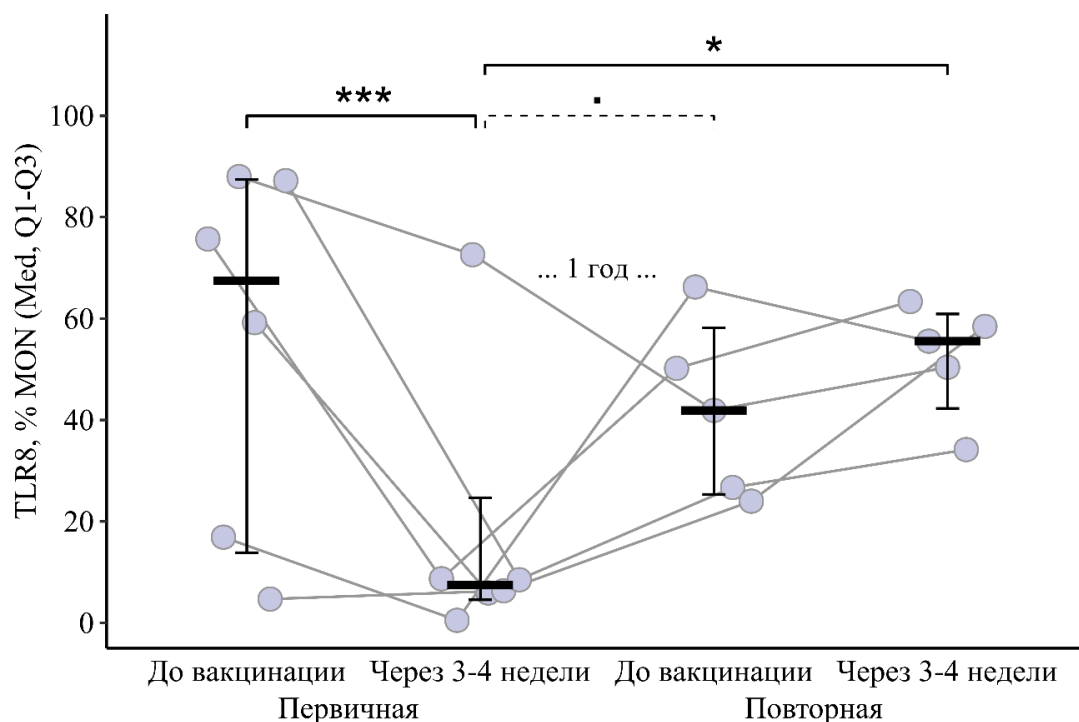
\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$

\*\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,01$

\*\*\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,001$

Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

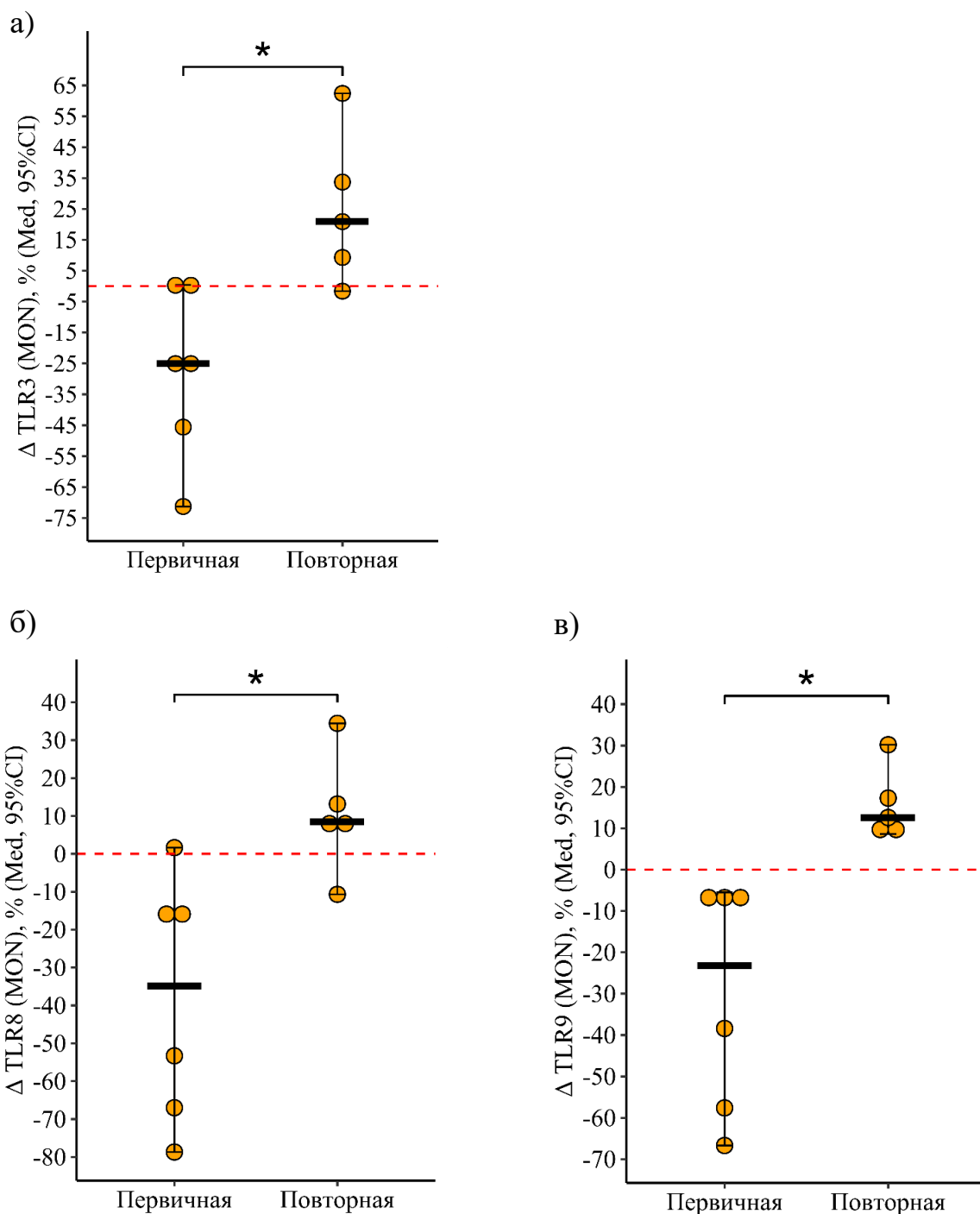
Рисунок 28 – Процентное содержание моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, у пациентов с ПИД на разных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и интерквартильный размах)



. – различия между разными этапами вакцинации на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )  
 \* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$   
 \*\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,01$   
 \*\*\* – статистически значимые различия между разными этапами вакцинации на уровне  $p < 0,001$   
 Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 29 – Процентное содержание моноцитов, экспрессирующих TLR8, у пациентов с ПИД на разных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и интерквартильный размах)

Стоит отметить статистически значимый разнонаправленный характер изменений после первичной и после повторной вакцинации для всех рассматриваемых TLRs на моноцитах ( $p = 0,02$  для TLR3,  $p = 0,01$  для TLR8 и  $p = 0,006$  для TLR9), а именно снижение после первичной вакцинации и прирост (либо отсутствие изменений, как в случае с TLR8) после повторной вакцинации (рисунок 30 а, б, в).



. – различия между изменениями после первичной и повторной вакцинации на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )

\* – статистически значимые различия между изменениями после первичной и повторной вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$

Применялся критерий Манна-Уитни

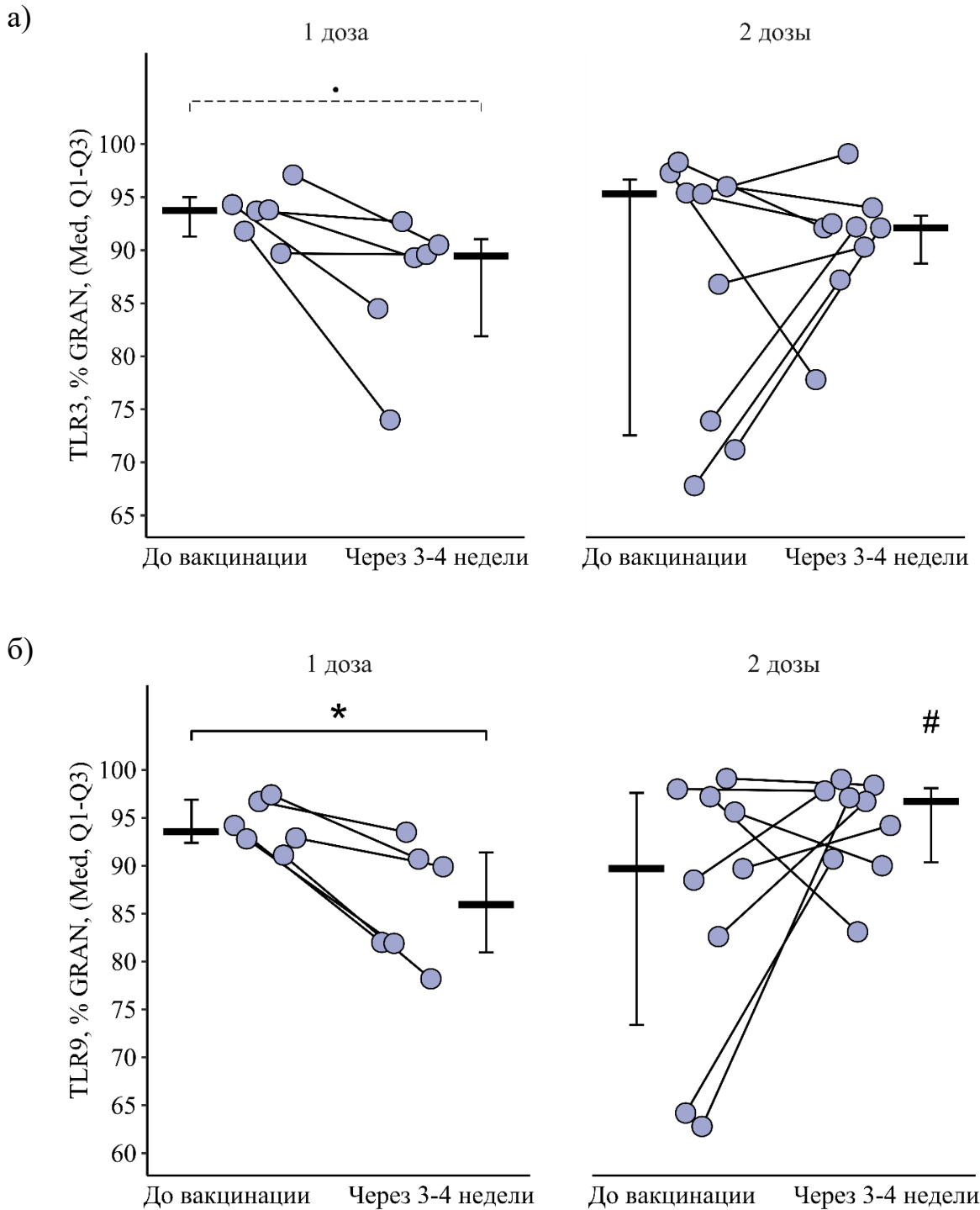
Рисунок 30 – Дельта ( $\Delta$  – разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) процентного содержания моноцитов, экспрессирующих TLR3, TLR8 и TLR9, у пациентов с ПИД, вакцинированных одной дозой вакцины, на различных этапах вакцинации (приведены индивидуальные значения, медиана и ее 95 % доверительный интервал)

### 3.4.2. Влияние вакцин против гриппа на содержание ТЛР3, ТЛР8, ТЛР9 у пациентов с ОВИН, привитых одной и двумя (одномоментно) дозами

#### 3.4.2.1. Гранулоциты

После вакцинации одной дозой отмечается статистически значимое снижение доли гранулоцитов, экспрессирующих ТLR9, с 93,6 (92,4-96,9) % до 86,0 (81,0-91,4) % ( $p = 0,05$ ) и на пограничном уровне значимости, экспрессирующих ТLR 3, с 93,8 (91,3-95,0) % до 89,5 (81,9-91,1) % ( $p = 0,08$ ). После вакцинации двумя дозами подобных изменений выявлено не было (рисунок 31 а, б).

Вследствие описанных выше изменений, через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации двумя дозами доля гранулоцитов, экспрессирующих ТLR9, была статистически значимо выше, чем при вакцинации одной дозой – 96,7 (90,4-98,1) % против 86,0 (81,0 91,4) % ( $p = 0,02$ ). Дельта изменения доли гранулоцитов (относительно исходного уровня), экспрессирующих ТLR3 и ТLR9, составила соответственно 5,6 [-9,8; -1,0] % и -8,8[-12,2; -3,2] % при вакцинации одной дозой и +3,5 [-2,9; +19,4] % и +4,5[-0,7; +26,5] % при вакцинации двумя дозами ( $p = 0,11$  для ТLR3 и  $p = 0,03$  для ТLR9 при сравнении с одной дозой) (рисунок 32 а, б).



