

Ассоциация длины теломер лейкоцитов и уровня специфических антител после вакцинации против клещевого энцефалита

Н.С. Юдин^{1, 2, 3}✉, В.А. Белявская⁴, В.Н. Максимов^{1, 2, 3}, Д.Е. Иваношук^{1, 2, 3}, П.С. Орлов^{1, 2, 3}, М.И. Воевода^{1, 2, 3}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

⁴ Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

✉ e-mail: yudin@bionet.nsc.ru

Основным принципом индивидуализации вакцинаций является создание достаточной иммунной защиты организма при избегании излишней иммунизации. Отсюда возникает необходимость разработки методов прогнозирования величины иммунного ответа еще до проведения вакцинации. Длину теломер можно рассматривать как перспективный прогностический параметр для оценки иммунной реакции пациента при проведении вакцинации. Целью работы был анализ возможной ассоциации длины теломер лейкоцитов с уровнем специфических антител после вакцинации против клещевого энцефалита. В исследование было включено 55 мужчин и 40 женщин, ранее не вакцинированных против клещевого энцефалита и не имевших контактов с клещами. Вакцинацию проводили вакциной «ЭнцеВир». Через месяц после вакцинации анализировали уровень специфических антител IgG против вируса клещевого энцефалита с использованием тест-системы «ВектоВКЭ-IgG-стрип», а также длину теломер лейкоцитов с помощью количественной ПЦР в реальном времени. По уровню ответа на вакцинацию пациентов разделяли на нереагировавших (уровень IgG 0–100 МЕ/мл), низкорезагировавших (уровень IgG 101–200 МЕ/мл) и высокорезагировавших (уровень IgG выше 200 МЕ/мл). Длина теломер как минимум на уровне тенденции ($p < 0.1$) зависела как от ответа на вакцинацию, так и от возраста, уровня образования и наличия психоземонального стресса. С помощью общей линейной модели была выявлена ассоциация длины теломер с ответом на вакцинацию против клещевого энцефалита на уровне тенденции ($p < 0.1$) только у женщин. При парном сравнении длина теломер у высокорезагировавших женщин была достоверно выше, чем у нереагировавших. Таким образом, нами обнаружена ассоциация длины теломер лейкоцитов и уровня специфических антител после вакцинации против клещевого энцефалита у женщин. По-видимому, длину теломер лейкоцитов в крови можно рассматривать в качестве перспективного маркера для прогноза пролиферативного ответа лимфоцитов и величины иммунологической реакции пациента в ответ на вакцинацию.

Ключевые слова: клещевой энцефалит; вакцинация; IgG антитела; длина теломер; пол; биомаркер.

Для цитирования: Юдин Н.С., Белявская В.А., Максимов В.Н., Иваношук Д.Е., Орлов П.С., Воевода М.И. Ассоциация длины теломер лейкоцитов и уровня специфических антител после вакцинации против клещевого энцефалита. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(8):1026-1031. DOI 10.18699/VJ19.580

Association between leukocyte telomere length and specific antibody levels after vaccination against tick-borne encephalitis

N.S. Yudin^{1, 2, 3}✉, V.A. Belyavskaya⁴, V.N. Maksimov^{1, 2, 3}, D.E. Ivanoshchuk^{1, 2, 3}, P.S. Orlov^{1, 2, 3}, M.I. Voevoda^{1, 2, 3}

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

⁴ State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" of the Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protection and Human Well-being, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia

✉ e-mail: yudin@bionet.nsc.ru

The primary objective of personalized vaccination is to induce an efficient immune defense while avoiding excessive immunization. Hence, it necessitates the development of methods for predicting the magnitude of the immune response prior to vaccination. Telomere length can be considered as a promising prognostic parameter for assessing the immune response to vaccination. The aim of the work was to analyze the possible association between leukocyte telomere length and specific antibody levels after vaccination against tick-borne encephalitis. The study included 55 men and 40 women who had not previously been vaccinated against tick-borne encephalitis and had no contacts with ticks. Vaccination was carried out with the EnceVir vaccine. One month after vaccination, the level of specific IgG antibodies against tick-borne encephalitis virus was analyzed using the VektoVKE-IgG-strip test system and leukocyte telomere length was measured

using real-time quantitative PCR. According to the intensity of vaccine-elicited immune responses, patients were divided into three groups: unresponsive (IgG level 0–100 IU/ml), slightly responsive (IgG level 101–200 IU/ml) and highly responsive (IgG level above 200 IU/ml). The telomere length, at least at trend level ($p < 0.1$), correlated with the response to vaccination as well as age, educational level and the presence of emotional stress. Using a general linear model, an association between telomere length and immune response to vaccination against tick-borne encephalitis at trend level ($p < 0.1$) was found only in women. Using a pairwise comparison, it was found that telomere length was significantly higher in highly responsive women than in unresponsive women. Hence, an association between leukocyte telomere length and specific antibody levels after vaccination against tick-borne encephalitis was identified in women. Therefore, peripheral blood leukocyte telomere length can be considered as a promising marker for predicting lymphocyte proliferative responses and the magnitude of vaccine-elicited cellular immune responses.

