

immunity index) decreased. The degree of dysbiosis elevated in the all objects. Cranberry paste normalized these indices.

Conclusions: Stomatogenic endotoxemia causes the development of dysbiosis, inflammation and reduction of antioxidant defence. Cranberry biological active substance made medicinal and

prophylactic action.

Key words: stomatogenic endotoxemia, lipopolysaccharide, kidney, urine bladder, dysbiosis, inflammation, cranberry.

*Впервые поступила в редакцию 10.02.2016 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 613. 22: 517.156: 576. 858/8.0947

НАЛИЧИЕ КЛЕТОЧНЫХ КОМПОНЕНТОВ ХОЗЯИНА В ВАКЦИНАХ И ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ КРОВИ

Дивоча В.А.

Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса; divocha09@ukr.net

Работа посвящена изучению наличию компонентов клетки-хозяина и ее ингибитора в вакцинах и препаратах крови. Определяли наличие трипсиноподобной протеиназы и ее ингибитора в вакцинах и препаратах крови. Выявлено, что противогриппозные вакцины (инфлувак, ваксигрипп, флюарикс), герпетическая и туляремийная вакцины содержали большое количество ингибитора трипсиноподобной протеиназы. Коммерческие препараты из донорской крови человека (иммуноглобулин, интерферон, фраксипарин и солкосерил) содержали как трипсиноподобную протеиназу, так и ее ингибитор. Иммуноглобулин содержал в 4,0 раза больше ингибитора, чем интерферон. Следовательно, современные вакцины, применяемые для лечения, являются недостаточно очищенными и их применение для лечения необходимо проводить с учетом взаимодействия вируса гриппа с клеточными компонентами (ферментами и ингибиторами).

Ключевые слова: трипсиноподобная протеиназа, ингибитор, вакцины, иммунобиологические препараты крови.

Вакцинам в настоящее время принадлежит ведущая роль в профилактике гриппа и других вирусных инфекций [1]. Периодически возникающие эпидемии гриппа (1957 и 1959 гг., 1968-69 гг., 1977-78 гг., 2009-2010 гг.) в течение 9-10 мес. охватывали до 30 % населения земного шара. По данным МЗ Украины, в эпидемический сезон 1998-99 гг. в Украине заболело гриппом 7 % населения. В 2009-2010 гг. в период пандемии гриппа за медицинской помощью обратилось более 5 млн. человек, умерло 1127 чел., из которых 100 беременных женщин. Грипп поражал мужчин, женщин и детей разного возраста и национальностей. Анализ течения эпидемий в эти годы

выявил изменения возрастной группы людей. Гриппом болели в основном люди в работоспособном возрасте от 20 до 50 лет.

В 2012 г. гриппом заболели 23366 чел., а ОРВИ — 3969377 чел. Пик заболеваемости пришелся на март-апрель 2012 г. Самый высокий уровень заболеваемости отмечался в марте — 15819 случаев. Большую часть населения, перенесшего грипп составили дети — 144666 случаев. Дети составили основную часть населения, заболевшего ОРВИ — 4624437 случаев. В территориальном плане гриппом больше всего болело население северных и восточных областей

Украины (Черниговская и Донецкая). Самый высокий уровень заболеваемости ОРВИ наблюдался в восточных областях (Донецкая и Днепропетровская) и в г. Киеве.

В 2013 г. гриппом и ОРВИ заболело 6134755 человек, из которых 233500 — гриппом. Лабораторно подтвержденные случаи гриппа выявлены у 2908 человек. Умерло 18 человек (из них 1 ребенок). Заболеваемость ОРВИ зарегистрированы у 5901275 человек, из которых 3866280 — дети. Пик заболеваемости пришелся на февраль 2013 г. [21].

В период эпидемиологического сезона 2015-2016 гг., наблюдался подъем уровня заболеваемости гриппом, вызванного вирусом гриппа А (H1N1), который оказался очень агрессивным, с большим количеством тяжелых осложнений (вирусная пневмония). Эпидемия началась с южных регионов Украины (Одесская область) и распространилась на все регионы страны. На 9 февраля 2016 г. от осложнений гриппа в Украине умерло более 300 человек трудоспособного возраста.