# – статистически значимые различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне  $p \leq 0,05$

. # – различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )

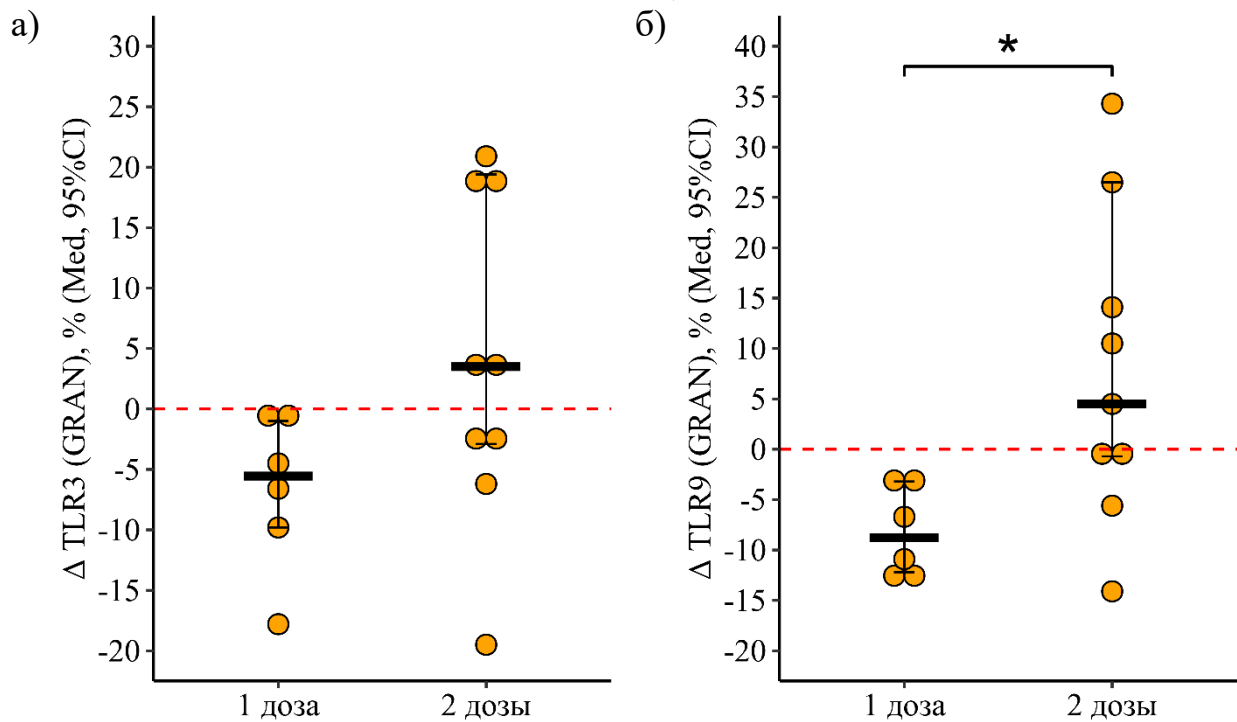
\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$

\*\*\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p < 0,001$

Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 31 – Процентное содержание гранулоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, у пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, медианы и интерквартильный размах)





\* – статистически значимые различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне  $p \leq 0,05$   
Применялся критерий Манна-Уитни

Рисунок 32 – Дельта ( $\Delta$  – разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) процентного содержания гранулоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, у пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами (приведены индивидуальные значения, медиана и её 95 % доверительный интервал)

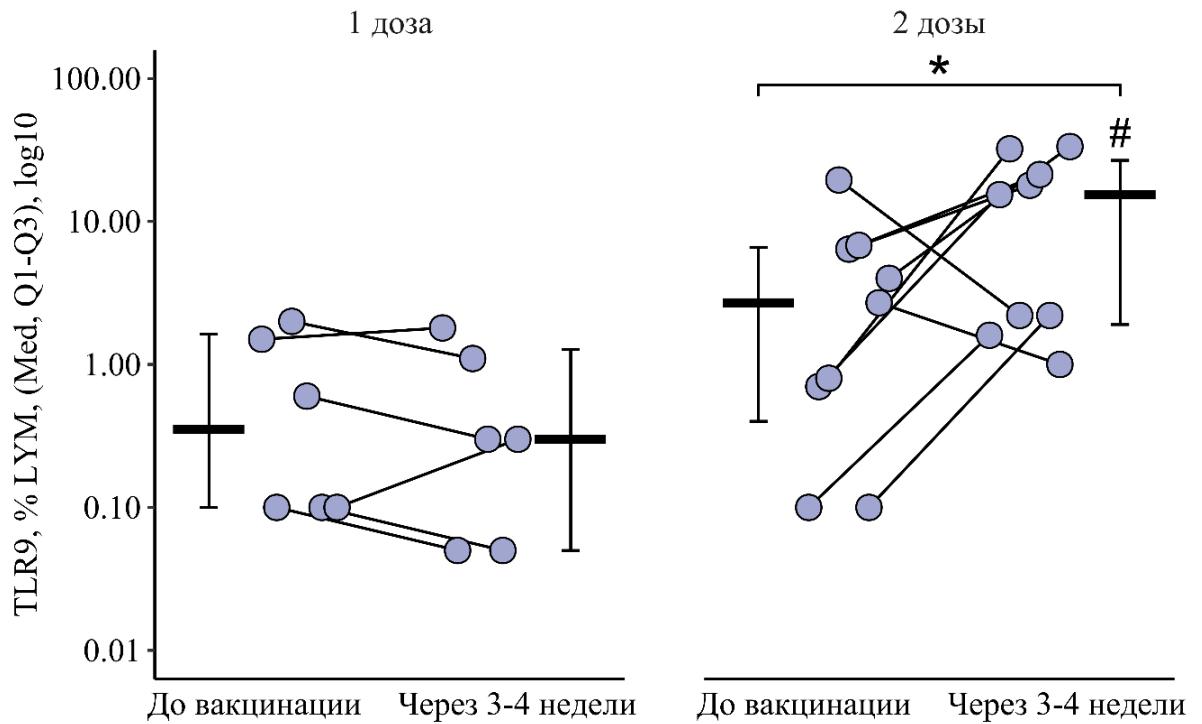
Процентный уровень гранулоцитов, экспрессирующих TLR8, статистически значимо не меняется вследствие вакцинации ( $t(13) = -1,2$ ,  $p = 0,25$ ) и не зависит от количества доз ( $t(20) = 0,9$ ,  $p = 0,36$ ), показывая сопоставимую динамику для одной и двух доз ( $t(13) = 0,5$ ,  $p = 0,66$ ). Данный показатель составлял (до и после вакцинации, соответственно) 93,7 (85,2-96,0) % и 88,9 (85,7-91,0) % при вакцинации одной дозой, 94,5 (82,7-99,1) % и 89,8 (84,8-97,9) % при вакцинации двумя дозами.

## 3.4.2.2. Лимфоциты

После вакцинации двумя дозами отмечался статистически значимый прирост доли лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, с 2,70 (0,40-6,60) % до 15,40 (1,90-26,75) % ( $p = 0,02$ ). После вакцинации одной дозой подобных изменений выявлено не было. В результате данного прироста, через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации двумя дозами, доля лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, была выше, чем после вакцинации одной дозой – 15,40 (1,90-26,75) % против 0,30 (0,05-1,28) % ( $p < 0,001$ ) (рисунок 33).

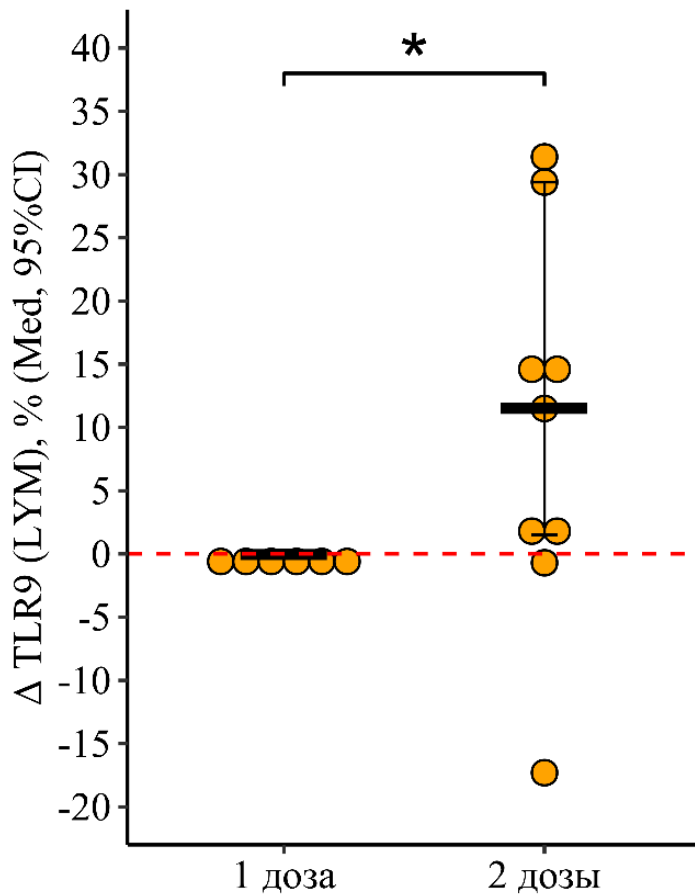
Изменение доли лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, в результате вакцинации двумя дозами составило +11 [+1,5; +29,4] %, а в результате вакцинации одной дозой – 0,1 [0,3; +0,3] %, различия статистически значимы ( $p = 0,05$ ) (рисунок 34).

Процентный уровень лимфоцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR8, в результате вакцинации статистически значимо не изменился ( $t(13) = -1,0$ ,  $p = 0,32$  и  $t(13) = -0,7$ ,  $p = 0,50$ , соответственно), не зависел от дозы ( $t(24) = 0,5$ ,  $p = 0,60$  и  $t(26) = 0,8$ ,  $p = 0,42$ ) и показывал сопоставимую динамику для одной и двух доз ( $t(13) = 1,5$ ,  $p = 0,16$  и  $t(13) = 0,2$ ,  $p = 0,84$ ). Доля лимфоцитов, экспрессирующих TLR3, составляла (для одной и двух доз соответственно) 0,25 (0,09-1,73) % и 0,60 (0,06-2,95) % до вакцинации, 0,20 (0,09-0,43) % и 0,80 (0,35-3,45) % после вакцинации. Доля лимфоцитов, экспрессирующих TLR8, составляла (для одной и двух доз соответственно) 0,25 (0,10-1,85) % и 1,30 (0,45-5,60) % до вакцинации и 0,33 (0,08-0,43) % и 0,20 (0,10-2,60) % после вакцинации.



# – статистически значимые различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне  $p \leq 0,05$   
 . # – различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )  
 \* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$   
 Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 33 – Процентное содержание лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, у пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, медианы и интерквартильный размах)



\* – статистически значимые различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне  $p \leq 0,05$ . Применялся критерий Манна-Уитни

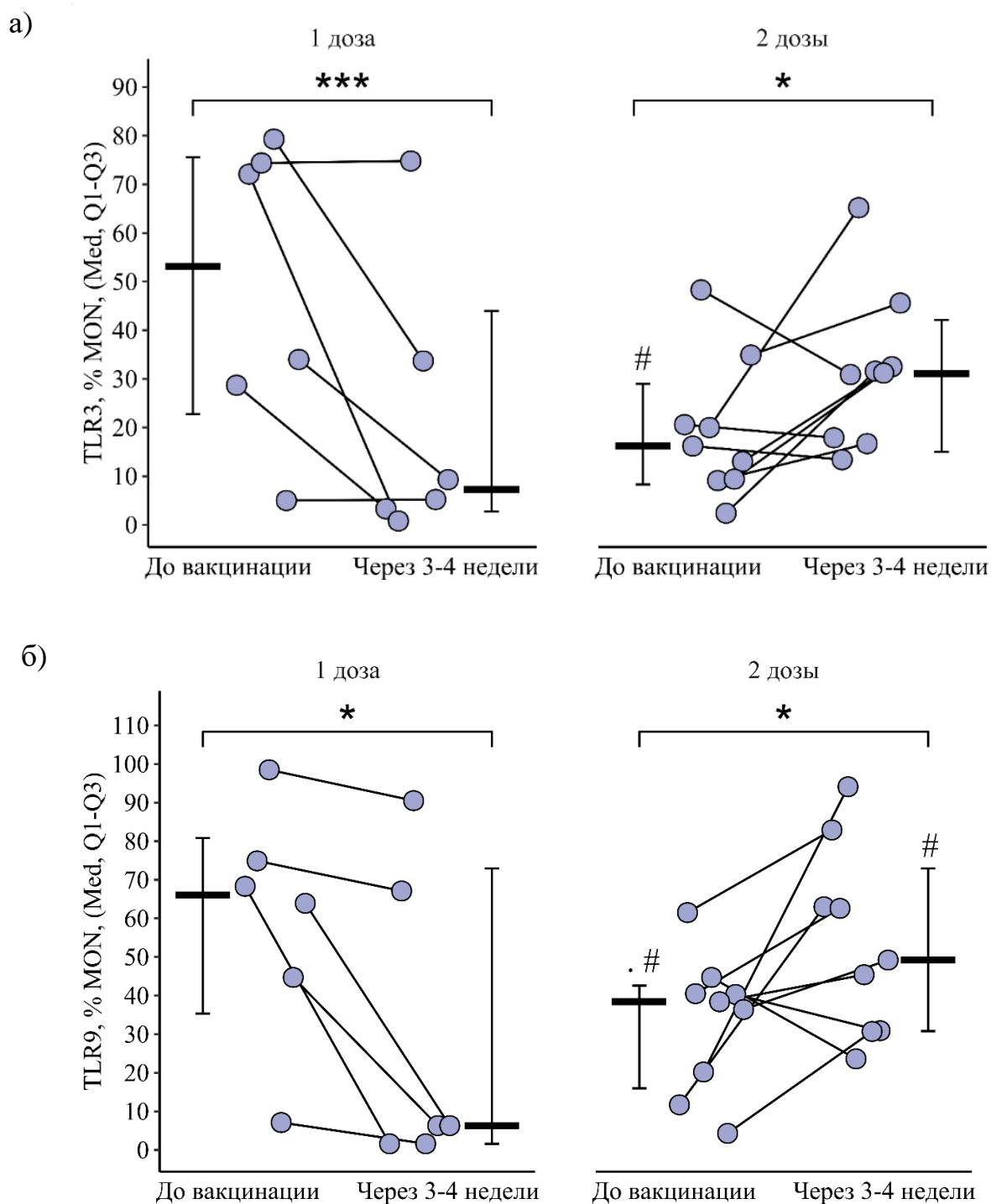
Рисунок 34 – Дельта ( $\Delta$  – разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) процентного содержания лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, у пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами (приведены индивидуальные значения, медиана и её 95 % доверительный интервал)

#### 3.4.2.3. Моноциты

После вакцинации отмечалось статистически значимое разнонаправленное изменение доли моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, в зависимости от числа доз ( $t(13) = 3,8, p = 0,002$  для TLR3,  $t(13) = 3,4, p = 0,005$  для TLR9) (рисунок 35 а, б).