Key words: tick-borne encephalitis; vaccination; IgG antibodies; telomere length; gender; biomarker.

For citation: Yudin N.S., Belyavskaya V.A., Maksimov V.N., Ivanoshchuk D.E., Orlov P.S., Voevoda M.I. Association between leukocyte telomere length and specific antibody levels after vaccination against tick-borne encephalitis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(8):1026-1031. DOI 10.18699/VJ19.580 (in Russian)

Введение

Клещевой энцефалит – природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и поражением серого вещества головного мозга (энцефалит) и/или мозговых оболочек (менингит) (Valarcher et al., 2015). Возбудителем клещевого энцефалита является РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Flaviviridae*, который передается человеку через укус инфицированных клещей из рода *Ixodes* (Gritsun et al., 2003; Юдин и др., 2018). Клещевой энцефалит распространен в России, Прибалтике, Скандинавии, Восточной и Центральной Европе, Китае и Японии (Steffen, 2019). Случаи заболевания все чаще отмечаются на новых территориях, что свидетельствует о миграции вируса (Jääskeläinen et al., 2016). Клинический спектр заболевания варьирует от легких лихорадочных до тяжелых форм, сопровождающихся поражением оболочек и вещества мозга. Смертность от клещевого энцефалита для вирусов европейского и сибирского субтипов составляет 0.5–2%. Это заболевание может привести к стойким неврологическим и психиатрическим осложнениям у 30–40% пациентов (Haglund, Günther, 2003; Karelis et al., 2012; Veje et al., 2016).

Наиболее эффективным способом профилактики клещевого энцефалита, формирующим длительный активный иммунитет, остается вакцинация (Воробьева и др., 2006). Например, в Австрии, где охват населения вакцинацией достиг 86%, начиная с 2001 г. случаи заболевания отмечены только среди непривитого населения (Heinz, Kunz, 2004). В России ежегодно от клещевого энцефалита вакцинируется не менее 2.5–3 млн человек (Онищенко, 2000). Однако уровень современных знаний о механизме развития иммунитета и возможности его прогнозирования, а также о наличии потенциальных побочных эффектов позволяет говорить о необходимости дифференцированного подхода к проведению профилактических вакцинаций (индивидуализации вакцинаций) (Медуницын, 2004). Основной принцип индивидуализации вакцинаций – создание достаточной иммунной защиты организма при избегании излишней иммунизации. Например, некоторые пациенты могут реагировать высокой выработкой антител уже на первичную вакцинацию и, таким образом, не требуют повторной ревакцинации. Поэтому по этическим и экономическим причинам избыточная иммунизация недопустима. Одним из подходов к индивидуализации вакцинации является выбор дозы вакцины в зависимости от

ожидаемого уровня иммунного ответа. Отсюда возникает необходимость в разработке методов прогнозирования величины иммунологических реакций пациента еще до проведения вакцинации. Известно, что индивидуальная вариабельность выработки и длительной циркуляции антител после вакцинации в значительной степени обусловлена генетическими особенностями индивида (Haralambieva et al., 2010; Gröndahl-Yli-Hannuksela et al., 2016; Yudin et al., 2018).

Теломеры – концевые участки хромосом, состоящие из сотен повторов (TTAGGG)_n и теломер-связывающих белков, которые предохраняют ДНК от деградации (Blackburn et al., 2015). Поскольку ДНК-полимераза не может реплицировать линейные концы хромосом, каждое деление клеток приводит к потере небольшого участка теломерной ДНК. В делящихся клетках утраченные фрагменты теломер восстанавливаются с помощью фермента теломеразы (Shaw, Autexier, 2008). Тем не менее критическое укорочение теломер, которое накапливается в ходе митозов, приводит к прекращению деления клетки или апоптозу (Harley et al., 1990).

Поскольку эффективный адаптивный иммунный ответ основан на клональной экспансии большого количества эффекторных лимфоцитов, поддержание длины теломер играет важную роль в регуляции пролиферации лимфоцитов (Hodes et al., 2002; Weng, 2012). Так, было показано, что активированные В-клетки герминативных центров лимфатических узлов имели повышенную длину теломер и повышенный уровень активности теломеразы по сравнению с неактивированными (наивными) В-клетками (Weng et al., 1997). Однако другие исследователи не смогли воспроизвести этот эффект (Son et al., 2003). Длина теломер в наивных Т-клетках превышала этот параметр в Т-клетках памяти у одного и того же индивида, независимо от возраста (Weng et al., 1995). Длина теломер лимфоцитов может существенно различаться между В- и Т-клетками (Lin et al., 2015). Хроническое воздействие высоких уровней антигенов у пациентов с хроническими вирусными инфекциями (вирусы Эпштейна–Барр, гепатита В/С/Д, ВИЧ и т. д.) может приводить к прогрессирующему укорочению теломер антигенспецифических Т-клеток, что, в свою очередь, ослабляет противовирусный иммунитет (Bellon, Nicot, 2017). В целом эти работы указывают на критическую роль длины теломер при активации Т и В-лимфоцитов.