Воздушно-капельный механизм передачи инфекции, высокая восприимчивость, наличие значительного процента стертых форм болезни и минимальный инкубационный период обуславливают бурный “взрывоподобный” подъем уровня заболеваемости. В таких условиях неспецифические санитарно-противоэпидемические меры (использование марлевых повязок, проветривание помещений, разобщение школьников и др.) не могут приостановить эпидемию гриппа и имеют ограниченную эффективность. Для предупреждения заболевания гриппом неоднократно предпринимались попытки использования различных химиопротективных и иммуномодулирующих препаратов. Однако необходимость многократного ежедневного применения таких лекарственных средств, побочные эффекты, кратковременное профилактическое действие побуждали ученых всего мира продолжать поиск

более эффективных способов защиты от гриппа. Со второй половины 30-х годов прошлого столетия были начаты фундаментальные работы по созданию эффективных противогриппозных вакцин в целях активной иммунизации как метода длительного профилактического действия.

В настоящее время профилактика гриппа с помощью вакцинации является общепризнанной и поддерживается специалистами всего мира. Вакцинация рекомендована ВОЗ в качестве единственной и обязательной меры предупреждения гриппа и его последствий для лиц из групп повышенного риска по развитию осложнений и смерти в результате заболевания гриппом [3, 4].

К группам повышенного риска (с небольшими различиями в разных странах) относятся:

- все лица в возрасте 60 лет и старше [8, 9, 11-13, 20];
- дети, содержащиеся в домах малюток, и лица, проживающие в домах-интернатах [13, 18];
- дети в возрасте до 3 лет [20];
- дети и взрослые с хроническими заболеваниями дыхательной и сердечно-сосудистой системы, больные бронхиальной астмой, сахарным диабетом, ревматизмом и другими хроническими заболеваниями [13, 14, 19];
- все лица с положительными результатами исследования на наличие ВИЧ и лица с ятрогенными иммунодефицитами [10, 16, 19];
- беременные.

Численность групп повышенного риска составляет обычно около 20 % общего населения, а количество вакцинированных среди них колеблется — от 80 % в Нидерландах, Франции, Бельгии, Испании до 30 % в Швейцарии и Великобритании, в Украине [7].

Вакцинацию рекомендуется проводить во всех группах повышенного рис-

ка, в которых благодаря этому удается существенно снизить число связанных с гриппом осложнений и смертность. Однако следует отметить, что эффективность вакцинации — величина переменная, причем в группе лиц пожилого возраста она может быть ниже 50 %. Ученые постоянно работают над новыми методами вакцинации, стремясь повысить ее эффективность. В предыдущих исследованиях, готовя вирус гриппа для получения поливакцины против гриппа, нами было установлено, что при очистке и концентрировании вируса гриппа методами скоростного центрифугирования в градиенте плотности сахарозы и электрофорезом в полиакриламидном геле вирус гриппа не освобождался от трипсиноподобной протеиназы [2, 3].

Целью данного исследования была проверка наличия трипсиноподобной протеиназы и ее ингибитора в противогриппозных и других вакцинах и иммунобиологических препаратах крови отечественного и зарубежного производства.

Материал и методы

В работе были использованы следующие коммерческие препараты: “Интерферон лейкоцитарный человеческий”, “Имуноглобулин человеческий плацентарный, донорский 10 %” (Биофарма, Киев), вакцину гонококковую (Биолек, Харьков) вакцину герпетическую (Одесский завод бакпрепаратов, Одесса), вакцины для профилактики гриппа, сезона 2002/2003 гг. — “Инфлувак”, которая состоит из гемагглютининов и нейраминидазы вируса гриппа, штаммов: *A/Moscow/10/99 (H3N2)*, *A/New Caledonia/20/99 (H/N)*, *B/Hong Kong /330/2001 (Solvay Pharmaceuticals B.V., Нидерланды)*, “Флюарикс”, которая состоит из гемагглютининов штаммов (*H1N1*) *A/New Caledonia (H3N2)*, *A/Panama* и *B/Shandong 17/97* (Смит Кляйн Бичем Байолоджикалз, Бельгия) и “Ваксигрип”, которая состоит из трёх штаммов вируса гриппа (Пастер Мерье Коннот, Франция), вакцину для профилактики гепатита А —

“Аваксим” (Пастер Мерье Коннот, Франция), препарат крови, полученный из гепарина (антифактор Ха) — “Фраксипарин” (*Sanofi-Chinoin*, Франция), препарат из крови телят для гемодиализа — “Солкосерил” (*Solco*, Швейцария). Препараты исследовались до окончания срока годности. Все препараты были закуплены в аптеках г. Одессы.