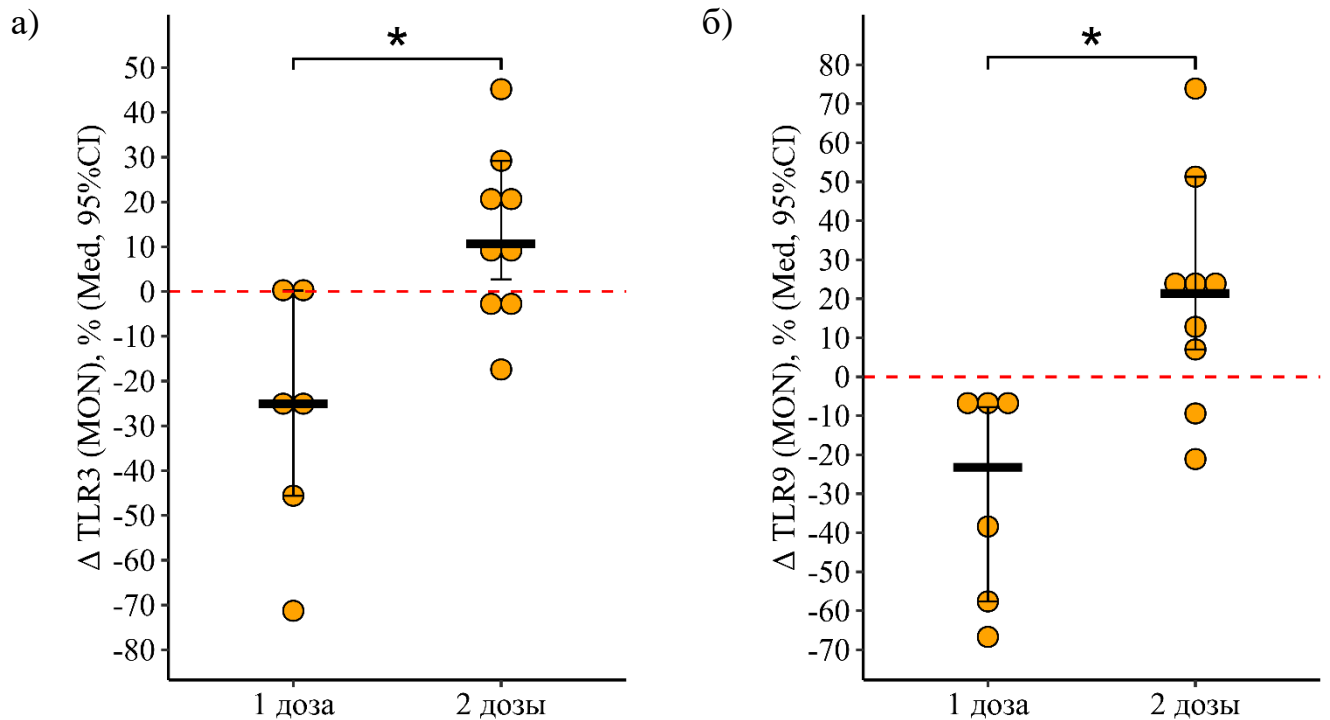
Если в результате вакцинации двумя дозами отмечался прирост данных показателей, то в результате вакцинации одной дозой, напротив, отмечалось статистически значимое снижение. В результате вакцинации двумя дозами исходной уровень моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, вырос на +10,7 [2,7; +29,2] % с 16,2 (9,3-27,8) % до 31,2 (17,3-39,1) % ( $p = 0,05$ ) и на 21,4 [+7,0; +51,3] % с 38,4 (16,0-42,6) % до 49,2 (30,8-73,0) % ( $p = 0,04$ ), соответственно, в то время как после вакцинации одной дозой снижение данных показателей составило 25,1 [45,6; +0,2] % с 53,1 (22,8-75,6) % до 7,3 (2,7-44,0) % ( $p < 0,001$  для TLR3) и на 23,3 [57,6; 7,8] % с 66,1 (35,3-80,8) % до 6,3 (1,6-73,0) % ( $p = 0,01$  для TLR9). Интенсивность изменения доли моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, в результате вакцинации между группами с одной и двумя дозами различается статистически значимо ( $p = 0,01$  в обоих случаях) (рисунок 36 а, б).

При этом стоит отметить, что в группе с двумя дозами вакцины исходный уровень моноцитов, экспрессирующих TLR3, был ниже, чем в группе с одной дозой – 16,2 (9,3-27,8) % против 53,1 (22,8-75,6) % ( $p = 0,01$ ). Аналогичная картина наблюдалась и для TLR9: 38,4 (16,0-42,6) % против 66,1 (35,3-80,8) % ( $p = 0,07$  – пограничный уровень значимости). Но, в результате вакцинации двумя дозами доля моноцитов, экспрессирующих TLR3, стала сопоставимой с уровнем после вакцинации одной дозой – 31,2 (17,3-39,1) % и 7,3 (2,7-44,0) %, соответственно ( $p = 0,16$ ), а доля моноцитов, экспрессирующих TLR9, после вакцинации стала выше в группе с двумя дозами, по сравнению с группой с одной дозой – 49,2 (30,8-73,0) % против 6,3 (1,6-73,0) % ( $p = 0,05$ ).



# – статистически значимые различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне  $p \leq 0,05$   
 . # – различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне тенденции ( $p < 0,10$ )  
 \* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p \leq 0,05$   
 \*\*\* – статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p < 0,001$ ,  
 Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

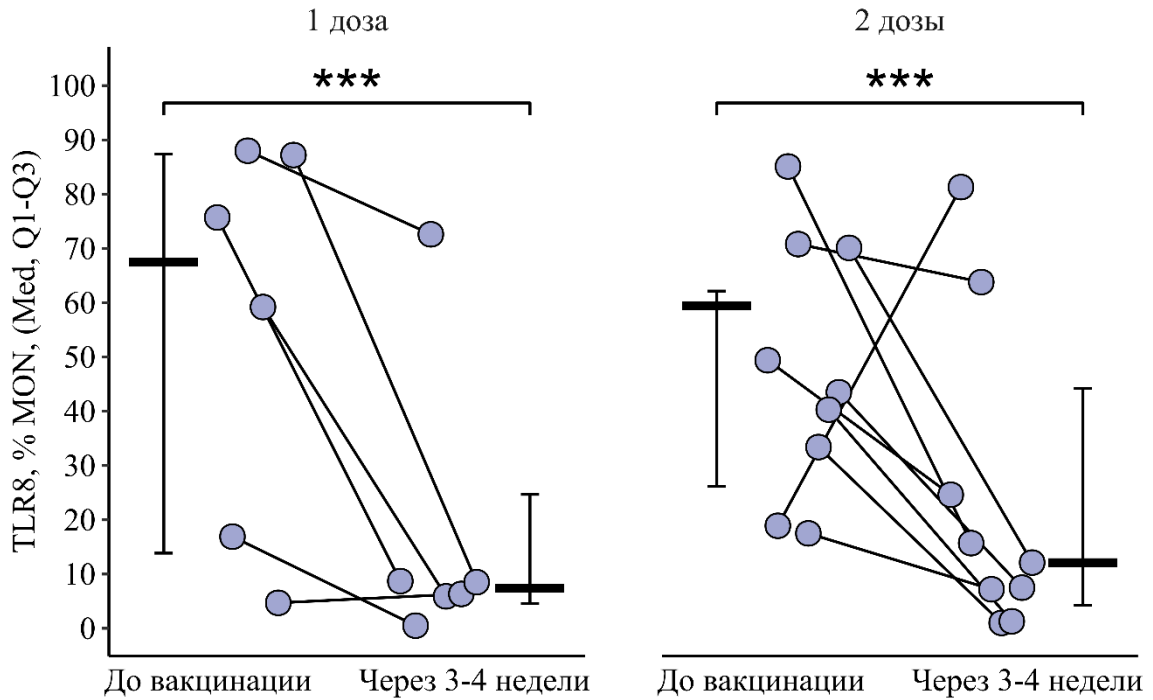
Рисунок 35 – Процентное содержание моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, у пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, медианы и интерквартильный размах)



\* – статистически значимые различия между привитыми одной и двумя дозами на уровне  $p \leq 0,05$   
Применялся критерий Манна-Уитни

Рисунок 36 – Дельта ( $\Delta$  – разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) процентного содержания моноцитов, экспрессирующих TLR3 и TLR9, у пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами (приведены индивидуальные значения, медиана и её 95 % доверительный интервал)

Изменение уровня моноцитов, экспрессирующих TLR8, не зависит от числа доз ( $t(25) = -0,8$ ,  $p = 0,41$ ) и показывает согласованную динамику для одной и двух доз ( $t(13) = 0,7$ ,  $p = 0,52$ ), но при этом зависит от самого факта вакцинации ( $t(13) = -3,5$ ,  $p = 0,004$ ). В результате вакцинации и одной, и двумя дозами доля моноцитов, экспрессирующих TLR8, снизилась статистически значимо – на  $34,9 [-67,0; -15,4] \%$  с  $67,5 (13,9-87,4) \%$  до  $7,4 (4,6-24,7) \%$  ( $p < 0,001$ ) в группе с одной дозой и на  $39,0 [-58,3; -10,3] \%$  с  $59,4 (26,2-62,2) \%$  до  $7,2 (1,5-23,1) \%$  в группе с двумя дозами (рисунок 37).



\*\*\*– статистически значимые различия до и после вакцинации на уровне  $p < 0,001$   
 Для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов

Рисунок 37 – Процентное содержание моноцитов, экспрессирующих TLR8, у пациентов с ПИД в зависимости от схемы первичной вакцинации исходно и через  $24 \pm 3$  дня (приведены индивидуальные значения, медианы и интерквартильный размах)

Интенсивность снижения между группами с одной и двумя дозами статистически значимо не различалась ( $p = 0,96$ ) (рисунок 38).



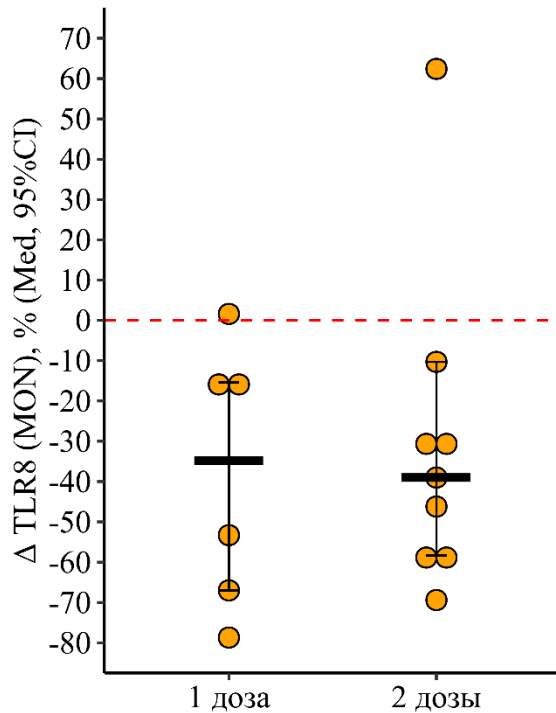


Рисунок 38 – Дельта ( $\Delta$  – разница между показателем через  $24 \pm 3$  дня и исходным) процентного содержания моноцитов, экспрессирующих TLR8, у пациентов с ПИД, вакцинированных первично одной и двумя дозами (приведены индивидуальные значения, медиана и её 95 % доверительный интервал)

Таким образом, если при первичной вакцинации одной дозой отмечалось снижение большинства показателей (доли гранулоцитов, экспрессирующих TLR3, TLR9 и доли моноцитов, экспрессирующих TLR3, TLR8, TLR9), то при вакцинации двумя дозами, наоборот, наблюдался прирост части показателей (доли лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, и доли моноцитов, экспрессирующих TLR3, TLR9), кроме доли моноцитов, экспрессирующих TLR8, которая снизилась.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В 2018 году, в год начала исследования, исполнилось 100 лет со дня пандемии гриппа 1918 года, одного из самых смертоносных стихийных бедствий в истории человечества, в результате которого погибло 100 миллионов человек и заразилось более полумиллиарда человек в мире [133]. Хотя вспышки пандемического гриппа происходят на периодической основе (самая последняя из них – пандемия H1N1 в 2009 году), каждый год эпидемии сезонного гриппа вызывают сотни тысяч смертей и являются причиной более пяти миллионов случаев в год тяжелых заболеваний во всем мире, представляя огромное социально-экономическое бремя в глобальных масштабах.

Более полувека вакцинация была основным методом предотвращения вспышек гриппа; однако лицензированные вакцины против гриппа обычно обеспечивают не оптимальную защиту (обычно от 10 % до 60 %), поскольку они в значительной степени вызывают штамм-специфический иммунитет против циркулирующих штаммов гриппа, что требует ежегодного пересмотра состава вакцин для обеспечения адекватной защиты населения отдельно в Северном и Южном полушариях. Что еще более важно, сезонные вакцины против гриппа практически не обеспечивают защиты от антигенно дрейфующих штаммов, которые способны вызывать пандемические вспышки с разрушительными последствиями для глобального общественного здравоохранения, хотя их роль в предотвращении осложнений пандемического гриппа неоспорима. Исследования последних лет, посвященные механизмам уклонения от формирования иммунитета против гриппа и иммунного ответа, привели к новым открытиям, которые могут служить ориентиром для стратегий оптимизации эффективности вакцинации против гриппа для обеспечения универсальной защиты от различных штаммов гриппа, которая сводила бы к минимуму заболеваемость и смертность от сезонного гриппа и предотвращала потенциальные пандемические вспышки в будущем.

Помимо того, что иммунизация, проведённая в детстве, часто бывает достаточной для десятилетий защиты от конкретной инфекции, вакцинация является важной стратегией общественного здравоохранения против новых появляющихся и мутировавших инфекционных агентов. В ответ на вакцинацию образуются иммунные комплексы (антиген-IgG), которые модулируют клеточные процессы, определяют репертуар антител и Т-клеток: созревание дендритных клеток, процессинг и презентация антигенов Т-клеткам, доставка антигенов к зародышевому центру и отбор В-клеток для производства антител. Данная последовательность формирования поствакцинального иммунитета описана для здоровых людей.