Таким образом, длину теломер можно рассматривать как перспективный прогностический параметр для оценки иммунного ответа пациента при проведении вакцинации. Однако в литературе имеются лишь две работы, в которых длину теломер анализировали после вакцинации, – против гриппа (Najago et al., 2015) и опоясывающего герпеса (Verschoor et al., 2017). Целью нашей работы был анализ возможной ассоциации длины теломер лейкоцитов с уровнем специфических антител после вакцинации против клещевого энцефалита.

Материалы и методы

В исследование было включено 55 мужчин и 40 женщин в возрасте от 15 до 30 лет (средний возраст 24.9 ± 0.5), ранее не вакцинированных против клещевого энцефалита и не имевших, по результатам анкетирования, контактов с клещами. Испытуемые заполняли анкеты самостоятельно, включая информацию о возрасте, поле, социальном положении (в баллах от 1 до 6), образовании (в баллах от 1 до 5), занимаемой должности (в баллах от 1 до 6), наличии психоэмоционального стресса (да/нет), курении (в баллах от 1 до 3), употреблении алкоголя (в баллах от 1 до 4), наличии аллергии (да/нет), частоте респираторных заболеваний в предшествующий вакцинации период (в баллах от 1 до 3), наличии хронического заболевания (тонзиллит, бронхит, пиелонефрит и т. д.) (да/нет). Вакцинацию проводили вакциной для профилактики клещевого энцефалита «ЭнцеВир» (НПО «Микроген», Томск) по рекомендованной производителем схеме. Все пациенты дали добровольное информированное согласие на участие в эксперименте. Исследование было одобрено этическим комитетом Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала ИЦиГ СО РАН.

Через месяц после вакцинации у пациентов брали пробы венозной крови. Уровень специфических антител IgG против вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) анализировали методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «ВектоВКЭ-IgG-стрип» (ЗАО «Вектор-Бест», р.п. Кольцово, Новосибирская область). По уровню ответа на вакцинацию пациентов делили на не реагирующих (уровень IgG против ВКЭ 0–100 МЕ/мл, в среднем 40.0 ± 5.8 ($n = 22$)), низкорезагировавших (101–200 МЕ/мл, в среднем 159.2 ± 6.9 ($n = 19$)) и высокорезагировавших (выше 200 МЕ/мл, в среднем 246.4 ± 2.4 ($n = 54$)).

Геномную ДНК выделяли из крови стандартным методом протеолитической обработки с последующей экстракцией фенолом (Sambrook, Russell, 2006). Исследование длины теломер лейкоцитов (ДТЛ) проводили с помощью количественной ПЦР в реальном времени (qPCR) (Cawthon, 2002). В качестве однокопийного референсного гена был взят ген β -глобина. Отдельные количественные реакции для теломер и гена β -глобина ставили в парных 96-луночных планках в идентичных позициях. Каждая планка включала серию разведений контрольного образца ДНК (0.78, 3.13, 12.5, 25, 100 нг), которые были использованы для создания калибровочной кривой. В каждую индивидуальную реакцию брали по 10 нг ДНК. Реакционная смесь для анализа теломер содержала следующие реагенты: 270 нМ tel1 праймер (5'-GGTTTTTGGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGTG

AGGGT-3'), 900 нМ tel2 праймер (5'-CACCAACTTCATCCACGTTCCACC-3'), 0.2X SYBR Green I, 5 мМ дитиотреитол, 1 % диметилсульфоксид, по 0.2 мМ каждого дезоксинуклеозидтрифосфата, 1.5 мМ $MgCl_2$, 1.25 ед. ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск) в конечном объеме 15 мкл буфера для ПЦР. Режим амплификации: денатурация при температуре 95 °С (10 мин), затем 25 циклов, включающих денатурацию при 95 °С (15 с), отжиг при 54 °С (30 с) и элонгацию при 72 °С (90 с).

Реакционная смесь для анализа гена β -глобина содержала следующие реагенты: 300 нМ HBG1 праймер (5'-GCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGC-3'), HBG2 праймер (5'-CACCAACTTCATCCACGTTCCACC-3'), 0.2X SYBR Green I, 5 мМ дитиотреитол, 1 % диметилсульфоксид, по 0.2 мМ каждого дезоксинуклеозидтрифосфата, 1.5 мМ $MgCl_2$, 1.25 ед. ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск) в конечном объеме 15 мкл буфера. ПЦР проводили в следующем режиме: денатурация при температуре 95 °С (3 мин), затем 35 циклов, включающих денатурацию при 95 °С (15 с), отжиг при температуре 58 °С (20 с) и элонгацию при 72 °С (20 с).

