

Серопревалентность гепатитов В и С у больных с хронической патологией органов пищеварения, пути и факторы передачи возбудителей инфекции

**А.Л. ГУРАЛЬ, В.Ф. МАРИЕВСКИЙ, О.Н. РУБАН,
В.Р. ШАГИНЯН, Т.А. СЕРГЕЕВА**

Показано широкое распространение маркеров HBV и HCV среди пациентов с хроническими заболеваниями органов пищеварения. У больных с хронической патологией печени серологические маркеры выявлялись чаще, чем у лиц с другими заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Определены основные факторы риска инфицирования HBV и HCV и их наиболее неблагоприятные комбинации.

Ключевые слова: *серологические маркеры вирусов гепатитов В и С, хронические заболевания органов пищеварения, пути и факторы передачи возбудителей инфекции*

Hepatitis B and C seroprevalence for patients with chronic diseases of alimentary tract; routs and modes of infection agent' transmission

**A.L. GURAL, V.F. MARIEVSKIY, O.M. RUBAN,
V.R. SHAGINIAN, T.A. SERGEYEVA**

It was shown the high prevalence of HBV and HCV markers for patients with chronic diseases of alimentary tract. Of the group of patients with chronic pathology of the liver serological markers were detected more frequently then in subjects with other diseases of intestinal tract. It was determined the major risks' factors and their unfavorable combinations for HBV and HCV infections.

Key words: *hepatitis' B and C serological markers, chronic diseases of alimentary tract, routs and modes of infection agents' transmission*

УДК577.27:576.31(611.018.51):579.841.95

Цитоморфологические изменения клеток иммунной системы и естественной резистентности периферической крови привитых живой туляремийной вакциной под влиянием туляремийных микробов различной вирулентности in vitro

Г.Н. ДЖУРТУБАЕВА

г. Одесса

Живая туляремийная вакцина индуцирует селекцию специфических субпопуляций Т-лимфоцитов, которые иницируют развитие защитного уровня иммунного ответа, способного контролировать репродукцию вакцинного штамма и в существенно меньшей степени вирулентного. Тот факт, что вакцина не является полностью безвредной для организма людей и относительный защитный уровень иммунитета в отношении вирулентных штаммов F.tularensis у вакцинированных живой туляремийной вакциной, обосновывают необходимость тщательного отбора контингентов людей подлежащих иммунизации.

Ключевые слова: туляремия, вакцинопрофилактика, вирулентные, вакцинные штаммы, протективный иммунитет

Живая туляремиальная вакцина (ЖТВ) индуцирует селекцию специфических субпопуляций Т-лимфоцитов, которые инициируют развитие защитного уровня иммунного ответа, способного контролировать репродукцию вакцинного штамма и в существенно меньшей степени вирулентного. Тот факт, что вакцина не является полностью безвредной для организма людей и относительный защитный уровень иммунитета в отношении вирулентных штаммов *F.tularensis* у вакцинированных ЖТВ, обосновывают необходимость тщательного отбора контингентов людей подлежащих иммунизации.

Цель: выявить информативные показатели, характеризующие защитный уровень иммунитета, и степень специфической сенсibilизации (аллергический компонент) у привитых ЖТВ.

Материалы и методы

Клеточно-опосредованный иммунитет исследован у вакцинированных и ревакцинированных ЖТВ в различные сроки после прививки (1, 2, 5, 10 лет после вакцинации и 2, 3, 8 лет после ревакцинации). Методы выделения и культивирования лейкоцитов периферической крови (ПК) привитых, методология исследования взаимоотношений шт. *F.tularensis* различной вирулентности с клетками ПК изложены [1]. В работе использованы туляремиальные бактерии вирулентного штамма 359, изолированного от больного туляремией, а также вакцинный штамм 15, его SR- и R-варианты, присутствующие в различных соотношениях в вакцинном препарате. Заражающая доза колебалась от 50 до 500 микробных тел на клетку и вызывала характерные морфологические изменения моноцитов-макрофагов ПК непривитых доноров в течение 24 часов сокультивирования.