ПИД с недостаточностью синтеза антител представляют собой гетерогенную группу заболеваний, из которых наиболее распространённым является ОВИН.

Общая переменная иммунная недостаточность (ОВИН) – это первичный иммунодефицит, редкое заболевание, разнообразное по клиническим проявлениям (фенотипам) и характеризующееся гипогаммаглобулинемией [9]. Несмотря на то, что уже описаны варианты моногенных форм ОВИН, тип наследования в основном полигенный [9, 134]. Клинические проявления ОВИН включают, прежде всего, рецидивирующие синопульмональные инфекции, однако у пациентов также наблюдается повышенная предрасположенность к развитию онкологических, аутоиммунных или воспалительных заболеваний. Аутоиммунные нарушения диагностируются примерно у 20-25 % пациентов с ОВИН [135].

Основным лабораторным признаком ОВИН является неспособность В-клеток продуцировать антитела, а основной терапией – заместительная терапия иммуноглобулином для борьбы с инфекциями. Следовательно, у таких пациентов можно ожидать снижения синтеза специфических IgG антител к определенным вакцинным антигенам.

Десятилетия назад Hermans и соавторы [136] первыми описали отсутствие синтеза вакцин-специфических антител в когорте пациентов с ОВИН. Впоследствии неадекватный ответ на вакцинацию стал одним из ключевых диагностических критериев.

Хотя большинство инфекционных заболеваний, которые можно предотвратить с помощью вакцин, компенсируется адекватной пожизненной регулярной заместительной терапией препаратами донорских IgG антител [10], данной когорте больных рекомендуется иммунизация против сезонного гриппа в связи с отсутствием достаточной специфической активности антител против штаммов сезонного гриппа в препаратах ВВИГ и ПККИГ.

При ОВИН происходит нарушение в работе В-клеток на разных стадиях развития: от созревания в костном мозге до перехода в плазматические клетки, секретирующие Ig. Гетерогенность в нарушении синтеза специфических антител может быть связана с разными генетическими дефектами [137, 138]. Вакцинация на протяжении длительного времени применяется с диагностической целью, так как именно отсутствие синтеза поствакцинальных антител является критерием постановки диагноза ОВИН. Однако, приблизительно 10-20 % больных ОВИН имеют резидуальный ответ на вакцинацию против белковых антигенов, в меньшей мере против полисахаридных антигенов, кроме того, защитный эффект вакцинации определяется не только гуморальным звеном, но и активацией клеточного звена иммунитета.

На настоящий момент до конца не известно, сможет ли вакцинация инактивированными вакцинами против вирусных инфекций иметь достаточный профилактический эффект у больных с ОВИН, так как не было проведено больших когортных исследований ввиду редкой встречаемости данной патологии в популяции, а также задержки постановки диагноза на десятилетия [139].

Тем не менее, полученные за последние годы данные привели к пересмотру позиций по вакцинации пациентов с нарушением синтеза антител. В настоящее время вакцинация против респираторных инфекций рекомендована таким больным по той же самой схеме, что и в здоровой популяции [7], так как определенная часть больных с ОВИН способны не только к рестимуляции *in vitro* продукции класс-переключенных антител IgG, но и к продукции резидуальных антител *in vivo* [62, 140, 141], что подтверждается также данными нашего исследования. Достоверных данных о том, будет ли достаточным (протективным) иммунный

ответ у пациентов с ОВИН, в настоящее время нет, в связи с чем изучение целесообразности вакцинации именно против вирусных инфекций становится еще более актуальным.

Как уже было доказано ранее, все вакцины против гриппа (полимер-субъединичные, безадыювантные сплит- и субъединичные), кроме индукции гуморального иммунного ответа, активируют и эффекторы клеточного иммунитета, увеличивая количество NK-клеток (CD16/56), NKT-лимфоцитов (CD3/CD16/56), В-лимфоцитов (CD45/CD20), активированных (CD3/HLA-DR) и цитотоксических (CD8/HLA-DR) Т-лимфоцитов, а также клеток с маркером ранней активации (CD45/CD25).

Для усиления интенсивности синтеза специфических антител к штаммам вируса гриппа в последние десятилетия стали применяться адъювантные вакцины, которые имеют иные механизмы активации параметров гуморального и, в особенности, клеточного иммунитета в сравнении с безадыювантными вакцинами. Таким образом, цель создания адъювантных вакцин – это не только формирование гуморального иммунитета в более короткие сроки, но и активация клеточных механизмов, которые особенно важны у пациентов с дефектом гуморального иммунитета. Также следует отметить, что именно сочетание адъюванта с антигенами вирусов, включённых в состав вакцин, может активизировать иммунитет значительно сильнее, чем один адъювант или вакцинные штаммы вирусов по отдельности. Однако, в соответствии с требованиями Европейского комитета, иммуногенность вакцин против гриппа в настоящее время оценивается только по показателям гуморального иммунитета.

Результаты данного исследования по оценке клинической безопасности вакцинации показали, что введение квадριвалентной вакцины против гриппа не приводит к развитию необычных явлений у здоровых и не отличается от переносимости трехвалентной вакцины того же производителя. Вакцинация пациентов с ОВИН с использованием одновременно двух доз вакцин в разные анатомические участки тела не сопровождалась увеличением процента развития местных и системных реакций, также, как и при введении четырехвалентной по

сравнению с трехвалентной вакциной против гриппа. Это свидетельствует о том, что введение четырехвалентных полимер-субъединичных (адьювантных) вакцин против гриппа в двойной дозе является безопасным и может быть в дальнейшем рекомендовано для применения по данной схеме у иммунокомпрометированных пациентов для создания полноценного специфического иммунного ответа. Указанная схема особенно актуальна при возникновении новых пандемических штаммов гриппа.

Трудность включения в исследование большего числа больных, несмотря на их достаточное количество, находящихся под наблюдением в клинике ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, была обусловлена необходимостью стабильного состояния пациентов, при котором интервал в проведении регулярной заместительной терапии ВВИГ мог быть увеличен до семи недель в период проведения вакцинации, а именно, в осенне-зимний период. Вакцинация проводилась через четыре недели после последнего введения ВВИГ, и еще три недели больные находились без заместительной иммунотерапии, что требовалось для соблюдения минимальных сроков для формирования поствакцинальных антител. Также исключались пациенты с тяжелой сопутствующей патологией, требующей приема системных ГКС, цитостатических препаратов, были исключены пациенты с энтеропатией и подозрением на онкологические, лимфопролиферативные заболевания.

В нашем исследовании проводилось сравнение эффективности вакцинации против гриппа пациентов с ОВИН одной дозой четырехвалентной адьювантной и двумя дозами трехвалентной адьювантной вакцины против гриппа на фоне отсутствия иммунотерапии ВВИГ в течение семи недель. Иммунный ответ ожидался из-за наличия адьюванта в составе, активирующего факторы врожденного иммунитета, а также расширенного спектра антигенов в вакцине, в отличие от исследования с использованием моновакцины Pandemrix.

Вынужденное увеличение интервала между проведением регулярной терапии ВВИГ в ходе вакцинации, связанное с исключением влияния донорских антител в составе вводимых препаратов, показало, что вакцинация не сопровождается

обострением очагов хронической инфекции или повышением восприимчивости к респираторным инфекциям, что подтверждает полученные ранее результаты по неспецифической активации TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, а также дендритных клеток, ко-стимулирующих молекул, косвенно отражающееся на повышении сопротивляемости организма к инфекционным патогенам.

#### 4.1. Серопозитивные и серонегативные здоровые и больные

Оценка иммуногенности четырехвалентной адьювантной вакцины у здоровых с учетом предвакцинального уровня АТ с распределением участников на серонегативных и серопозитивных позволяет аргументировать способность реагирования иммунной системы в продукции специфических АТ к различным штаммам вируса гриппа при первичном или повторном введении вакцины.

При исследовании уровней АТ через  $24 \pm 3$  дня у всех 32 участников, получавших вакцинацию, было отмечено, что к большинству по штаммам А/Н1N1, А/Н3N2 и В/Пхукет уровень серопротекции среди изначально серонегативных участников соответствовал критерию эффективности СНМР (не менее 70 %). Несмотря на значительный рост уровня серопротекции среди изначально серонегативных участников, доля серопозитивных исследуемых к штамму А/Н1N1 и штамму В/Колорадо через месяц после иммунизации остаётся меньше, чем аналогичный показатель в группе изначально серопозитивных исследуемых.

Введение исследуемого вакцинного препарата у здоровых приводит к формированию специфических антител, при котором уровень сероконверсии соответствует критерию эффективности СНМР (не менее 40 %), за исключением штамма В/Пхукет, где уровень сероконверсии на грани порогового значения. Уровень сероконверсии к штамму А/Н3N2 статистически значимо выше в группе изначально серонегативных (в 2,5 раза: 100 % против 40 %), по остальным штаммам статистически значимых различий уровня сероконверсии не выявлено.

Вне зависимости от исходного значения уровней антител к вакцинным штаммам вируса гриппа через  $24 \pm 3$  дня после иммунизации у всех здоровых фактор сероконверсии регистрировали в пределах критерия оценки иммуногенности определённых СНМР (не менее 2,5). Однако, следует отметить, что он был выше в группе изначально серонегативных исследуемых, по сравнению с серопозитивными, в отношении штамма А/Н3N2 (34,3 против 3,0) и В/Пхукет (5,8 против 2,8).

В поствакцинальном периоде у здоровых отмечается статистически значимый рост среднего геометрического титра АТ ко всем рассматриваемым штаммам независимо от изначального уровня серопротекции. Наибольший прирост отмечается среди изначально серонегативных исследуемых к штамму А/Н3N2 – в 34,3 раза, в результате чего уровень титра АТ к этому штамму через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации среди изначально серонегативных и серопозитивных статистически значимо не различается. Несмотря на значительный прирост поствакцинальных специфических АТ к вышеуказанным штаммам, а также к штаммам А/Н1N1 (9,2 против 4,8), В/Колорадо (3,7 против 2,4) у добровольцев, относящихся исходно к серонегативным, все-таки уровень титра АТ к остальным штаммам А/Н1N1, В/Колорадо, В/Пхукет выше среди изначально серопозитивных как до вакцинации, так и через месяц после.

Изначально, до вакцинации, независимо от рассматриваемого штамма, доля серопозитивных исследуемых между группой здоровых и пациентов с ОВИН статистически значимо не различается. Скорее всего, различия не выявлены вследствие маленькой выборки больных. Следует отметить, что, как исходно, так и после вакцинации доля (2 человека из 6) серопозитивных к штаммам А/Н1N1, А/Н3N2 такая же, без прироста специфических АТ. Однако, у одного пациента дополнительно выявлен прирост АТ до защитных значений к штамму А/Н3N2 от 1 : 20 до 1 : 80. Касательно штаммов вируса гриппа линии В до вакцинации все (6) пациенты серонегативные, а после введения аТIV4 через  $24 \pm 3$  дня отмечена тенденция к нарастанию АТ к В/Колорадо у одного, а спустя 3 месяца – у троих пациентов. К штамму В/Пхукет лишь у одного пациента выявлена



тенденция к приросту АТ с 1 : 5 до 1 : 10 спустя 3 месяца, при этом важно подчеркнуть, что к указанному сроку еще к штамму А/Н1N1 серопозитивными (1 : 40) становится трое больных, к штамму А/Н3N2 – четверо пациентов, у одного к этому штамму отмечен прирост АТ с 1 : 5 до 1 : 20.

Таким образом, исследование четырехвалентной полимер-субъединичной (адьювантной) вакцины против гриппа у здоровых взрослых, в которой в качестве адьюванта используется иммуностропный препарат (азоксимера бромид), продемонстрировало, что вакцина способствует формированию специфического иммунитета к обоим штаммам вируса гриппа типов А и В независимо от наличия или отсутствия антител к вакцинным штаммам, поэтому вакцина может применяться как для первичной вакцинации, так и для ревакцинации лиц, ранее привитых от гриппа. В то же время показано, что в поствакцинальном периоде у наивных (серонегативных) лиц прирост специфических антител выше, чем уровень антител у исходно серопозитивных лиц. Кроме того, повторная вакцинация у взрослых, иммунизированных против гриппа в предыдущие сезоны, не приводила к снижению уровня поствакцинальных антител. Таким образом, при 3-кратном снижении количества антигенов в одной прививочной дозе эффективно индуцируется иммунный ответ, сравнимый с неадьювантными четырехвалентными гриппозными вакцинами, содержащими 60 мкг антигенов. Более того, использование адьювантной четырехвалентной вакцины может обеспечить более широкую эпидемиологическую защиту от гриппа. Отсутствие развития необычных побочных реакций в поствакцинальном периоде обуславливает перспективность ее применения у детей, в том числе с аллергической патологией, у которых частота местных реакций может регистрироваться чаще, чем в общей детской популяции [28].

Важное значение имеют данные, полученные при вакцинации больных ОВИН, свидетельствующие о том, что стандартная схема введения четырехвалентной адьювантной вакцины против гриппа не способствует синтезу специфических антител на ранних стадиях, хотя остается неясным, как активируются клеточные механизмы в поствакцинальном периоде у больных с дефектами гуморального

иммунитета. Недавние исследования показывают, что введение адьювантной трехвалентной субъединичной гриппозной вакцины увеличивает количество активированных дендритных клеток, которые сохраняются даже через месяц после иммунизации, в то время как субъединичная и сплит-гриппозная вакцины активируют эти клетки только в течение семи дней после вакцинации. При этом кратность увеличения числа дендритных клеток после введения адьювантной вакцины почти в два раза выше, чем в случае неадьювантной вакцины. Адьювант увеличивает скорость миграции дендритных клеток в лимфатические узлы. Он также ускоряет созревание дендритных клеток. При этом наблюдается выраженная активация как клеточного, так и гуморального иммунитета. Более того, адьювантная вакцина против гриппа активирует дополнительные рецепторы, ответственные за бактериальную сенсibilизацию и распознавание бактериальных антигенов. Кроме того, активируется неспецифический противовирусный иммунитет.