Обе реакции ставили на системе для ПЦР в реальном времени StepOnePlus (Applied Biosystems, США). Для каждого образца ДНК ПЦР выполняли не менее трех раз. Данные обрабатывали с помощью штатного программного обеспечения прибора. Проводили контроль качества и расчет отношения T/S (отношение сигналов теломер к однокопийному гену), чтобы получить относительную ДТЛ. Если кривые амплификации образца в трех репликах различались >0.5 цикла, то такой образец исключали из дальнейшего анализа. Каждая планка включала три контрольных образца с заранее определенной ДТЛ. Сопоставимость между планками контролировали по относительным интенсивностям сигналов контрольных образцов.

Данные по длине теломер проверяли на соответствие нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Поскольку данные не соответствовали нормальному распределению, то для дальнейшего статистического анализа их нормализовали с помощью логарифмической трансформации. Для наглядности в статье данные представлены с помощью нетрансформированных среднего арифметического и стандартной ошибки.

Для оценки ассоциации между длиной теломер и отдельными независимыми факторами, способными принципиально повлиять на результаты исследования (возраст, пол, социальное положение, образование, должность, психоэмоциональный стресс, курение, употребление алкоголя, частота респираторных заболеваний, наличие аллергии и хронического заболевания, ответ на вакцинацию), мы использовали одномерные линейный регрессионный и дисперсионный анализы. Связь длины теломер с ответом на вакцинацию против КЭ также проверяли с помощью метода общей линейной модели (general linear model, GLM). Парные сравнения проводили путем *post hoc* анализа с использованием критерия Фишера. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимали равным 0.05. Обработку результатов проводили с помощью пакета Statistica версии 8.0.

Результаты

Протективный уровень IgG против ВКЭ (выше 100 МЕ/мл) отмечался у 80.0 % женщин и 74.5 % мужчин, что хорошо соответствует данным других авторов, полученным при проведении вакцинопрофилактики клещевого энцефалита среди взрослого населения (Билалова, 2009). Это позволило нам сформировать репрезентативные группы нереагировавших (уровень IgG против ВКЭ 40.0 ± 5.8 , $n = 22$), низкорреагировавших (уровень IgG против ВКЭ 159.2 ± 6.9 , $n = 19$) и высокорреагировавших (уровень IgG против ВКЭ 246.4 ± 2.4 , $n = 54$) индивидов.

Мы применили одномерные регрессионный и дисперсионный анализы, чтобы определить, какие факторы могли влиять на длину теломер, и обнаружили, что на этот параметр как минимум на уровне тенденции ($p < 0.1$) оказывали влияние возраст, уровень образования, наличие психоэмоционального стресса и ответ на вакцинацию (табл. 1). С учетом этих результатов при анализе GLM в модель вводили ответ на вакцинацию как независимую величину, а возраст, уровень образования и психоэмоциональный стресс – как ковариаты. Методом GLM нами была выявлена ассоциация длины теломер с ответом на вакцинацию против клещевого энцефалита на уровне тенденции ($p < 0.1$) в общей группе обоих полов, а при разделении по полу – только у женщин (табл. 2). При попарном сравнении длина теломер у высокорреагировавших женщин была достоверно выше, чем у нереагировавших. Эти различия сохранялись также при объединении мужчин и женщин в одну группу.

Обсуждение

Длина теломер в нашем эксперименте, по данным одномерных регрессионного и дисперсионного анализов как минимум на уровне тенденции ($p < 0.1$), зависела как от ответа на вакцинацию, так и от возраста, уровня образования и наличия психоэмоционального стресса (см. табл. 1). Зависимое от хронологического возраста укорочение длины теломер хорошо изучено у человека и, по-видимому, является результатом комбинированного воздействия оксидативного стресса, воспаления и повторяющегося деления клеток, а также возрастных заболеваний (Rizvi et al., 2014). Известно, что хронический стресс приводит также к укорочению длины теломер и подавлению активности теломеразы в клетках иммунной системы (Спивак и др., 2015; de Punder et al., 2018). Положительная корреляция длины теломер с уровнем образования в нашем исследовании, вероятно, связана с наличием значительных психоэмоциональных нагрузок у студентов и снижением их после окончания обучения.