В использованной тест-системе представлены основные типы клеток иммунной системы, естественной резистентности и тромбоциты, которые принимают участие в распознавании, презентации антигенов, секретирующие и воспринимающие медиаторы иммунного ответа. В тест-системе одновременно присутствуют моноциты-макрофаги, в которых размножаются туляремиальные микробы, Т- и В-лимфоциты, гранулоциты и тромбоциты, ответственные за развитие иммунного ответа. Указанная клеточная тест-система *in vitro* модулирует иммунный ответ организма привитого ЖТВ на туляремиальные бактерии и позволяет выявлять показатели характеризующие уровень специфического клеточного иммунитета к штаммам *F.tularensis holarctica* различной вирулентности. Для воспроизведения всего спектра иммунных реакций, развивающихся *in vivo* у привитых ЖТВ, использованы живые

туляремиальные бактерии. При этом в тест-системе присутствуют не только поверхностные антигены бактериальной клетки, но и стрессор-индуцибельные белки, синтезируемые бактериями в процессе взаимодействия с клетками-мишенями, как это имеет место *in vivo* при развитии инфекционного или вакцинального процесса [2].

Последовательные этапы развития иммунного ответа исследовали спустя 1–3, 7–8 и 24 часа от начала сокультивирования клеток и туляремиальных микробов. Это позволило устанавливать способность клеток ПК привитых ЖТВ поддерживать или контролировать репродукцию туляремиальных бактерий; определять структурно-функциональные изменения и кооперативные взаимодействия клеток иммунной системы и естественной резистентности; оценивать роль указанных клеток в развитии иммунного ответа на туляремиальные бактерии штаммов различной вирулентности; выбрать наиболее информативные показатели защитного уровня и специфической сенсibilизации. Объективность оценки избранных критериев (уровень бласттрансформации лимфоцитов, ассоциации различных типов клеток и их цитодеструктивные изменения – апоптоз, коллоидальное осмотическое набухание, цитоллиз и другие) основывается на достоверной идентификации клеток и тромбоцитов, сохранности их пространственного расположения в ходе экспериментов, четко дифференцируемым морфологическим признакам нарушения клеточной структуры и репродукции туляремиальных бактерий. При этом нами приняты во внимание современные данные о функциях различных типов клеток иммунной системы и естественной резистентности человека, их участии в распознавании и презентации антигена, секреции и восприятии медиаторов воспаления и иммунного ответа, спектре и биологических эффектах секретируемых ими продуктов [3].

Фрагментацию клеточной ДНК в культурах ПК, зараженных туляремиальными микробами, устанавливали с помощью электрофоретического анализа, используя ДНК-маркер М-28 (от 100 до 3000 базовых пар нуклеотидов).

Результаты

В результате исследования иммунного ответа на шт. *F.tularensis* различной вирулентности у вакцинированных и ревакцинированных ЖТВ в различные сроки после прививки были идентифицированы наиболее значимые морфологические признаки, характеризующие суммарное действие на клетки многочисленных биологически активных веществ, которые синтезируются в процессе развития иммунного ответа, а также признаки репродукции туляремиальных бактерий.

При сравнительном анализе структурно-функциональных изменений под влиянием штаммов различной вирулентности клеток ПК

вакцинированных и ревакцинированных ЖТВ людей в различные сроки после иммунизации выявлено ряд информативных показателей, характеризующих напряженность клеточного иммунитета, степень специфической сенсibilизации, особенности вакцинального и ревакцинального иммунитета, продолжительность его сохранения.

Для анализа были отобраны следующие критерии оценки иммунного ответа: а) степень спонтанной и антигенспецифической бласттрансформации лимфоцитов, б) хемотаксисная активность нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов-макрофагов, в) кооперативные взаимодействия разных типов клеток и тромбоцитов и характер цитодеструктивных изменений (коллоидальное осмотическое набухание, апоптоз, цитолиз и другие изменения), г) способность клеточной тест-системы контролировать внутриклеточный рост туляремийных бактерий.