#### 4.2. Вакцинация пациентов первично одной дозой с динамическим измерением показателей гуморального звена иммунитета в течение трех месяцев

Полученные результаты по оценке поствакцинального иммунитета у пациентов с ОВИН, вакцинированных одной дозой четырехвалентного адьювантного препарата и дополнительной точкой забора крови (через 3 месяца) с использованием четырехвалентной иммуноадьювантной вакцины, свидетельствуют о том, что у 50 % (3/6) пациентов с ОВИН наблюдается повышение титра антител к штамму А/Н3N2 (на защитном уровне 2/6 пациентов (33,3 %), которые были обнаружены через 3 месяца, а через  $24 \pm 3$  дня только у 1/6); к А/Н1N1 – у 16,7 % (1/6 больных) на защитном уровне; к В/Виктории – у 50 % (3/6) больных наблюдается повышение титра антител без достижения защитного уровня; а к В/Ямагата – повышения титров не обнаружено.

Учитывая тот факт, что только один пациент из шести с ОВИН показал защитный уровень антител в контрольном образце крови через 3 недели после вакцинации, в то время как у остальных пациентов антитела были обнаружены только через 3 месяца, мы можем предположить, что пациентам с ОВИН требуется больше времени для синтеза антител. Это может указывать на необходимость исследования поствакцинальных антител к различным инфекциям для большей достоверности у таких пациентов не ранее, чем через 4 недели после иммунизации.

В нашем исследовании были выявлены значимые различия между уровнями титров антител к разным штаммам гриппа, в большинстве к А/Н1N1. Это наблюдается также в других исследованиях: по данным коллег из Нидерландов от 2006 года превалирующее число положительных титров антител к А/Н1N1 может быть обусловлено тем, что компонент А/Н1N1 в вакцине не менялся с 2001 года, в то время как штаммы А/Н3N2 и В были новыми в вакцине против гриппа в сезоне 2006–2007 [142]. Следовательно, в общей популяции может присутствовать больше антител против гриппа А/Н1N1, о чем свидетельствует высокий уровень антител против гриппа А/Н1N1 в образцах перед вакцинацией. Можно предположить, что это, вероятно, наблюдается также и в препаратах ВВИГ, не штаммоспецифичных. Тестирование уровней антител против гриппа в препаратах ВВИГ с использованием реакции торможения гемагглютинации действительно показало более высокие титры антител против А/Н1N1 по сравнению с антителами против А/Н3N2. Также не исключено сохранение клеточной памяти у пациентов с ОВИН, которые ранее были вакцинированы.

Однако, нами было выявлено, что при первичном введении адьювантной вакцины, отличающейся по составу от всех изучаемых ранее вакцин против гриппа у пациентов с дефектом гуморального звена иммунитета, отмечается большее количество пациентов с приростом титра антител в два и более раз, а также на протективном уровне, чем при иммунизации моновалентной адьювантной вакциной, проведенной в самом крупномасштабном исследовании по вакцинации 48 пациентов с ОВИН против гриппа Gardulf А. и соавторов (33,3-50 % против 16,5 %, соответственно).

#### 4.3. Вакцинация пациентов с ОВИН повторно одной дозой вакцины против гриппа через год

Отсутствие статистически значимых изменений таких показателей, как уровень и фактор сероконверсии у пациентов с ОВИН, вакцинированных первично и повторно через один год ожидаем, так как критерии иммуногенности установлены для здоровых людей. Нами получены данные об изменении уровня серопротекции к штамму А/Н1N1 на пограничном уровне статистической значимости ( $p = 0,07$ ), а также установлен более чем 2-кратный прирост титров АТ через 1 год после повторной вакцинации у четырёх человек к штамму А/Н1N1, у двоих – к штамму А/Н3N2, у одного – к штамму В/Колорадо и у троих – к штамму В/Пхукет.

Повышение доли серопозитивных пациентов через  $24 \pm 3$  дня после повторной вакцинации по сравнению с исходным уровнем, а также случаи 2-кратного прироста АТ после повторной вакцинации позволяют сделать выводы о том, что шанс 2-кратного прироста АТ в результате повторной вакцинации одной дозой в 6,7 раз выше (отношение шансов Мантеля-Хенселя), чем при первичной вакцинации одной дозой ( $p = 0,02$ ). Эти факты подтверждают обоснованность рекомендаций по проведению ежегодной вакцинации против гриппа для пациентов с ОВИН от 2015 года. Наше исследование пока является единственным, определяющим и доказывающим целесообразность иммунизации у данной когорты больных, так как проведено измерение уровня антител не только в короткие сроки после вакцинации, но и с продолжительным интервалом в год.

#### 4.4. Сравнение групп пациентов с ОВИН, вакцинированных одновременно одной и двумя дозами вакцинного препарата

В среднем за рассматриваемый период (через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации) между группами исследования не выявлено статистически значимых различий по уровню АТ ( $t = -1,0$ ,  $p = 0,31$ ,  $df = 17$ ), что объясняется высокой вариабельностью данных, особенно в группе пациентов, вакцинированных одной дозой. Однако, обращают на себя внимание следующие результаты в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами: через  $24 \pm 3$  дня после вакцинации отмечается статистически значимое увеличение титра АТ к штамму А/Н3N2 ( $p = 0,01$ ), А/Н1N1 ( $p = 0,02$ ), а также интенсивность изменения титра АТ (средний геометрический прирост) выше в группе пациентов, вакцинированных двумя дозами: для А/Н1N1 1,36 против 0,79 ( $p = 0,03$ ), А/Н3N2 – 1,59 против 1,00 ( $p = 0,07$ ). Средний геометрический прирост при этом к В/Колорадо между группами с разной схемой вакцинации статистически значимо не различается ( $p = 0,21$ ), что объясняется достаточно высокой долей пациентов, у которых после вакцинации двумя дозами титр АТ не изменился. Иными словами, после вакцинации двумя дозами зарегистрирован значимый прирост АТ к двум из трех сравниваемых штаммам. Таким образом, объединенный по всем штаммам шанс 2-кратного и более прироста после вакцинации двумя дозами в 9,3 раза выше по сравнению с вакцинацией одной дозой, что обосновывает и оправдывает применяемую схему иммунизации с введением двух доз вакцинного препарата. Сложно сравнить полученные результаты с данными другого исследования, авторы которого проводили иммунизацию одновременно двумя дозами (автор описывает случайное повышение дозы до 2-кратной при первой иммунизации), так как оценка уровня антител проводилась после введения третьей, бустерной дозы через 3 недели после первичной иммунизации [62].

#### 4.5. Клеточный иммунитет

В экспериментальных исследованиях было показано, что недостаточность зрелых В-клеток не нарушает индукцию вирус-специфичных CD4 Т-клеток памяти [143], которые могут способствовать защите от вирусных заболеваний у мышей с недостаточным количеством В-клеток и с истощенными CD8 Т-клетками [144, 145]. При изучении функциональных ответов CD4 Т-клеток к вирусным антигенам у пациентов с агаммаглобулинемией оказалось, что результаты сопоставимы с таковыми здоровых людей [146].

В настоящее время не существует единого мнения или унифицированных общепризнанных рекомендаций о том, как определять вакциносpezifические Т-клеточные ответы у людей. В основном эти анализы включают антиген-индуцированные пролиферативные иммунные ответы, продукцию цитокинов или усиление регуляции специфических маркеров активации, таких как CD69, CD40L или OX40 [54, 62, 140, 147]. Также неизвестно, насколько разные анализы и методики исследований отражают релевантность изучаемых показателей ответа Т-клеток.

Что касается показателей клеточного звена иммунитета, то наши результаты согласуются с имеющимися в мировой литературе данными. Однако, сравнение экспериментальных данных между исследованиями представляет серьезные трудности в связи с неоднородностью самой группы пациентов с ОВИН, разных типов исследуемых вакцин, а также определяемых показателей, временных сроков их определения, методов проведения исследований и так далее.

Если в целом сравнивать исходно определяемые субпопуляции лимфоцитов, то можно утверждать, что наши результаты согласуются с выводами других авторов, в том числе иностранных коллег. Так, например, мы отмечали CD4 лимфопению, что описывалось ранее при ОВИН как снижение количества наивных CD4+ Т-лимфоцитов. Giovannetti и соавторы ранее классифицировали пациентов с ОВИН по количеству наивных CD4+ Т-лимфоцитов. Выявленная CD4 лимфопения резко

изменяла нормальное соотношение CD4/CD8 в сочетании с увеличением CD8 Т-клеток, повышение которых связывают с наличием длительного воспаления [148], вызванного рецидивирующими инфекциями [17]. Однако же вакцинация, по результатам данной работы, статистически значимо не приводила к изменению показателей лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD16,56+, CD19+): отмечалось лишь относительное повышение CD3+ лимфоцитов и снижение CD19+ лимфоцитов в группе пациентов, вакцинированных одной дозой, что не подтверждается полученными данными у пациентов с ОВИН, вакцинированных двумя дозами, а также сохранением аналогичных значений у данных пациентов через год при повторном введении дозы. Вероятнее всего, данные изменения связаны с небольшой выборкой пациентов (6 человек) и случайными флюктуациями показателей с учетом того, что абсолютные значения достоверно не изменялись.

Что касается анализа динамики показателей клеточного иммунитета у вакцинированных через год после первой вакцинации, то отмечается значимое снижение числа лейкоцитов (относительно исходного уровня до первичной вакцинации), которое остаётся также меньше исходного уровня и после ревакцинации. После вакцинации двумя дозами никаких изменений ни в показателях клеточного звена иммунитета, ни в количестве лейкоцитов не выявлено.

Немаловажную роль в формировании поствакцинального иммунного ответа играют Toll-подобные рецепторы (TLR). Это консервативные мембранные белки, которые обеспечивают альтернативные способы активации В-клеток. TLR – патоген-распознающие рецепторы, которые играют ключевую роль в элиминации микробных агентов через привлечение фагоцитов или активацию дендритных клеток [94, 92, 93]. TLR экспрессируются в различных типах клеток, включая моноциты, фагоцитарные клетки, дендритные клетки и субпопуляции В-клеток. Из десяти TLR, известных в настоящее время, нами были исследованы TLR3, TLR8, TLR 9, которые, как и TLR7, в основном находятся в эндосомальном отсеке; это расположение позволяет данным рецепторам распознавать продукты распада

ДНК и РНК вирусного и бактериального происхождения. TLR9 экспрессируются у человека на В-клетках. Активация TLR3 на мононуклеарных клетках периферической крови, которые включают в себя лимфоциты (Т-, В- и NK-клетки), моноциты и дендритные клетки, а также фибробластах при ОВИН приводит к нормальной продукции IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$ , потенциально обеспечивающих адекватную защиту от вирусов. В нашем исследовании также были получены данные по активации TLR3, экспрессируемых на гранулоцитах и лимфоцитах при повторном введении одной дозы адьювантной вакцины против гриппа через год и на моноцитах при введении двух доз одновременно, и, наоборот, отсутствие активации TLR3 при первичном введении одной дозы. Следовательно, ежегодная вакцинация против гриппа с использованием одной и той же адьювантной вакцины способствует не только синтезу специфических IgG, но и временной неспецифической профилактике респираторных инфекций. Одновременное введение двух доз вакцин также способствует достоверному нарастанию уровня поствакцинальных антител по сравнению с одной дозой, но экспрессия TLR3 отмечается только на моноцитах, и, вероятно, защитный эффект от других респираторных инфекций, кроме вируса гриппа, может оказаться менее выраженным.

Одним из наиболее мощных стимуляторов активации и созревания В-клеток являются эндосомные Toll-подобные рецепторы, агонистами которых являются одноцепочечные РНК или различные синтетические агонисты (TLR7) и метилированные мотивы CpG в микробной ДНК (CpG-ДНК) (TLR9), соответственно [95]. Было показано, что связывание TLR9 с помощью CpG-ДНК активирует нормальные В-клетки, усиливает экспрессию костимулирующих молекул, запускает секрецию IL-6 и IL-10 и опосредует Т-независимое переключение изотипов и продукцию специфических антител независимо от связывания рецепторов В-клеток (BCR) [15-19]. В проведенном нами исследовании также обнаружена значительная экспрессия TLR9 после повторной вакцинации через год и одновременном введении двух доз адьювантных вакцин против гриппа и сопоставима с достоверным нарастанием уровней антител ко всем штаммам



вируса гриппа, что не было отмечено при однократной вакцинации больных ОВИН одной дозой. Следует отметить, что у здоровых людей вакцинация одной дозой приводила к значительному нарастанию уровня антител, подтверждая, что четырехвалентная и трехвалентная адьювантные вакцины от гриппа соответствуют общепринятым критериям по оценке иммуногенности выпускаемых препаратов. Роль TLR8 по результатам нашего исследования менее значима в механизмах формирования поствакцинального иммунитета у пациентов с ОВИН, хотя нельзя не отметить нарастание его экспрессии на лимфоцитах при повторной вакцинации через год одной дозой исследуемой когорты больных.

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с общей вариабельной иммунной недостаточностью (ОВИН) безопасно применение полимер-субъединичных (адьювантных) вакцин против гриппа.

2. Иммуногенность адьювантной вакцины против гриппа по объединенному по всем штаммам шансу 2-кратного и более прироста АТ при ежегодном ее введении у пациентов с ОВИН в 6,7 раза выше, по сравнению с эпизодической иммунизацией, и в 9,3 раза выше при одномоментном введении двух доз, по сравнению с вакцинацией одной дозой.

3. У пациентов с ОВИН под воздействием адьювантных субъединичных вакцин против гриппа не происходит значимого изменения субпопуляционной структуры лимфоцитов (CD45+CD3+, CD45+CD3-CD19+, CD45+CD3+CD4+, CD45+CD3+CD8+, CD45+CD3+CD16,56+).