Активность трипсиноподобной протеиназы и ее ингибитора определяли методом А.П. Левицкого в нашей модификации [4], общий белок — методом О. Лоури [15].

Результаты и их обсуждение

В коммерческих препаратах “Имуноглобулин человеческий плацентарный”, “Интерферон человеческий лейкоцитарный”, герпетической, гонококковой и туляремийной вакцинах, обнаружено наличие трипсиноподобной протеиназы и ее ингибитора. Больше всего ингибитора трипсиноподобных протеиназ содержалось в иммуноглобулине (60,18 г/л). Он выявлен также в интерфероне (15,79 г/л) и в герпетической вакцине (19,75 г/л). Туляремийная вакцина содержала только следы ингибитора трипсиноподобных протеиназ (0,54 г/л). Гонновакцина не содержала ни ингибитора, ни протеиназы.

Таким образом, коммерческий препарат иммуноглобулин содержал наибольшее количество ингибитора трипсиноподобных протеиназ, по сравнению с другими препаратами, что, по нашему мнению, обуславливает часть протективных эффектов при многих тяжелых инфекционных заболеваниях.

Препараты зарубежных фирм также содержали ингибитор и трипсиноподобную протеиназу. Причем количество ингибитора в 250 раз превышало содержание протеиназы (таблица). Наибольшее количество ингибитора отмечалось в противогриппозной вакцине “Инфлувак” (180,86 г/л), несколько меньше в препарате “Фраксипарин” (111,30 г/л). Наименьшее количество ингибитора

Наличие протеиназы и ее ингибитора в коммерческих иммунобиологических препаратах, выпускаемых фирмами зарубежных стран (n = 3)

Таблица

Препарат	Белок, г/л	Протеиназа, мкмоль аргинина/мл	Ингибитор, г/л
Инфлувак	163,41 ± 12,02	1,53 ± 0,14	180,86 ± 17,34
Флюарикс	96,00 ± 8,09	0,61 ± 0,054	96,52 ± 9,24
Ваксигрип	29,20 ± 3,02	0,31 ± 0,03	101,73 ± 9,01
Аваксим	147,31 ± 13,21	0,24 ± 0,02	8,924 ± 0,77
Фраксипарин	48,17 ± 4,18	0,28 ± 0,03	111,30 ± 10,24
Солкосерил	4569 ± 412,26	0,26 ± 0,02	84,34 ± 8,27

трипсиноподобных протеиназ содержал препарат “Аваксим” (инактивированная вакцина против гепатита А).

Из этих трёх противогриппозных вакцин можно считать, что “Ваксигрип” имеет наибольшую эффективность, т. к. она содержит наименьшее количество трипсиноподобной протеиназы и большое количество ингибитора, влияющего, по нашему мнению, на формирование защитных сил организма, в то время как протеиназа может способствовать развитию вирусной инфекции.

Вакцину “Инфлувак” следовало бы поставить на последнее место по этим показателям, т. к. она содержит наибольшее количество трипсиноподобной протеиназы. Однако, по данным *I. Chaloupka* и соавт. [6] эта вакцина имеет высокое содержание овальбумина и среди часто применяемых вакцин дает наилучшие результаты [14, 20].

“Аваксим” (вакцина против гепатита А), состоит из штамма *GBM* вируса гепатита А (160 антигенных ед.) и содержит наименьшее количество ингибитора и протеиназы по сравнению с другими вакцинами.

Препарат крови “Фраксипарин” состоит из фрагментированных элементов гликозоаминогликана гепарина (9500 ME). Активным веществом является над-ропарин кальция — низкомолекулярный гепарин, полученный из стандартного гепарина методом деполимеризации в специальных условиях (данные инструкции). По нашим данным “Фраксипарин” содержит большое количество ингибито-

ра трипсиноподобной протеиназы и крайне незначительное количество протеиназы. По данным инструкции “Фраксипарин” характеризуется выраженной активностью в отношении фактора Ха. *J. Nagai* и соавт. [17] считают, что фактор Ха расщепляет гемагглютинин вируса гриппа на единственном аргининовом участке, на две субъединицы — HA_1 и HA_2 . Вирусактивирующая протеиназа и фактор Ха не только структурно, но и функционально подобны друг другу [17]. По классификации *Boehringer Mannheim Biochemica*, фактор Ха относится к сериновым протеиназам. Следовательно, “Фраксипарин” можно считать ингибитором трипсиноподобных протеиназ.