Table 1. One-dimensional regression and variation analysis of the association of telomere length with vaccine-elicited immune response and other independent factors that can affect the results of the study

Factor	Criterion	<i>p</i>
Regression analysis		
Age*	$\beta = -0.178$	0.084
Social position	$\beta = 0.097$	0.350
Education	$\beta = 0.231$	0.024
Occupation	$\beta = -0.075$	0.466
Smoking status	$\beta = 0.154$	0.136
Alcohol consumption	$\beta = -0.076$	0.464
Respiratory disease	$\beta = 0.012$	0.906
Variation analysis		
Sex	F = 1.461	0.230
Psychoemotional state	F = 4.927	0.029
Allergy	F = 2.638	0.108
Chronic disease	F = 2.183	0.143
Response to vaccination	F = 2.568	0.082

* Parameters indicated in bold affected telomere length at least as a trend ($p < 0.1$). β is the value of standardized regression coefficient in regression analysis; F is the Fisher test value in variation analysis.

Как правило, женщины имеют более длинные теломеры, чем мужчины, и с возрастом эти различия усиливаются (Gardner et al., 2014). Хотя пол не оказывал существенного влияния на длину теломер по результатам одномерного дисперсионного анализа (см. табл. 1), мы анализировали ассоциацию длины теломер с ответом на вакцинацию как в общей группе, так и отдельно у мужчин и женщин. Оказалось, что женщины с высокой реакцией на вакцинацию имели достоверно более длинные теломеры, чем нереагировавшие. У мужчин этот эффект отсутствовал, но сохранялся при объединении обоих полов в одну группу. По-видимому, этот эффект связан с меньшим распространением среди женщин курения и злоупотребления алкоголем, которые приводят к укорочению длины теломер (Freitas-Simoes et al., 2016; Astuti et al., 2017). Другие исследователи обнаружили, что ассоциация длины теломер с сахарным диабетом (Wang et al., 2016) или социальным стрессом (Willis et al., 2018) также зависит от пола. Ранее нами были выявлены противоположные корреляции длины теломер с объемом талии у мужчин и женщин (Максимов и др., 2016).

Table 2. Association between leukocyte telomere length and antibody response following the administration of tick-borne encephalitis vaccine

Group	Leukocyte telomere length*			<i>p</i>
	No response	Weak response	High response	
Men	1.229 ± 0.108 (14)	1.169 ± 0.117 (12)	1.348 ± 0.075 (29)	0.453
Women	1.075 ± 0.182 (8)	1.420 ± 0.195 (7)	1.514 ± 0.103 (25)**	0.096
Both sexes	1.173 ± 0.096 (22)	1.262 ± 0.104 (19)	1.425 ± 0.061 (54)***	0.076

* Mean \pm standard error (number of observations); ** $p = 0.035$ and *** $p = 0.028$ with reference to the nonresponding group according to GLM.

Наши данные хорошо соответствуют полученным ранее результатам о положительной ассоциации длины теломер с ответом В- и Т-клеток на вакцинацию против гриппа у пожилых субъектов (Najarro et al., 2015). Однако в работе (Verschoor et al., 2017) длина теломер не коррелировала с иммунным ответом после вакцинации против опоясывающего герпеса. Отсутствие ассоциации в последнем случае может быть связано с тем, что это исследование проводили на лицах преклонного возраста (80–102 года). Уровень специфических антител после вакцинации, особенно в пожилом возрасте, может зависеть от множества факторов: генетической предрасположенности (Haralambieva et al., 2010; Gröndahl-Yli-Hannuksela et al., 2016; Yudin et al., 2018), характера питания и физических нагрузок (Sagawa et al., 2011), типа и дозы вакцины (Cools et al., 2009) и сопутствующих заболеваний (Muszkat et al., 2003).

Конкретный фундаментальный механизм, лежащий в основе наблюдаемой зависимости между длиной теломер лейкоцитов и величиной иммунного ответа на вакцинацию, в настоящее время не вполне понятен. Известно, что длина теломер может регулировать экспрессию генов задолго до того, как теломеры достаточно укорачиваются, чтобы вызвать клеточный ответ на повреждение ДНК (Laberthonniere et al., 2019). На культурах клеток человека было показано, что «выпетливание» хромосом может сближать «длинные» теломеры с генами на расстоянии до 10 млн п. н. друг от друга, а при укороченных теломерах эти локусы остаются физически разделенными (так называемый теломерный эффект положения на длинных расстояниях, TRE-OLD) (Robin et al., 2014). В частности, авторы обнаружили, что посредством TRE-OLD длина теломер может регулировать экспрессию генов иммунной системы (ген системы комплемента *C1S* и ген сигнального пути интерферона *ISG15*). А.К. Mukherjee с коллегами (2018) показали, что белки шелтерина (белковый комплекс, защищающий теломеры от механизмов репарации ДНК и регулирующий активность теломеразы) способны также регулировать экспрессию генов вне теломерных районов. Например, связывание белка шелтерина TRF2 с промоторами генов на расстоянии до 60 млн п. н. от теломерной ДНК зависело от длины теломер.