Анализ спонтанной (контрольные препараты) и антигенспецифической бластной реакции лимфоцитов привитых ЖТВ людей выявил три четко морфологически дифференцируемых степени трансформирующего эффекта туляремийных бактерий. Первая степень характеризуется наличием на препарате изолированных бластных форм, вторая – групп из 2–3 связанных между собой лимфобластов, и третья – кластеров и/или цепочек из 4–5 и более ассоциированных бластных форм.

Снижение интенсивности трансформирующего эффекта выявлено при наличии признаков репродукции туляремийных бактерий (через 10 лет после вакцинации ЖТВ и 8 лет после ревакцинации), а также под влиянием вирулентного штамма. Последний факт указывает на различную композицию иммунодоминантных антигенов вирулентного и вакцинного штаммов, об утрате последним ряда детерминант вирулентности, что приводит к индукции у привитых ЖТВ не всего набора антигенспецифических субпопуляций Т-лимфоцитов, необходимых для полной защиты макроорганизма от вирулентного возбудителя. Это положение подтверждается данными о клональной экспансии субпопуляции V γ 9V δ 2Т- клеток у больных туляремией, но не у привитых ЖТВ [4].

Следует отметить, что все варианты вакцинного штамма стимулировали бласттрансформацию лимфоцитов, однако интенсивность и сроки ее развития значительно различались. Под влиянием SR-варианта переходные формы лимфоцитов и отдельные бласты наблюдали уже через 2 часа после контакта с клетками ПКЧ, а спустя 7 часов большинство лимфоцитов имели бластную форму. В присутствии R-варианта процесс бласттрансформации был более замедлен с пиком равным 24 часам. Сходная динамика этого процесса обнаружена под воздействием штамма 15.

Эти данные указывают на различную меру экспрессии установленных факторов вирулентности у SR- и R-вариантов вакцинного штамма и обосновывают необходимость контроля их соотношения в вакцине.

Спонтанная бласттрансформация у вакцинированных и ревакцинированных ЖТВ развивалась в более поздние сроки (24–48 часов) и сохранялась еще спустя 8-10 лет после прививки.

Величину специфической сенсибилизации (аллергического компонента) устанавливали по степени цитоморфологических изменений эозинофилов. Слабая степень характеризовалась низкой хемотаксисной активностью (размеры микровыростов не превышали размеры клеток) и отсутствием значительных изменений ядерной структуры. При умеренной степени отмечены высокая хемотаксисная активность (размеры микровыростов превышали размеры клеток), ориентированная концентрация гранул вдоль цитоплазматической мембраны, выход части гранул из клетки и их ассоциация с клетками-эффекторами, нарушение целостности плазматической мембраны на участке контакта с нейтрофилом и/или тромбоцитами, изменения структуры ядер (слияние сегментов, примембранная агрегация хроматина). При высокой степени специфической сенсибилизации наблюдали глубокие цитодеструктивные изменения эозинофилов: быстрая частичная или полная дегрануляция и десекреция гранул, увеличение размеров ядер и утрата ими способности воспринимать окраску гематоксилином, вытекание содержимого ядра за пределы клетки, пикноз ядер и их экзоцитоз.

Интенсивность и сроки развития описанных изменений зависели от кратности прививок (вакцинация, ревакцинация) и сроков, прошедших после иммунизации. У вакцинированных ЖТВ людей выявлены, главным образом, признаки слабой степени специфической сенсибилизации и лишь в ранние сроки после прививки (1–2 года) обнаруживается умеренная степень. Высокая степень специфической сенсибилизации выявляется только у ревакцинированных ЖТВ уже спустя 1–1,5 часа после сокультивирования клеток и туляремиальных бактерий. По мере увеличения срока после ревакцинации (8 лет) степень специфической сенсибилизации снижается и классифицируется как слабая или умеренная. Дифференциация реакции эозинофилов по степени специфической сенсибилизации позволяет оценивать величину специфического аллергического компонента у привитых и использовать эозинофилы в качестве клеток-индикаторов специфической сенсибилизации.