“Солкосерил” состоит из депротенизированного гемодиализата крови телят и содержит широкий спектр естественных низкомолекулярных веществ. По нашим данным “Солкосерил” имеет значительное количество ингибитора, очень мало протеиназы и очень большое количество общего белка.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что зарубежные препараты не очищены на 100 % от примесей или невозможно отделить вирусные белки от компонентов клетки. Вирусные белки прочно ассоциированы с компонентами клетки, поэтому структуру вируса гриппа следует рассматривать с учетом его взаимодействия с клеточными ферментами и их ингибиторами.

Выводы

1. Отечественные коммерческие препараты (иммуноглобулин человеческий, интерферон человеческий, герпетическая вакцина) содержали трипсиноподобную протеиназу и ее ингибитор. Туляремийная вакцина не содержала трипсиноподобной протеиназы, в ней определялись только

следы ингибитора. Гоновакцина, не содержала ни трипсиноподобной протеиназы, ни ее ингибитора.

2. Зарубежные противогриппозные вакцины ("Инфлувак", "Ваксигрип", "Флюарикс") и препараты крови ("Фраксипарин" и "Солкосерил") содержали большое количество ингибитора трипсиноподобной протеиназы.
3. Определение протеиназной и ингибирующей активности при изготовлении коммерческих препаратов, может служить маркером качества чистоты препарата.

Литература/References

1. Гендон Ю. З., Маркушин С. Т., Аكوпова И. И. и др. Разработка культуральной живой холодоадаптированной реассортантной гриппозной вакциной // *Вопр. вирусол.*- 2003.- / № 2.- С. 12-17. /Hendon Yu Z., Markushin ST, Akopova I. et al. Development of a culture of live cold-adapted reassortant influenza vaccine // *Problems. virusol.*- 2003.-Number 2.- pp 12-17. (in russ)
2. Дивоча В. А. Протеолитические ферменты в противогриппозных вакцинах // *Досягнення сучасної фармації — в медичну практику.*- Харків: 1996.- С. 96-97. / Divocha V.A. Proteolytic enzymes in influenza vaccines // *The achievements of modern pharmacy - medical praktyku.*- in Kharkov: 1996.- P. 96-97. (in russ)
3. Дівоча В. О. Вивчення протеолітичної активності у процесі очищення вірусу грипу шляхом центрифугування // *Одеський мед. журн.*- 2003.- № 1.- С. 16-19.
4. Дівоча В. О. Спосіб одержання інгібітору трипсиноподібних протеаз / Патент 23548 А Україна, МПК⁶ А 61 К 35/00.- Опубл. 02.06.98, Бюл. № 4. / Divocha V.A Study of proteolytic activity in the purification of influenza virus by centrifugation // *Odessa honey. zhurn.*- 2003.- № 1.- С. 16-19. (in ukr.)
5. Руденко А. А., Вовк А. Д., Боброва И. А. и др. Циклоферон в лечении заболеваний инфекционной природы: метод. рекомендации.- Киев: Киевский НИИ эпидемиол. и инфекц. болезней им. Л.В. Громашевского, 2000.- 24 с. / Rudenko A.A., Vovk A.D., Popova I.A. and others TSikloferon in the treatment of diseases of infectious nature: method. rekomendatsii.- Kiev: the Kiev scientific research institute of epidemiology. and infection. Diseases. LV Gromashevskiy, 2000.- 24 p.
6. Chaloupka I., Schuler A., Marschall M., Meier-Ewert H. Comparative analysis of six European influenza vaccines // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*- 1996.- 15, № 2.- P. 121-127.
7. Das Gupta R., Guest J. F. A model to estimate the cost benefit of an occupational vaccination programme for influenza with Influvac in the UK // *Pharmacoeconomics.*- 2002.- 20, № 7.- P. 475-484.
8. De Bruijn I. A., Nauta J., Cramer W. C. et al. Clinical experience with inactivated, virosomal influenza vaccine // *Vaccine.*- 2005.- 8, № 23.- P. 39-49.
9. De Jong J. C., Palache A. M., Beyer W. E. et al. Haemagglutination-inhibiting antibody to influenza virus // *Dev. Biol. (Basel).*- 2003.- 115.- P. 63-73.
10. Durando P., Fenoglio D., Boschini A et al. Safety and immunogenicity of two influenza virus subunit vaccines, with or without MF59 adjuvant, administered to human immunodeficiency virus type 1-seropositive and seronegative adults // *Clin. Vaccine Immunol.*- 2008.- 15, № 2.- P. 253-259.
11. Heckler R., Baillot A., Engelmann H. et al. Cross-protection against homologous drift variants of influenza A and B after vaccination with split vaccine // *Intervirology.*- 2007.- 50, № 1.- P. 58-62.
12. Huckriede A., Bungener L., Stegmann T. et al. The virosome concept for influenza vaccines // *Vaccine.*- 2005.- 8, № 23.- P. 26-38.
13. Isahak I., Mahayiddin A.A., Ismail R. Effectiveness of influenza vaccination in prevention of influenza-like illness among inhabitants of old folk homes // *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.*- 2007.- 38, № 5.- P. 841-648.
14. Jahnz-Rzyk K., Brydak L. B., Targowski T. et al. Effect of influenza vaccinations on immune response and serum eotaxin level in patients with allergic bronchial asthma / *Mediators Inflamm.*- 2004.- 13, № 3.- P. 195-199.
15. Lowry O. H., Rosenbrough N. Y., Farr A L, Randai R. Y. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.*- 1951.- 193.- P. 265-275.