4. Экспрессия Толл-подобных рецепторов у пациентов с ОВИН отмечена как при повторном (ежегодном) введении вакцины против гриппа и в большинстве случаев сопровождается увеличением доли гранулоцитов (TLR3 и TLR9), лимфоцитов (TLR3 и TLR8) и моноцитов (TLR3 и TLR9), так и при проведенной впервые одномоментной вакцинации двумя дозами и сопровождается повышением доли гранулоцитов, лимфоцитов, экспрессирующих TLR9, а на моноцитах – TLR3 и TLR9.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТ – антитела

ДК – дендритные клетки

ИЛ – интерлейкин

ЛУ – лимфатические узлы

МЛПК – мононуклеарные лейкоциты периферической крови

ОВИН – общая переменная иммунная недостаточность

ПВД – первичные иммунодефициты

РТГА – реакция торможения гемагглютинации

СГТА – средние геометрические титры антител

ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ТНВ – трехвалентная инактивированная вакцина

ТКН – тяжелая комбинированная иммунная недостаточность

aTIV4 (adjuvant tetravalent inactivated vaccine) – адьювантная четырехвалентная инактивированная вакцина против гриппа

DCs (dendritic cells) – дендритные клетки

FITC (fluorescein isothiocyanate) – флуоресцеинизотиоцианат

GMR (geometric mean rate) – среднее геометрическое соотношение между титрами антител после вакцинации и до вакцинации

GMT (geometric mean titers) – средний геометрический титр антител после вакцинации и до вакцинации

НА (hemagglutinin) – гемагглютинин

НKK – циркулирующие естественные киллеры

IFN I – интерфероны I типа

Ig – иммуноглобулины

mDCs (myeloid dendritic cells) – миелоидные дендритные клетки

НА (neuraminidase) – нейраминидаза

НК (natural killer cells) – естественные киллерные клетки, натуральные киллеры

PAMPs (Pathogen-associated Molecular Patterns) – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны

pDCs (plasmacytoid dendritic cells) – плазмоцитоподобные дендритные клетки

PE (phycoerythrin) – фикоэритрин

sIgA – секреторные иммуноглобулины А

TLRs (Toll-like Receptors) – Толл-подобные рецепторы

TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) – фактор некроза опухоли альфа

T-regs (T-regulatory cells) – Т-регуляторные клетки

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee / S. G. Tangye, W. Al-Herz, A. Bousfiha [et al.] // *Journal of Clinical Immunology*. – 2020. – Vol. 40. – № 1. – P. 24-64.
2. Wasserman, R. L. Recombinant human hyaluronidase-facilitated subcutaneous immunoglobulin infusion in primary immunodeficiency diseases / R. L. Wasserman // *Immunotherapy*. – 2017. – Vol. 9. – № 12. – P. 1035-1050.
3. Direct and indirect effects of influenza vaccination / M. Eichner, M. Schwehm, L. Eichner, L. Gerlier // *BMC Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 17. – № 1. – P. 308.
4. Global influenza strategy 2019-2030 / Geneva : World Health Organization, 2019. – 34 p. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
5. Overview of knowledge, attitudes, beliefs, vaccine hesitancy and vaccine acceptance among mothers of infants in Quebec, Canada / È. Dubé, A. Farrands, T. Lemaitre [et al.] // *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. – 2019. – Vol. 15. – № 1. – P. 113-120.
6. Influenza / F. Krammer, G. J. D. Smith, R. A. M. Fouchier [et al.] // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2018. – Vol. 4. – № 1. – P. 3.
7. Eibl, M. M. Vaccination in patients with primary immunodeficiency, secondary immunodeficiency and autoimmunity with immune regulatory abnormalities / M. M. Eibl, H. M. Wolf // *Immunotherapy*. – 2015. – Vol. 7. – № 12. – P. 1273-1292.
8. Executive Summary: 2013 IDSA Clinical Practice Guideline for Vaccination of the Immunocompromised Host / L. G. Rubin, M. J. Levin, P. Ljungman [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 58. – № 3. – P. 309-318.
9. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders / F. A. Bonilla, I. Barlan, H. Chapel [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. – 2016. – Vol. 4. – № 1. – P. 38-59.
10. Sobh, A. Vaccination in Primary Immunodeficiency Disorders / A. Sobh, F. A. Bonilla // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. – 2016. –

Vol. 4. – № 6. – P. 1066-1075.

11. Human inborn errors of immunity: An expanding universe / L. D. Notarangelo, R. Bacchetta, J.-L. Casanova, H. C. Su // *Science Immunology*. – 2020. – Vol. 5. – № 49. – eabb1662. DOI: 10.1126/sciimmunol.abb1662.

12. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification / A. Bousfiha, L. Jeddane, C. Picard [et al.] // *Journal of Clinical Immunology*. – 2020. – Vol. 40. – № 1. – P. 66-81.

13. Exome and genome sequencing for inborn errors of immunity / I. Meyts, B. Bosch, A. Bolze [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2016. – Vol. 138. – № 4. – P. 957-969.

14. Paul, W. E. *Fundamental Immunology*. 6th edition / W. E. Paul. – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2008. – 1603 p.

15. Hannoun, C. The evolving history of influenza viruses and influenza vaccines / C. Hannoun // *Expert review of vaccines*. – 2013. – Vol. 12. – № 9. – P. 1085-1094.

16. Europe, I. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2018-2019 northern hemisphere influenza season / I. Europe // *Releve epidemiologique hebdomadaire*. – 2018. – Vol. 93. – № 12. – P. 133-141.

17. Ambrose, C. S. The rationale for quadrivalent influenza vaccines / C. S. Ambrose, M. J. Levin // *Human vaccines immunotherapeutics*. – 2012. – Vol. 8. – № 1. – P. 1-8.

18. Epidemiological and virological characteristics of influenza B: Results of the Global Influenza B Study / S. Caini, Q. S. Huang, M. A. Ciblak, S. Badur // *Influenza and other Respiratory Viruses*. – 2015. – Vol. 9. – № S1. – P. 3-12.

19. Предотвращенный ущерб при вакцинации против гриппа 3- и 4-валентными вакцинами / С. М. Харит, А. В. Рудакова, А. Н. Усков [и др.] // *Журнал Инфектологии*. – 2017. – Т. 9. – № 2. – С. 17–22.

20. 4Flu – an individual based simulation tool to study the effects of quadrivalent vaccination on seasonal influenza in Germany / M. Eichner, M. Schwehm, J. Hain [et al.] // *BMC Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 14. – P. 365.

21. Retrospective public health impact of a quadrivalent influenza vaccine in the United States / P. Crépey, P. T. Boer, M. J. Postma, R. Pitman // *Influenza and Other Respiratory*

Viruses. – 2015. – Vol. 9. – № S1. – P. 39-46.

22. Immunogenicity and safety of inactivated quadrivalent influenza vaccine in adults: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials / A. M. Moa, A. A. Chughtai, D. J. Muscatello [et al.] // *Vaccine*. – 2016. – Vol. 34. – № 35. – P. 4092-4102.

23. Guidance. Summary of data to support the choice of influenza vaccination for adults in primary care / [Электронный ресурс] // Public Health England. – Published 29 January 2018. – URL: <https://www.gov.uk/government/publications/flu-vaccination-supporting-data-for-adult-vaccines/summary-of-data-to-support-the-choice-of-influenza-vaccination-for-adults-in-primary-care>.

24. Adjuvanted influenza vaccine for the Italian elderly in the 2018/19 season: an updated health technology assessment / C. de Waure, S. Boccalini, P. Bonanni [et al.] // *European Journal of Public Health*. – 2019. – Vol. 29. – № 5. – P. 900-905.

25. Хаитов, Р. М. Результаты и перспективы исследования развития синтетических вакцин / Р. М. Хаитов // *Иммунология*. – 1982. – Т. 6 – С. 35-40.

26. The impact of adjuvanted and non-adjuvanted influenza vaccines on the innate and adaptive immunity effectors / M. P. Kostinov, N. K. Akhmatova, E. A. Khromova [et al.] // *Intech Open book series. Infectious diseases. Vol. 1. Influenza – Therapeutics and Challenges* / Edited by S. K. Saxena. – InTech, 2018. – Chapter 5. P. 83-109.

27. Вакцинация беременных против гриппа : Федеральные клинические рекомендации / В. В. Зверев, М. П. Костинов, А. П. Черданцев [и др.]. – Н. Новгород, 2015. – 41 с.

28. Акушерские и перинатальные исходы после вакцинации против гриппа или перенесенной респираторной инфекции / М. П. Костинов, А. П. Черданцев, С. С. Семенова [и др.] // *Гинекология*. – 2015. – Т. 17. – № 4. – С. 43-46.

29. Поствакцинальный иммунитет к гриппу у впервые и повторно вакцинированных больных с бронхолегочной патологией. / М. П. Костинов, А. Г. Чучалин, А. В. Чебыкина [и др.] // *Иммунология*. – 2011. – Т. 32. – № 6. – С. 306-310.

30. Исследование эффективности и безопасности вакцинопрофилактики гриппа

у пациентов с болезнями системы кровообращения / С. А. Бойцов, М. М. Лукьянов, Е. В. Платонова [и др.] // Профилактическая медицина. – 2014. – Т. 17. – № 6. – С. 13.

31. Результаты клинического исследования по оценке безопасности и эффективности полимер-субъединичной адьювантной гриппозной вакцины при сочетанном применении иммуномодулятора у лиц 60 лет и старше / В. В. Романенко, И. В. Осипова, Д. А. Лиознов [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2016. – Т. 15. – № 5. – С. 63-71.

32. Зверев, В. В. Вакцины и вакцинация : Национальное руководство. Краткое издание / под ред. В. В. Зверева, Р. М. Хаитова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 640 с. – ISBN 978-5-9704-2866-5.

33. Костинов, М. П. Руководство по клинической иммунологии в респираторной медицине. 1-е издание / под ред. М. П. Костинова, А. Г. Чучалина. – Москва : Атмосфера, 2016. – 128 с.

34. Костинов, М. П. Вакцинопрофилактика пневмококковой инфекции и гриппа при аутоиммунных заболеваниях. Руководство для врачей / М. П. Костинов, А. А. Тарасова. – М. : МДВ, 2009. – 252 с.

35. Изучение клинической безопасности вакцинации против гриппа у беременных / А. П. Черданцев, А. И. Кусельман, М. Н. Сеницына [и др.] / Медицинский альманах. – 2011. – Т. 4. – № 17. – С. 120-122.

36. Истинные и ложные реакции на введение вакцины против гриппа у беременных / М. П. Костинов, А. П. Черданцев, А. А. Сависько [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2011. – Т. 10. – № 6. – С. 44-48.

37. Костинов, М. П. Состояние здоровья грудных детей, рожденных от вакцинированных против гриппа беременных / М. П. Костинов, А. П. Черданцев // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. – 2016. – Т. 95. – № 1. – С. 67-71.

38. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2006-2008 / B. Gathmann, B. Grimbacher, J. Beauté [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. – 2009. – Vol. 157. – Suppl 1. – P. 3-11.

39. Distribution, clinical features and treatment in Taiwanese patients with symptomatic



- primary immunodeficiency diseases (PIDs) in a nationwide population-based study during 1985-2010 / Wen-I Lee, Jing-Long Huang, Tang-Her Jaing [et al.] // *Immunobiology*. – 2011. – Vol. 216. – № 12. – P. 1286-1294.
40. Current state and future perspectives of the Latin American Society for Immunodeficiencies (LASID) / A. Condino-Neto, R. U. Sorensen, A. C. Gómez Raccio [et al.] // *Allergologia et Immunopathologia*. – 2015. – Vol. 43. – № 5. – P. 493-497.
41. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency / B. Gathmann, N. Mahlaoui, L. Gérard [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2014. – Vol. 134. – № 1. – P. 116-126.e11.
42. Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями в Российской Федерации: от рождения до старости / А. А. Мухина, Н. Б. Кузьменко, Ю. А. Родина [и др.] // *Педиатрия им. Г. Н. Сперанского*. – 2019. – Т. 98. – № 3. – С. 24-31.
43. Circulating Helper T-Cell Subsets and Regulatory T Cells in Patients With Common Variable Immunodeficiency Without Known Monogenic Disease / G. Azizi, A. Mirshafiey, H. Abolhassani [et al.] // *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. – 2018. – Vol. 28. – № 3. – P. 172-181.
44. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes / H. Chapel, M. Lucas, M. Lee [et al.] // *Blood*. – 2008. – Vol. 112. – № 2. – P. 277-286.
45. Autoimmunity in Primary Antibody Deficiencies / G. Azizi, M. Ahmadi, H. Abolhassani [et al.] // *International Archives of Allergy and Immunology*. – 2016. – Vol. 171. – № 3-4. – P. 180-193.
46. Asthma and Allergic Diseases in a Selected Group of Patients With Common Variable Immunodeficiency / R. Yazdani, A. Heydari, G. Azizi [et al.] // *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. – 2016. – Vol. 26. – № 3. – P. 209-211.
47. Evaluation of Known Defective Signaling-Associated Molecules in Patients Who Primarily Diagnosed as Common Variable Immunodeficiency / R. Yazdani, H. Abolhassani, N. Rezaei [et al.] // *International Reviews of Immunology*. – 2016. – Vol. 35. – № 1. – P. 7-24.