Важными показателями специфической сенсибилизации у привитых являются следующие реакции нейтрофилов на туляремиальные бактерии: активация или подавление хемотаксисной активности, коллоидальное осмотическое набухание и апоптоз. У вакцинированных ЖТВ в первые часы сокультивирования клеток с туляремиальными бактериями усиливается хемотаксисная активность нейтрофилов, а спустя 7–24 часа развиваются последовательные этапы апоптоза. У ревакцинированных основным наиболее демонстративным признаком гиперсенсибилизации является коллоидальное осмотическое набухание нейтрофилов. При

этом полностью прекращается хемотаксисная активность клеток, и процесс завершается апоптозом.

Защитный уровень клеточно-опосредованного иммунитета у привитых ЖТВ оценивали по морфологическим изменениям моноцитов-макрофагов и репродукции в них туляремиальных бактерий. О наличии протективного иммунитета свидетельствует сохранность структуры моноцитов-макрофагов и формирование кластеров. Низкий защитный уровень клеточного иммунитета характеризует наличие цитодеструктивных изменений моноцитов-макрофагов и цитоскелетов нейтрофилов, а также низкий уровень антигенспецифической бласттрансформации. В присутствии вирулентного штамма у привитых с защитным эффектом от вакцинного штамма наблюдается невысокий уровень репродукции возбудителя.

Во все исследованные сроки после иммунизации уже в первые 30 минут сокультивирования с вирулентным штаммом, наблюдалась тесная ассоциация Т-лимфоцитов вакцинированных ЖТВ с моноцитами-макрофагами, а при сокультивировании с вакцинным штаммом и его вариантами – с нейтрофилами. У ревакцинированных ассоциация Т-лимфоцитов с нейтрофилами и эозинофилами ПК привитых приводила к развитию коллоидального осмотического набухания, что свидетельствует о появлении у ревакцинированных субпопуляции цитотоксичных Т-лимфоцитов с характеристиками CD8 – Т- лимфоцитов [3].

Это подтверждает наличие у вирулентных штаммов высокоспецифических компонентов, авидных к рецепторам моноцитов-макрофагов, а у вакцинного штамма и его SR- и R-вариантов – к нейтрофилам, где туляремиальные бактерии не репродуцируются. Такое различие вызывает принципиально иную реакцию антигенспецифических Т-лимфоцитов, которые связываются с моноцитами-макрофагами в случае вирулентного штамма или с нейтрофилами при контакте с вакцинным штаммом. В результате в иммунный ответ включается различный спектр клеток, секретирующих неодинаковый набор медиаторов, ответственных за бактерицидный эффект. Сходные закономерности были обнаружены при исследовании кооперативных взаимодействий антигенспецифических В-лимфоцитов с другими типами клеток в тест-системе.

Установлено также активное участие тромбоцитов в развитии цитодеструктивных процессов клеток ПК привитых ЖТВ в иммунном ответе на туляремиальные бактерии, высокую степень кооперации тромбоцитов с нейтрофилами, эозинофилами и макрофагами-моноцитами, что обеспечивает амплификацию продуктов арахидоновой кислоты, которые участвуют в контроле инфекции [3].

Выявленные закономерности функционирования различных звеньев иммунитета и кооперативных взаимодействий клеток иммунной системы и естественной резистентности и способы оценки иммунного

ответа у вакцинированных и ревакцинированных ЖТВ могут быть учтены и использованы при установлении иммунологической эффективности и безопасности других вакцинных препаратов и сроков их повторных введений, что имеет особую актуальность в настоящее время в связи с недостаточным научным обоснованием схем вакцинопрофилактики многих инфекционных заболеваний и оценки безвредности для организма ряда вакцин.

Выводы

Достоверным показателем наличия защитного уровня иммунитета является способность клеточной тест-системы *in vitro* контролировать внутриклеточный рост туляремиальных бактерий. Вирулентный штамм активирует лишь часть защитных механизмов, создаваемых у привитых ЖТВ, что свидетельствует о разной композиции антигенов вакцинного и вирулентного штаммов.

Антигенспецифические Т- и В-лимфоциты привитых ЖТВ способны дифференцировать штаммы различной вирулентности и антигенной структуры, в том числе SR- и R-варианты вакцинного штамма, эти различия определяют необходимость контроля их соотношений в ЖТВ, используемой для прививки людей. Спонтанная бласттрансформация Т-лимфоцитов спустя 1–5 лет после прививки свидетельствует о длительной персистенции в организме привитого компонентов туляремиальных бактерий со свойствами суперантигенов.