Заключение

Таким образом, нами обнаружена ассоциация длины теломер лейкоцитов и уровня специфических антител после вакцинации против клещевого энцефалита у женщин. Хотя длина теломер лимфоцитов может различаться между В- и Т-клетками (Lin et al., 2015), а также разновидностями В- и Т-клеток (Weng et al., 1995, 1997), по-видимому, длину теломер лейкоцитов в крови можно рассматривать в качестве перспективного маркера для прогноза пролиферативного ответа лимфоцитов и величины иммунологической реакции пациента в ответ на вакцинацию.

Список литературы / References

Билалова Г.П. Вопросы практического применения вакцины «Энцевир». Сиб. мед. журн. 2009;2:86-91.
[Bilalova G.P. Issues of the practical using of Encevir vaccine. *Sibirskiy Meditsinskiy Zhurnal = Siberian Medical Journal (Tomsk)*. 2009;2:86-91. (in Russian)]

- Воробьева М.С., Ращепкина М.Н., Павлова Л.И., Быстрицкий Л.Д., Ставицкая Н.Х., Ильченко Т.Э., Билалова Г.П., Мищенко И.А., Шарова О.И. Вакцинопрофилактика клещевого энцефалита на современном этапе и препараты для ее реализации. *Бюлл. сиб. медицины*, 2006;5(S1):63-71.
[Vorob'yeva M.S., Rashchepkina M.N., Pavlova L.I., Bystritskiy L.D., Stavitskaya N.H., Il'chenko T.E., Bilalova G.P., Mishchenko I.A., Sharova O.I. The present vaccinoprophylaxis of tick-borne encephalitis and vaccines for its provision. *Byulleten' Sibirskoy Meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*. 2006;5(S1):63-71. (in Russian)]
- Максимов В.Н., Малютина С.К., Орлов П.С., Иванощук Д.Е., Воробьева Е.Н., Бобак М., Воевода М.И. Длина теломер лейкоцитов как маркер старения и фактор риска развития возрастзависимых заболеваний у человека. *Усп. геронтол.* 2016;29(5):702-708.
[Maksimov V.N., Malyutina S.K., Orlov P.S., Ivanoshchuk D.E., Vorob'yeva E.N., Bobak M., Voevoda M.I. Length telomere leukocytes as aging markers and risk factors for age-related diseases in humans. *Uspekhi Gerontologii = Advances in Gerontology*. 2016;29(5):702-708. (in Russian)]
- Медуницын Н.В. Вакцинология. М.: Триада-Х, 2004.
[Medunitsin N.V. *Vaccinology*. Moscow: Triada-X Publ., 2004. (in Russian)]
- Онищенко Г.Г. Распространение вирусных природноочаговых инфекций в Российской Федерации и меры по их профилактике. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2000;4:4-8.
[Onishchenko G.G. The spread of viral natural focal infections in the Russian Federation and measures for their prevention. *Epidemiologiya i Infektsionnyye Bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*. 2000;4:4-8. (in Russian)]
- Спивак И.М., Михельсон В.М., Спивак Д.Л. Длина теломер, активность теломеразы, стресс и старение. *Усп. геронтол.* 2015;28(3):441-448.
[Spivak I.M., Mikhelson V.M., Spivak D.L. Telomere length, telomerase activity, stress and aging. *Uspekhi Gerontologii = Advances in Gerontology*. 2015;28(3):441-448. (in Russian)]
- Юдин Н.С., Бархаш А.В., Максимов В.Н., Игнатъева Е.В., Ромашенко А.Г. Генетическая предрасположенность человека к заболеваниям, вызываемым вирусами семейства Flaviviridae. *Молекуляр. биология.* 2018;52(2):190-209. DOI 10.7868/S0026898418020039.
[Yudin N.S., Barkhash A.V., Maksimov V.N., Ignatiyeva Ye.V., Romashchenko A.G. Human genetic predisposition to diseases caused by viruses of the Flaviviridae family. *Molecular Biology (Moscow)*. 2018;52(2):165-181. DOI 10.1134/S0026893317050223.]
- Astuti Y., Wardhana A., Watkins J., Wulaningsih W.; PILAR Research Network. Cigarette smoking and telomere length: A systematic review of 84 studies and meta-analysis. *Environ. Res.* 2017;158:480-489. DOI 10.1016/j.envres.2017.06.038.
- Bellon M., Nicot C. Telomere dynamics in immune senescence and exhaustion triggered by chronic viral infection. *Viruses*. 2017;9(10). DOI 10.3390/v9100289.
- Blackburn E.H., Epel E.S., Lin J. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*. 2015;350(6265):1193-1198. DOI 10.1126/science.aab3389.
- Cawthon R.M. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(10):e47.
- Cools H.J., Gussekloo J., Remmerswaal J.E., Remarque E.J., Kroes A.C. Benefits of increasing the dose of influenza vaccine in residents of long-term care facilities: a randomized placebo-controlled trial. *J. Med. Virol.* 2009;81(5):908-914. DOI 10.1002/jmv.21456.
- de Punder K., Heim C., Wadhwa P.D., Entringer S. Stress and immunosenescence: The role of telomerase. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;101:87-100. DOI 10.1016/j.psyneuen.2018.10.019.
- Freitas-Simoes T.M., Ros E., Sala-Vila A. Nutrients, foods, dietary patterns and telomere length: Update of epidemiological studies and randomized trials. *Metabolism*. 2016;65(4):406-415. DOI 10.1016/j.metabol.2015.11.004.