48. Impaired Akt phosphorylation in B-cells of patients with common variable immunodeficiency / R. Yazdani, M. Ganjalikhani-Hakemi, M. Esmaeili [et al.] // *Clinical Immunology*. – 2017. – Vol. 175. – P. 124-132.
49. Clinical, immunologic, molecular analyses and outcomes of iranian patients with LRBA deficiency: A longitudinal study / G. Azizi, H. Abolhassani, S. A. Mahdaviani [et al.] // *Pediatric Allergy and Immunology*. – 2017. – Vol. 28. – № 5. – P. 478-484.
50. Recommendations for live viral and bacterial vaccines in immunodeficient patients and their close contacts / W. T. Shearer, T. A. Fleisher, R. H. Buckley [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2014. – Vol. 133. – № 4. – P. 961-966.
51. Bonilla, F. A. Update: Vaccines in primary immunodeficiency / F. A. Bonilla // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2018. – Vol. 141. – № 2. – P. 474-481.
52. Cross-reactive neutralizing antibody against pandemic 2009 H1N1 influenza A virus in intravenous immunoglobulin preparations / D. K. Hong, A. H. Tremoulet, J. C. Burns, D. B. Lewis // *Pediatric Infectious Disease Journal*. – 2011. – Vol. 30. – № 1. – P. 67-69.
53. Predictive markers for humoral influenza vaccine response in patients with common variable immunodeficiency / A. Gardulf, H. Abolhassani, R. Gustafson [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2018. – Vol. 142. – № 6. – P. 1922-1931.e2.
54. Cellular and humoral influenza-specific immune response upon vaccination in patients with common variable immunodeficiency and unclassified antibody deficiency / L. G. Hanitsch, M. Löbel, J. F. Mieves [et al.] // *Vaccine*. – 2016. – Vol. 34. – № 21. – P. 2417-2423.
55. Patients with humoral primary immunodeficiency do not develop protective anti-influenza antibody titers after vaccination with trivalent subunit influenza vaccine / S. van Assen, A. Holvast, D. S. C. Telgt [et al.] // *Clinical Immunology*. – 2010. – Vol. 136. – № 2. – P. 228-235.
56. Influenza-specific IgG1 + memory B-cell numbers increase upon booster vaccination in healthy adults but not in patients with predominantly antibody deficiency / G. E. Hartley, E. S. J. Edwards, J. J. Bosco [et al.] // *Clinical & Translational Immunology*. – 2020. – Vol. 9. – № 10. – e1199. DOI: 10.1002/cti2.1199.

57. Polyoxidonium<sup>®</sup> Activates Cytotoxic Lymphocyte Responses Through Dendritic Cell Maturation: Clinical Effects in Breast Cancer / C. Alexia, M. Cren, P. Louis-Pence [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – Vol. 10. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02693.
58. Prospective randomized open-label comparative study of immunogenicity after subunit and polymeric subunit influenza vaccines administration among mothers and infants / M. P. Kostinov, A. P. Cherdantsev, A. I. Kuselman [et al.] // *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. – 2018. – Vol. 14. – № 12. – P. 2971-2978.
59. Society E. ESID Registry – Working definitions for clinical diagnosis of PID / Society E., Immunodeficiencies F. // *ESID Registry – Working definitions for clinical diagnosis of PID*. – 2019. – № Cid. – P. 1-205.
60. AS03 A – Adjuvanted Influenza A (H1N1) 2009 Vaccine for Adults up to 85 Years of Age / F. Roman, T. Vaman, F. Kafeja [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2010. – Vol. 51. – № 6. – P. 668-677.
61. Адъюванты гриппозных вакцин: новые возможности применения сульфатированных полисахаридов из морских бурых водорослей / Т. А. Кузнецова, Е. В. Персиянова, Т. С. Запорожец, Н. Н. Беседнова // *Вопросы вирусологии*. – 2019. – Т. 64. – № 1. – С. 5-11.
62. Pandemic Influenza Vaccination Elicits Influenza-Specific CD4<sup>+</sup> Th1-cell Responses in Hypogammaglobulinaemic Patients: Four case reports / G. Pedersen, A. Halstensen, H. Sjursen [et al.] // *Scandinavian Journal of Immunology*. – 2011. – Vol. 74. – № 2. – P. 210-218.
63. Primary immunodeficiencies: 2009 update / L. D. Notarangelo, A. Fischer, R. S. Geha [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2009. – Vol. 124. – № 6. – P. 1161-1178.
64. Ko, J. Immune competence and switched memory B cells in common variable immunodeficiency / J. Ko, L. Radigan, C. Cunningham-Rundles // *Clinical Immunology*. – 2005. – Vol. 116. – № 1. – P. 37-41.
65. Severe deficiency of switched memory B cells (CD27<sup>+</sup>IgM<sup>–</sup>IgD<sup>–</sup>) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease / K. Warnatz, A. Denz, R. Dräger [et al.] // *Blood*. – 2002. –

Vol 99. – № 5. – P. 1544-1551.

66. The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency / C. Wehr, T. Kivioja, C. Schmitt [et al.]. // *Blood*. – 2008. – Vol. 111. – № 1. – P. 77-85.

67. Defined Blocks in Terminal Plasma Cell Differentiation of Common Variable Immunodeficiency Patients / N. Taubenheim, M. von Hornung, A. Durandy [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2005. – Vol. 175. – № 8. – P. 5498-5503.

68. Memory B cells in common variable immunodeficiency: Clinical associations and sex differences / S. Sánchez-Ramón, L. Radigan, J. E. Yu [et al.] // *Clinical Immunology*. – 2008. – Vol. 128. – № 3. – P. 314-321.

69. TLR-mediated B cell defects and IFN- $\alpha$  in common variable immunodeficiency / J. E. Yu, L. Zhang, L. Radigan [et al.] // *Journal of Clinical Immunology*. – 2012. – Vol. 32. – № 1. – P. 50-60.

70. Common variable immunodeficiency: the immune system in chaos / J. Bayry, O. Hermine, D. A. Webster [et al.] // *Trends in Molecular Medicine*. – 2005. – Vol. 11. – № 8. – P. 370-376.

71. T-Cell Abnormalities in Common Variable Immunodeficiency / G. Azizi, N. Rezaei, F. Kiaee [et al.] // *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. – 2016. – Vol. 26. – № 4. – P. 233-243.

72. Abnormality of regulatory T cells in common variable immunodeficiency / G. Azizi, N. Hafezi, H. Mohammadi [et al.] // *Cellular Immunology*. – 2017. – Vol. 315. – P. 11-17. DOI: 10.1016/j.cellimm.2016.12.007.

73. Autoimmunity and its association with regulatory T cells and B cell subsets in patients with common variable immunodeficiency / G. Azizi, H. Abolhassani, F. Kiaee [et al.] // *Allergologia et Immunopathologia*. – 2018. – Vol. 46. – № 2. – P. 127-135.

74. Frequency and expression of inhibitory markers of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in patients with common variable immunodeficiency / N. Arandi, A. Mirshafiey, H. Abolhassani [et al.] // *Scandinavian Journal of Immunology*. – 2013. – Vol. 77. – № 5. – P. 405-412.

75. The TH1 phenotype of follicular helper T cells indicates an IFN- $\gamma$ -associated immune dysregulation in patients with CD21<sup>low</sup> common variable immunodeficiency / S. Unger,

- M. Seidl, P. van Schouwenburg [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2018. – Vol. 141. – № 2. – P. 730-740.
76. Unravelling the Complexity of T Cell Abnormalities in Common Variable Immunodeficiency / A. Giovannetti, M. Pierdominici, F. Mazzetta [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2007. – Vol. 178. – № 6. – P. 3932-3943.
77. Decrease in phenotypic regulatory T cells in subsets of patients with common variable immunodeficiency / J. Horn, A. Manguiat, L. J. Berglund [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology*/ – 2009. – Vol. 156. – № 3. – P. 446-454.
78. T cell phenotypes in patients with common variable immunodeficiency disorders: associations with clinical phenotypes in comparison with other groups with recurrent infections / E. A. L. Bateman, L. Ayers, R. Sadler [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology*. – 2012. – Vol. 170. – № 2. – P. 202-211.
79. CD8<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup> T lymphocytes are increased in common variable immunodeficiency patients with impaired memory B-cell differentiation / P. Blanco, M. Andre, D. Neau [et al.] // *Clinical Immunology*. – 2006. – Vol. 119. – № 1. – P. 51-58.
80. Alterations in interleukin secretion (IL-2 and IL-4) by CD4 and CD4 CD45RO cells from common variable immunodeficiency (CVI) patients / J. M. Ferrer, J. Iglesias, M. Hernández, N. Matamoros // *Clinical & Experimental Immunology*. – 2008. – Vol. 102. – № 2. – P. 286-289.
81. Exhaustion of bacteria-specific CD4 T cells and microbial translocation in common variable immunodeficiency disorders / M. Perreau, S. Vigano, F. Bellanger [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2014. – Vol. 211. – № 10. – P. 2033-2045.
82. Le Common variable immunodeficiency-associated endotoxemia promotes early commitment to the T follicular lineage / C. Le Coz, B. Bengsch, C. Khanna [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2019. – Vol. 144. – № 6. – P. 1660-1673.
83. Plasma protein profiling reflects TH1-driven immune dysregulation in common variable immunodeficiency / J. Hultberg, J. Ernerudh, M. Larsson [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2020. – Vol. 146. – № 2. – P. 417-428.
84. Common Variable Immunodeficiency patients with a phenotypic profile of immunosenescence present with thrombocytopenia / J. Stuchlý, V. Kanderová,

- M. Vlková [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – № 7. – 39710. DOI: 10.1038/srep39710.
85. Chronically activated T-cells retain their inflammatory properties in common variable immunodeficiency / R. M. Berbers, M. M. van der Wal, J. M. van Montfrans [et al.] // *Journal of Clinical Immunology*. – 2021. – Vol. 41. – № 7. – P. 1621-1632.
86. Preserved Cellular Immunity Upon Influenza Vaccination in Most Patients with Common Variable Immunodeficiency / D. Friedmann, S. Goldacker, H. H. Peter, K. Warnatz // *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. – 2020. – Vol. 8. – № 7. – P. 2332-2340.e5. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.04.019.
87. Targeted Proteomics Reveals Inflammatory Pathways that Classify Immune Dysregulation in Common Variable Immunodeficiency / R.-M. Berbers, J. Drylewicz, P. M. Ellerbroek [et al.] // *Journal of Clinical Immunology*. – 2021. – Vol. 41. – № 2. – P. 362-373.
88. Defective maturation of dendritic cells in common variable immunodeficiency / T. H. Scott-Taylor, M. R. Green, M. Raeiszadeh [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2006. – Vol. 145. – № 3. – P. 420-427.
89. Elevated serum interleukin (IL)-12p40 levels in common variable immunodeficiency disease and decreased peripheral blood dendritic cells: analysis of IL-12p40 and interferon-gamma gene / N. Martinez-Pomar, S. Raga, J. Ferrer [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2006. – Vol. 144. – № 2. – P. 233-238.
90. Up-regulation of IL-12 in monocytes: a fundamental defect in common variable immunodeficiency / R. Cambroner, W. A. Sewell, M. E. North [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2000. – Vol. 164. – № 1. – P. 488-494.
91. Deficiency in circulating natural killer (NK) cell subsets in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinaemia / R. M. Aspalter, W. A. Sewell, K. Dolman [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2000. – Vol. 121. – № 3. – P. 506-514.
92. TLR9 activation is defective in common variable immune deficiency / C. Cunningham-Rundles, L. Radigan, A. K. Knight [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2006. – Vol. 176. – № 3. – P. 1978-1987.
93. Modulation of B cell responses by Toll-like receptors / J. Booth, H. Wilson, S. Jimbo,

- G. Mutwiri // *Cell and Tissue Research*. – 2011. – Vol. 343. – № 1. – P. 131-140.
94. Bernasconi, N. L. A role for Toll-like receptors in acquired immunity: up-regulation of TLR9 by BCR triggering in naive B cells and constitutive expression in memory B cells / N. L. Bernasconi, N. Onai, A. Lanzavecchia // *Blood*. – 2003. – Vol. 101. – № 11. – P. 4500-4504.
95. The toll-like receptor repertoire of human B lymphocytes: inducible and selective expression of TLR9 and TLR10 in normal and transformed cells / E. Bourke, D. Bosisio, J. Golay [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 102. – № 3. – P. 956-963.
96. Trinchieri, G. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence / G. Trinchieri, A. Sher // *Nature Reviews Immunology*. – 2007. – Vol. 7. – № 3. – P. 179-190.
97. Toll-like receptor 7 and 9 defects in common variable immunodeficiency / J. E. Yu, A. K. Knight, L. Radigan [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2009. – Vol. 124. – № 2. – P. 15-22.
98. Crampton, S. P. Innate pathways to B-cell activation and tolerance / S. P. Crampton, E. Voynova, S. Bolland // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2010. – Vol. 1183 – № 1. – P. 58-68.
99. Krieg, A. M. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects / A. M. Krieg // *Annual Review of Immunology*. – 2002. – Vol. 20. – № 1. – P. 709-760.
100. TLR Ligation Triggers Somatic Hypermutation in Transitional B Cells Inducing the Generation of IgM Memory B Cells / A. Aranburu, S. Ceccarelli, E. Giorda [et al.] // *The Journal of Immunology* – 2010. – Vol. 185. – № 12. – P. 7293-7301.
101. Traggiai, E. Antigen dependent and independent mechanisms that sustain serum antibody levels / E. Traggiai, R. Puzone, A. Lanzavecchia // *Vaccine*. – 2003. – Vol. 21. Suppl 2. – P. S35-S37.
102. Toll-like receptor 7-induced naive human B-cell differentiation and immunoglobulin production / M. C. Glaum, S. Narula, D. Song [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2009. – Vol. 123. – № 1. – P. 224-230.e4. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.09.018.
103. Plasmacytoid Dendritic Cells Control TLR7 Sensitivity of Naive B Cells via Type I