Ревакцинация ЖТВ изменяет качественную и количественную структуру поствакцинального иммунитета, резко усиливает цитодеструктивные процессы во всех типах клеток иммунной системы и естественной резистентности ПК, индуцирует клональную экспансию субпопуляции Т-лимфоцитов с характеристиками цитотоксичных CD8 Т-лимфоцитов, которые существенно усиливают процессы специфической сенсibilизации (аллергический компонент). У ревакцинированных ЖТВ в первые месяцы после прививки уменьшается количество антигенспецифических субпопуляций Т- и В-лимфоцитов вследствие апоптотической гибели клеток памяти.

Литература

1. Спосіб оцінки захисного рівня протитуляреміяного клітинного імунітету / А.Г. Стопчанська // Патент на корисну модель № 49725, 11.05.2010 р.
2. Баснакьян И.А. Стрессор-индуцибельные бактериальные белки и вирулентность / И.А. Баснакьян, В.М. Бондаренко, В.А. Мельникова, В.А. Белявская // Журн. микробиол. – 2001. – № 5. – С. 101–108.
3. Sigal L.H. Immunology and Inflammation, basic mechanisms and clinical consequences / L.H. Sigal, Y. Roh. – 1999. – 805 p.
4. Sumida T. Predominant expansion of V γ 9/V δ 2T cell in a tularemia patient / T. Sumida, H. Maeda, H. Takahashi [et al.]. // Infect. Immun. – Vol. 60. – P. 2554–2558.

Цитоморфологічні зміни клітин імунної системи та природної резистентності периферійної крові щеплених живою туляремійною вакциною під впливом туляремійних бактерій різної вірулентності in vitro

Г.М. ДЖУРТУБАЕВА

*Жива туляремійна вакцина індукує селекцію специфічних субпопуляцій Т-лімфоцитів, які ініціюють розвиток захисного рівня імунної відповіді, здатної контролювати репродукцію вакцинного штаму і в значно меншій мірі вірулентного. Той факт, що вакцина не є повністю безпечною для організму людини, а також відносний захисний рівень імунітету до вірулентних штамів *F.tularensis* у вакцинованих живою туляремійною вакциною, обґрунтовує необхідність ретельного відбору контингенту людей, що підлягають імунізації.*

Ключові слова: туляремія, вакцинопрофілактика, вірулентні, вакцинні штами, протективний імунітет

Cytomorphologic changes in the cells of the immune system and natural resistance of peripheral blood of vaccinated with live tularemia vaccine under the influence of tularemia microbes of different virulence in vitro

G.N. DZHURTUBAEVA

*Live tularemia vaccine induces the selection of specific subpopulations of T-lymphocytes, which initiate the development of a protective level of immune response capable of controlling the reproduction of the vaccine strain that is significantly less virulent. The fact that the vaccine is not completely harmless to humans and the relative level of protective immunity against virulent strains in vaccinated by *F. tularensis* Live tularemia vaccine, grounds the need for careful selection of contingents of people to be immunized.*

Key words: tularemia, vaccination, virulence, vaccine strains, protective immunity

УДК 616.98.214.2-06+617-002.3-84

Використання препарату Імунофан в комплексній терапії хворих на бешиху

**Б.М. ДИКИЙ, О.Є. КОНДРИН, Р.М. МІЗЮК,
Б.А. КОНДРИН, Н.П. ГУРОВСЬКА**

м. Івано-Франківськ

У хворих на бешиху вивчали динаміку клінічних симптомів, лейкоцитарного індексу інтоксикації та кров'яно-клітинного показника під впливом використання в комплексній терапії препарату імунофан. Встановлено, що включення до комплексної терапії хворих на бешиху імуномодуючого препарату імунофану достовірно скорочує терміни тривалості клінічних проявів, попереджує виникнення гнійних запальних ускладнень та рецидивів хвороби.

Ключові слова: бешиха, імунофан, гнійно-запальні ускладнення, рецидиви