- Gardner M., Bann D., Wiley L., Cooper R., Hardy R., Nitsch D., Martin-Ruiz C., Shiels P., Sayer A.A., Barbieri M., Bekaert S., Bischoff C., Brooks-Wilson A., Chen W., Cooper C., Christensen K., De Meyer T., Deary I., Der G., Diez Roux A., Fitzpatrick A., Hajat A., Halaschek-Wiener J., Harris S., Hunt S.C., Jagger C., Jeon H.S., Kaplan R., Kimura M., Lansdorp P., Li C., Maeda T., Mangino M., Nawrot T.S., Nilsson P., Nordfjall K., Paolisso G., Ren F., Riabowol K., Robertson T., Roos G., Staessen J.A., Spector T., Tang N., Unryn B., van der Harst P., Woo J., Xing C., Yadegarfar M.E., Park J.Y., Young N., Kuh D., von Zglinicki T., Ben-Shlomo Y.; Halcyon study team. Gender and telomere length: systematic review and meta-analysis. *Exp. Gerontol.* 2014;51:15-27. DOI 10.1016/j.exger.2013.12.004.
- Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003;57(1-2):129-146.
- Gröndahl-Yli-Hannuksela K., Vahlberg T., Ilonen J., Mertsola J., He Q. Polymorphism of IL-10 gene promoter region: association with T cell proliferative responses after acellular pertussis vaccination in adults. *Immunogenetics.* 2016;68(9):733-741. DOI 10.1007/s00251-016-0923-0.
- Haglund M., Günther G. Tick-borne encephalitis – pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine.* 2003;21(Suppl. 1):S11-S18.
- Haralambieva I.H., Dhiman N., Ovsyannikova I.G., Vierkant R.A., Pankrat V.S., Jacobson R.M., Poland G.A. 2'-5'-Oligoadenylate synthetase single-nucleotide polymorphisms and haplotypes are associated with variations in immune responses to rubella vaccine. *Hum. Immunol.* 2010;71(4):383-391. DOI 10.1016/j.humimm.2010.01.004.
- Harley C.B., Futcher A.B., Greider C.W. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature.* 1990;345(6274):458-460.
- Heinz F.X., Kunz C. Tick-borne encephalitis and the impact of vaccination. *Arch. Virol. Suppl.* 2004;18:201-205.
- Hodes R.J., Hathcock K.S., Weng N.P. Telomeres in T and B cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2002;2(9):699-706.
- Jääskeläinen A., Tonteri E., Pieninkeroinen I., Sironen T., Voutilainen L., Kuusi M., Vaheri A., Vapalahti O. Siberian subtype tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* in a newly emerged focus, Finland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016;7(1):216-223. DOI 10.1016/j.ttbdis.2015.10.013.
- Karelis G., Bormane A., Logina I., Lucenko I., Suna N., Krumina A., Donaghy M. Tick-borne encephalitis in Latvia 1973–2009: epidemiology, clinical features and sequelae. *Eur. J. Neurol.* 2012;19(1):62-68. DOI 10.1111/j.1468-1331.2011.03434.x.
- Laberthonniere C., Magdinier F., Robin J.D. Bring it to an end: does telomeres size matter? *Cells.* 2019;8(1):pii: E30. DOI 10.3390/cells8010030.
- Lin Y., Damjanovic A., Metter E.J., Nguyen H., Truong T., Najarro K., Morris C., Longo D.L., Zhan M., Ferrucci L., Hodes R.J., Weng N.P. Age-associated telomere attrition of lymphocytes *in vivo* is co-ordinated with changes in telomerase activity, composition of lymphocyte subsets and health conditions. *Clin. Sci. (Lond.).* 2015;128(6):367-377. DOI 10.1042/CS20140481.
- Mukherjee A.K., Sharma S., Sengupta S., Saha D., Kumar P., Hussain T., Srivastava V., Roy S.D., Shay J.W., Chowdhury S. Telomere length-dependent transcription and epigenetic modifications in promoters remote from telomere ends. *PLoS Genet.* 2018;14(11):e1007782. DOI 10.1371/journal.pgen.1007782.
- Muszkat M., Friedman G., Dannenberg H.D., Greenbaum E., Lipo M., Heymann Y., Zakay-Rones Z., Ben-Yehuda A. Response to influenza vaccination in community and in nursing home residing elderly: relation to clinical factors. *Exp. Gerontol.* 2003;38(10):1199-1203.
- Najarro K., Nguyen H., Chen G., Xu M., Alcorta S., Yao X., Zukley L., Metter E.J., Truong T., Lin Y., Li H., Oelke M., Xu X., Ling S.M., Longo D.L., Schneck J., Leng S., Ferrucci L., Weng N.P. Telomere length as an indicator of the robustness of B- and T-cell response to influenza in older adults. *J. Infect. Dis.* 2015;212(8):1261-1269. DOI 10.1093/infdis/jiv202.