- IFN / I. B. Bekeredjian-Ding, M. Wagner, V. Hornung [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2005. – Vol. 174. – № 7. – P. 4043-4050.
104. TLR Signaling Fine-Tunes Anti-Influenza B Cell Responses without Regulating Effector T Cell Responses / A. K. Heer, A. Shamshiev, A. Donda [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2007. – Vol. 178. – № 4. – P. 2182-2191.
105. Understanding and making use of human memory B cells / A. Lanzavecchia, N. Bernasconi, E. Traggiai [et al.] // *Immunological Reviews*. – 2006. – Vol. 211. – № 1. – P. 303-309.
106. Ruprecht, C. R. Toll-like receptor stimulation as a third signal required for activation of human naive B cells / C. R. Ruprecht, A. Lanzavecchia // *European Journal of Immunology*. – 2006. – Vol. 36. – № 4. – P. 810-816.
107. Bernasconi, N. L. Maintenance of Serological Memory by Polyclonal Activation of Human Memory B Cells / N. L. Bernasconi, E. Traggiai, A. Lanzavecchia // *Science*. – 2002. – Vol. 298. – № 5601. – P. 2199-2202.
108. Defective B cell response to TLR9 ligand (CpG-ODN), *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* extracts in common variable immunodeficiency patients / D. Escobar, J. Pons, A. Clemente [et al.] // *Cellular Immunology*. – 2010. – Vol. 262. – № 2. – P. 105-111.
109. Akira, S. Pathogen Recognition and Innate Immunity / S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi // *Cell*. – 2006. – Vol. 124. – № 4. – P. 783-801.
110. Clinical Features and Outcome of Patients With IRAK-4 and MyD88 Deficiency / C. Picard, H. von Bernuth, P. Ghandil, J.-L. Casanova // *Medicine*. – 2010. – Vol. 89. – № 6. – P. 403-425.
111. Braun, D. IFN- $\alpha/\beta$  enhances BCR-dependent B cell responses / D. Braun, I. Caramalho, J. Demengeot // *International Immunology*. – 2002. – Vol. 14. – № 4. – P. 411-419.
112. Kadowaki, N. Natural type I interferon-producing cells as a link between innate and adaptive immunity / N. Kadowaki, Y.-J. Liu // *Human Immunology*. – 2002. – Vol. 63. – № 12. – P. 1126-1132.
113. Heterozygous Toll-Like Receptor 2 Polymorphism Does Not Affect Lipoteichoic



- Acid-Induced Chemokine and Inflammatory Responses / S. von Aulock, N. W. J. Schröder, S. Traub [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2004. – Vol. 72. – № 3. – P. 1828-1831.
114. Bochud, P.-Y. Cutting Edge: A Toll-Like Receptor 2 Polymorphism That Is Associated with Lepromatous Leprosy Is Unable to Mediate Mycobacterial Signaling / P.-Y. Bochud, T. R. Hawn, A. Aderem // *The Journal of Immunology*. – 2003. – Vol. 170. – № 7. – P. 3451-3454.
115. Pasare, C. Control of B-cell responses by Toll-like receptors / C. Pasare, R. Medzhitov // *Nature*. – 2005. – Vol. 438. – № 7066. – P. 364-368.
116. TLR9 Activation Is Defective in Common Variable Immune Deficiency / C. Cunningham-Rundles, L. Radigan, A. K. Knight [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2006. – Vol. 176. – № 3. – P. 1978-1987.
117. Slattery, K. NK Cell Metabolism and TGF $\beta$  – Implications for Immunotherapy / K. Slattery, C. M. Gardiner // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 2915. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02915.
118. Vito, C. Di. On the Way to Become a Natural Killer Cell / C. Di Vito, J. Mikulak, D. Mavilio // *Frontiers in Immunology* – 2019. – Vol. 10. – Art. 1812. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01812.
119. Functions of NK and iNKT cells in pediatric and adult CVID, ataxia telangiectasia and agammaglobulinemia patients / S. Adin-Cinar, M. Y. Gelmez, N. Akdeniz [et al.] // *Immunology Letters*. – 2021. – Vol. 240. – P. 46-55.
120. IVIG in autoimmune disease – Potential next generation biologics / A. W. Zuercher, R. Spirig, A. Baz Morelli, F. Käsermann // *Autoimmunity Reviews*. – 2016. – Vol. 15. – № 8. – P. 781-785.
121. Bayry, J. Common variable immunodeficiency is associated with defective functions of dendritic cells / J. Bayry // *Blood*. – 2004. – Vol. 104. – № 8. – P. 2441-2443.
122. Skewed Distribution of Circulating Activated Natural Killer T (NKT) Cells in Patients with Common Variable Immunodeficiency Disorders (CVID) / K. I. Carvalho, K. M. Melo, F. R. Bruno [et al.] // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5. – № 9. – P. e12652. DOI: 10.1371/journal.pone.0012652.

123. Monocyte activation is a feature of common variable immunodeficiency irrespective of plasma lipopolysaccharide levels / R. R. Barbosa, S. P. Silva, S. L. Silva [et al.] // *Clinical & Experimental Immunology*. – 2012. – Vol. 169. – № 3. – P. 263-272.
124. Elevated levels of activated CD4 T cells in common variable immunodeficiency: association with clinical findings / J. Carbone, E. Sarmiento, D. Micheloud [et al.] // *Allergologia et Immunopathologia*. – 2006. – Vol. 34. – № 4. – P. 131-135.
125. ГОСТ Р 52379-2005. Надлежащая клиническая практика (Good Clinical Practice; GCP) : утвержден Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 сентября 2005 года N 232-ст : дата введения 2006-04-01. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200041147> (дата обращения: 10.09.2022).
126. Koller, M. *robustlmm*: An R Package for Robust Estimation of Linear Mixed-Effects Models / M. Koller // *Journal of Statistical Software*. – 2016. – Vol. 75. – № 6. – P. 1-24.
127. Luke, S. G. Evaluating significance in linear mixed-effects models in R / S. G. Luke // *Behavior Research Methods*. – 2017. – Vol. 49. – № 4. – P. 1494-1502.
128. Lenth, Russell V. Package 'emmeans': Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. Version 1.6.1 / Russell V. Lenth. – CRAN, 2021.
129. Reverberi, R. The statistical analysis of immunohaematological data / R. Reverberi // *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*. – 2008. – Vol. 6. – № 1. – P. 37-45.
130. Fay, M. P. Two-sided Exact Tests and Matching Confidence Intervals for Discrete Data / M. P. Fay // *The R Journal*. – 2010. – Vol. 2. – № 1. – P. 53-58.
131. Нохрин, Д. Ю. Лабораторный практикум по биостатистике / Д. Ю. Нохрин. – Челябинск: Изд-во Челяб. гос. ун-та, 2018. – 289 с.
132. Sokal, R. R. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research* / R. R. Sokal, F. J. Rohlf. – 4<sup>th</sup> edition. – New York: W. H. Freeman and Company, 2012. – ISBN-13: 978-0-7167-8604-4.
133. Wang T. T. Immunological responses to influenza vaccination: lessons for improving vaccine efficacy / T. T. Wang, S. Bournazos, J. V. Ravetch // *Current Opinion in Immunology*. – 2018. – Vol. 53. – P. 124-129.

134. Kienzler, A.-K. The role of genomics in common variable immunodeficiency disorders / A.-K. Kienzler, C. E. Hargreaves, S. Y. Patel // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2017. – Vol. 188. – № 3. – P. 326-332.
135. Autoimmunity in common variable immunodeficiency: Correlation with lymphocyte phenotype in the French DEFI study / J. Boileau, G. Mouillot, L. Gérard [et al.] // *Journal of Autoimmunity*. – 2011. – Vol. 36. – № 1. – P. 25-32.
136. Hermans, P. E. Idiopathic late-onset immunoglobulin deficiency / P. E. Hermans, J. A. Diaz-Buxo, J. D. Stobo // *The American Journal of Medicine*. – 1976. – Vol. 61. – № 2. – P. 221-237.
137. Antibody forming cells and plasmablasts in peripheral blood in CVID patients after vaccination / Z. Chovancova, M. Vlkova, J. Litzman [et al.] // *Vaccine*. – 2011. – Vol. 29. – № 24. – P. 4142-4150.
138. The loss of IgM memory B cells correlates with clinical disease in common variable immunodeficiency / R. Carsetti, M. M. Rosado, S. Donnanno [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2005. – Vol. 115. – № 2. – P. 412-417.
139. Impaired Pneumovax-23-Induced Monocyte-Derived Cytokine Production in Patients with Common Variable Immunodeficiency / R. Hong, S. Agrawal, S. Gollapudi, S. Gupta // *Journal of Clinical Immunology*. – 2010. – Vol. 30. – № 3. – P. 435-441.
140. Cell-mediated immune responses to inactivated trivalent influenza-vaccination are decreased in patients with common variable immunodeficiency / S. van Assen, A. de Haan, A. Holvast [et al.] // *Clinical Immunology*. – 2011. – Vol. 141. – № 2. – P. 161-168.
141. Ballow, M. Vaccines in the assessment of patients for immune deficiency / M. Ballow // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2012. – Vol. 130. – № 1. – P. 283-284.e5.
142. The 2005-2006 influenza season in the Netherlands and the vaccine composition for the 2006-2007 season / G. F. Rimmelzwaan, J. C. de Jong, G. A. Donker [et al.] // *Ned Tijdschr Geneeskd*. – 2006. – Vol. 150. – № 40. – P. 2209-2214.
143. Quantitative analysis of the influenza virus-specific CD4+ T cell memory in the absence of B cells and Ig / D. J. Topham, R. A. Tripp, A. M. Hamilton-Easton [et al.] //

Journal of Immunology. – 1996. – Vol. 157. – № 7. – P. 2947-2952.

144. Memory CD4 T Cells Direct Protective Responses to Influenza Virus in the Lungs through Helper-Independent Mechanisms / J. R. Teijaro, D. Verhoeven, C. A. Page [et al.] // Journal of Virology. – 2010. – Vol. 84. – № 18. – P. 9217-9226.

145. Zhong, W. Antibody-Independent Antiviral Function of Memory CD4+ T Cells In Vivo Requires Regulatory Signals from CD8+ Effector T Cells / W. Zhong, A. D. Roberts, D. L. Woodland // The Journal of Immunology. – 2001. – Vol. 167. – № 3. – P. 1379-1386.

146. Long-lasting memory-resting and memory-effector CD4+T cells in human X-linked agammaglobulinemia / M. Paroli, D. Accapezzato, V. Francavilla [et al.] // Blood. – 2002. – Vol. 99. – № 6. – P. 2131-2137.

147. Activation-induced Markers Detect Vaccine-Specific CD4+ T Cell Responses Not Measured by Assays Conventionally Used in Clinical Trials / G. Bowyer, T. Rampling, J. Powlson [et al.] // Vaccines. – 2018. – Vol. 6. – № 3. – P. 50.

148. Decreased number of regulatory T lymphocytes is related to inflammation and number of CD8+ T cells expressing programmed cell death protein-1 in common variable immunodeficiency / E. Nowak, J. Sulicka-Grodzicka, M. Strach [et al.] // Folia medica Cracoviensia. – 2020. – Vol. 60. – № 3. – P. 5-16.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Исследования по изучению поствакцинального иммунитета при иммунизации против гриппа пациентов с ОВИН

Название статьи	Автор	Исследуемая вакцина	Вывод
Patients with humoral primary immunodeficiency do not develop protective anti-influenza antibody titers after vaccination with trivalent subunit influenza vaccine	S. van Assen, 2010	Трехвалентная субъединичная вакцина против гриппа Inluvax в сезон 2006-2007; вакцинация одной дозой	Среди 18 пациентов с ОВИН у 12 % и 77 % отмечался титр антител на уровне $\geq 1 : 40$ к А/Н3N2 и А/Н1N1, соответственно, после вакцинации
Pandemic influenza vaccination elicits influenza-specific CD4+ Th1-cell responses in hypogammaglobulinaemic patients: four case reports	G. Pedersen, 2011	А(Н1N1) адъювантная (AS03) сплит-вакцина против гриппа Pandemrix (GlaxoSmithKline); вакцинация двумя дозами (7,5 мкг гемагглютинаина) с последующей бустеризацией через 3 недели 1 дозой (3,75 мкг гемагглютинаина)	1. У 2/3 пациентов с ОВИН отмечалось повышение уровня антител более чем в 4 раза по сравнению с исходными значениями. 2. Вакцинация индуцировала IFN- $\gamma$ , IL-2 и TNF- $\alpha$ продуцирующие CD4+ Th1-клетки, как у пациента с X-сцепленной агаммаглобулинемией, так и у пациентов с ОВИН
Cellular and humoral influenza-specific immune response upon vaccination in patients with common variable immunodeficiency and unclassified antibody deficiency	G. Hanitsch, 2016	Трехвалентная безадъювантная вакцина против гриппа; вакцинация одной дозой	1. 1/8 пациент с ОВИН и 4/8 пациента с неклассифицированным дефицитом антител показали гуморальный ответ, по крайней мере, против одного из трех вакцинных штаммов. 2. 7/8 пациентов с ОВИН и 6/8 пациентов с неклассифицированным дефицитом антител имели уровни индуцированных вакциной IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ и IL-2, продуцируемого CD40L+ Т-клетки, аналогичные контрольной группе.
Predictive markers for humoral influenza vaccine response in patients with common variable immunodeficiency	A. Gardulf, 2018	А(Н1N1) адъювантная (AS03) сплит-вакцина против гриппа Pandemrix (GlaxoSmithKline); вакцинация одной дозой с последующей бустеризацией через 1 месяц	1/5 пациентов с ОВИН достигли защитного уровня антител после вакцинации против гриппа А(Н1N1), и были предположены клинические и иммунологические маркеры положительного результата вакцинации против гриппа.

## Продолжение Таблицы А.1

Preserved Cellular Immunity Upon Influenza Vaccination in Most Patients with Common Variable Immunodeficiency	D. Friedmann, 2020	Четырехвалентная инактивированная сплит-вакцина Influsplit Tetra (GlaxoSmithKline) в сезон 2018-2019; вакцинация одной дозой	У большинства пациентов с ОВИН (14/17) через 1 неделю после вакцинации наблюдалось увеличение индуцируемого костимулятора фолликулярных Т-хелперных клеток и/или увеличение антиген-специфических CD25+OX40+ Т-клеток, что свидетельствует о положительном Т-клеточном иммунном ответе
---	--------------------	--	--

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1 – Демографические данные и наличие осложнений основного заболевания у исследуемых пациентов с ОВИН

Пациент	Возраст	Пол	Инфекционные заболевания	Бронхоэктазы	ИБЛ	Гепатомегалия	Спленомегалия	Цитопения	Энтеропатия	Лимфаденопатия
1	39		да							
2	33		да	да						да
3	46		да	да			да			да
4	33		да							
5	39		да	да	да		да			да
6	19		да			да	да			да
7	31					да	да		да	да
8	25		да			да				да
9	45		да	да	да		да *	да *		да
10	41		да							
11	40		да				да			да
12	31		да	да			да			да
13	49		да		да		да	да *		да
14	38		да			да	да		да *	да
15	39		да			да				

\* анамнестически