16. Magnani G., Falchetti E., Pollini G. et al. Safety and efficacy of two types of influenza vaccination in heart transplant recipients: a prospective протеїназ controlled study // J. Heart Lung Transplant.- 2005.- 24, № 5. — P. 588-592.
17. Nagai J.,Goton B., Odasawara T. et al. An endoprotease homologous to the blood clotting factor X as a determinant of viral tropism in chick embryo // EMBO.- 1990.- 5.-P. 4189-4195.
18. Schmidt-Ott R., Schwarz T., Haase R. et al. Immunogenicity and reactogenicity of a trivalent influenza split vaccine in previously unvaccinated children aged 6-9 and 10-13 years // Vaccine.- 2007.- 26, № 1.- P. 32-40.
19. Stojanovich L. Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA) // Clin. Dev. Immunol.- 2006.- 13, № 2-4.- P. 373-375.
20. Zhu F. C., Zhou W., Pan H. et al. Safety and immunogenicity of two subunit influenza vaccines in healthy children, adults and the elderly: a randomized controlled trial in China // Vaccine.- 2008.- 26, № 35.- P. 4579-4584.
21. Дивоча В.А. Тенденции в заболеваемости гриппом и ОРВИ // СЭС. Профилактическая медицина. — 2014. — № 1. — С. 36-38. / Trends in the incidence of influenza and SARS // SES. Preventive medicine. - 2014. - № 1. - S. 36-38. (in rus).

Резюме

**НАЯВНІСТЬ КЛІТКОВИХ КОМПОНЕНТІВ
ГОСПОДАРЯ У ВАКЦИНАХ ТА
ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТАХ
КРОВІ**

Дівоча В.П.

Визначали наявність трипсиноподібної протеїнази та її інгібітору у вакцинах та препаратах крові. Показано, що протигрипозні вакцини (Інфлувак, Ваксигрип, Флюарікс); герпетична та туляремійна вакцини містили у своєму складі велику кількість інгібітору трипсиноподібної протеїнази. Гоновакцина не містила

в собі ні протеїнази, ні її інгібітору. Комерційні препарати з донорської крові людини (імуноглобулін, інтерферон, фраксіпарин та солкосеріл) містили як трипсиноподібну протеїназу, так і її інгібітор. Імуноглобулін містив у чотири рази більше інгібітору, ніж інтерферон.

Ключові слова: *трипсиноподібна протеїназа, інгібітор, вакцини, імунобіологічні препарати крові.*

Summary

**THE PRESENCE OF HOST CELLULAR
COMPONENTS IN VACCINES AND
IMMUNOBIOLOGICAL BLOOD
PREPARATIONS**

Divocha V.A.

The task of this investigation was to study the presence of trypsin-like protease and its inhibitor in vaccines and blood preparations. There was showed that vaccines — influvac, vaccigrip, fluarix; herpetic and tularemia vaccines contained a large quantity of trypsin-like proteases inhibitor. Commercial blood preparations: immunoglobulin, interferon, fraxiparin and solcoseryl contin trypsin-like proteases and inhibitor also. E.g., immunoglobulin contains four times more inhibitor than interferon.

Keywords: *trypsin-like protease, inhibitor, vaccine, immunobiological blood preparations.*

*Впервые поступила в редакцию 10.02.2016 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*