- Rizvi S., Raza S.T., Mahdi F. Telomere length variations in aging and age-related diseases. *Curr. Aging Sci.* 2014;7(3):161-167.
- Robin J.D., Ludlow A.T., Batten K., Magdinier F., Stadler G., Wagner K.R., Shay J.W., Wright W.E. Telomere position effect: regulation of gene expression with progressive telomere shortening over long distances. *Genes Dev.* 2014;28(22):2464-2476. DOI 10.1101/gad.251041.114.
- Sagawa M., Kojimahara N., Otsuka N., Kimura M., Yamaguchi N. Immune response to influenza vaccine in the elderly: association with nutritional and physical status. *Geriatr. Gerontol. Int.* 2011;11(1):63-68. DOI 10.1111/j.1447-0594.2010.00641.x.
- Sambrook J., Russell D.W. *The Condensed Protocols from Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor; New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2006.
- Shawi M., Autexier C. Telomerase, senescence and ageing. *Mech. Ageing Dev.* 2008;129(1-2):3-10. DOI 10.1016/j.mad.2007.11.007.
- Son N.H., Joyce B., Hieatt A., Chrest F.J., Yanovski J., Weng N.P. Stable telomere length and telomerase expression from naive to memory B-lymphocyte differentiation. *Mech. Ageing Dev.* 2003;124(4):427-432.
- Steffen R. Tick-borne encephalitis (TBE) in children in Europe: Epidemiology, clinical outcome and comparison of vaccination recommendations. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019;10(1):100-110. DOI 10.1016/j.ttbdis.2018.08.003.
- Valarcher J.F., Haglund S., Juremalm M., Blomqvist G., Renstrom L., Zohari S., Leijon M., Chirico J. Tick-borne encephalitis. *Rev. Sci. Tech.* 2015;34(2):453-466.
- Veje M., Nolskog P., Petzold M., Bergström T., Lindén T., Peker Y., Studahl M. Tick-borne encephalitis sequelae at long-term follow-up: a self-reported case-control study. *Acta Neurol. Scand.* 2016;134(6):434-441. DOI 10.1111/ane.12561.
- Verschoor C.P., Lelic A., Parsons R., Eveleigh C., Bramson J.L., Johnstone J., Loeb M.B., Bowdish D.M.E. Serum C-reactive protein and congestive heart failure as significant predictors of herpes zoster vaccine response in elderly nursing home residents. *J. Infect. Dis.* 2017;216(2):191-197. DOI 10.1093/infdis/jix257.
- Wang J., Dong X., Cao L., Sun Y., Qiu Y., Zhang Y., Cao R., Covasa M., Zhong L. Association between telomere length and diabetes mellitus: A meta-analysis. *J. Int. Med. Res.* 2016;44(6):1156-1173. DOI 10.1177/0300060516667132.
- Weng N.P. Telomeres and immune competency. *Curr. Opin. Immunol.* 2012;24(4):470-475. DOI 10.1016/j.coi.2012.05.001.
- Weng N.P., Granger L., Hodes R.J. Telomere lengthening and telomerase activation during human B cell differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997;94(20):10827-10832.
- Weng N.P., Levine B.L., June C.H., Hodes R.J. Human naive and memory T lymphocytes differ in telomeric length and replicative potential. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995;92(24):11091-11094.
- Willis M., Reid S.N., Calvo E., Staudinger U.M., Factor-Litvak P. A scoping systematic review of social stressors and various measures of telomere length across the life course. *Ageing Res. Rev.* 2018;47:89-104. DOI 10.1016/j.arr.2018.07.006.
- Yudin N.S., Igoshin A.V., Lutova S.L., Gon Ya., Voevoda M.I., Belyavskaya V.A. Association between polymorphisms in genes encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetases and the humoral immune response upon vaccination against tick-borne encephalitis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2018;22(4):445-451. DOI 10.18699/VJ18.381. (in Russian)

ORCID ID

N.S. Yudin orcid.org/0000-0002-1947-5554
D.E. Ivanoshchuk orcid.org/0000-0002-0403-545X
M.I. Voevoda orcid.org/0000-0001-9425-413X

Acknowledgements. This study was supported by the Russian Science Foundation (project No. 16-15-00127).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received December 3, 2018. Revised August 6, 2019. Accepted August 7, 2019.