

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

январь–март

2016, том 6

№ 1

Журнал издается при участии Отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов по Санкт-Петербургу и Ленинградской области

Главный редактор

Тотоян Арег А. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зам. директора по научной работе Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, зав. лабораторией молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии, Санкт-Петербург, Россия

Заместитель главного редактора

Мокроусов И.В. д.б.н., зав. лабораторией молекулярной микробиологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия

- Апт А.С.** д.б.н., профессор, зав. лабораторией иммуногенетики Центрального НИИ туберкулеза, Москва, Россия
Барбеито Л. д.м.н., профессор, директор Института Пастера, Монтевидео, Уругвай
Брей П. д.б.н., профессор, директор Института Пастера в Лаосе, зав. лабораторией медицинской энтомологии и биологии переносчиков болезней, Вьентьян, Лаос
Гинцбург А.Л. д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
Дозо Ч. д.б.н., профессор, директор Национального научно-исследовательского центра — Институт имени Арманда Фраппьера, Квебек, Канада
Лаврентьева И.Н. д.м.н., зав. лабораторией детских инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
Лобзин Ю.В. д.м.н., профессор, академик РАН, директор НИИ детских инфекций, Санкт-Петербург, Россия
Лоузир Э. профессор, директор Института Пастера Туниса, Тунис
Львов Д.К. д.м.н., профессор, академик РАН, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
Мануссакис М. директор Института Пастера Греции, Афины, Греция
Медуницын Н.В. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия
Михайлов М.И. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова; зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Российского университета дружбы народов, Москва, Россия
Найденски Х. д.м.н., профессор, директор Института микробиологии им. Стефана Ангеловфа, зав. отделом инфекционной микробиологии, София, Болгария
Онищенко Г.Г. д.м.н., профессор, академик РАН, помощник Председателя Правительства РФ, Москва, Россия
Покровский В.В. д.м.н., профессор, академик РАН, руководитель Федерального НМЦ по профилактике и борьбе со СПИДом, Москва, Россия
Сантони А. зам. директора по научной работе Института Пастера в Риме, профессор иммунологии и иммунопатологии отдела молекулярной медицины Университета Сапиенца в Риме, Рим, Италия
Симбирцев А.С. д.м.н., профессор, директор ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия
Тотоян Артем А. академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
Фрейдлин И.С. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
Хаитов Р.М. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия
Черешнев В.А. д.м.н., профессор, академик РАН, директор Института иммунологии и физиологии, Екатеринбург, Россия
Шпигель А. д.м.н., профессор, директор Института Пастера, Дакар, Сенегал

Редакционный совет

- Алешкин В.А.** д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, директор Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия
- Бухарин О.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург, Россия
- Вишневский Б.И.** д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия
- Долгушин И.И.** д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, ректор Южно-Уральского государственного медицинского университета, Челябинск, Россия
- Зверев В.В.** д.б.н., профессор, академик РАН, директор НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
- Зуева Л.П.** д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия
- Кафтырева Л.А.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией бактериальных кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Кашкин К.П.** д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой иммунологии Российской медицинской академии последипломного образования МЗ РФ, Москва, Россия
- Кубарь О.И.** д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Малеев В.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, зам. директора по научной и клинической работе Центрального НИИ эпидемиологии, зав. отделом инфекционной патологии, Москва, Россия
- Нарвская О.В.** д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Савичева А.М.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
- Сельков С.А.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией иммунологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
- Тец В.В.** д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
- Харит С.М.** д.м.н., профессор, руководитель отдела профилактики инфекционных заболеваний НИИ детских инфекций, Санкт-Петербург, Россия
- Чекнев С.Б.** д.м.н., зам. директора по научной работе ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, зав. лабораторией межклеточных взаимодействий, Москва, Россия
- Шкарин В.В.** д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент Нижегородской государственной медицинской академии, зав. кафедрой эпидемиологии, Нижний Новгород, Россия

Ответственный секретарь: Лаврентьева И.Н., д.м.н. (Санкт-Петербург)

Редактор перевода: Семенов А.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Выпускающий редактор: Мурадян А.Я., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Учредители

Северо-Западное отделение медицинских наук
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
Санкт-Петербургское региональное отделение Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов

Журнал зарегистрирован Управлением Федеральной службы по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций по Санкт-Петербургу и Ленинградской области
Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78–00578 от 26 апреля 2010 г.
Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78–00910 от 24 июня 2011 г.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77–64788 от 02 февраля 2016 г.

Электронная версия журнала: www.iimmun.ru и www.elibrary.ru

С 2012 года журнал «Инфекция и иммунитет» входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

С 2014 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Ulrich's Periodicals Directory

С 2016 года включен в базу данных Russian Science Citation Index (RSCI), интегрированную с платформой Web of Science

Адрес редакции:
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.

Издательство НИИЭМ имени Пастера
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел./факс: (812) 232-07-42.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Типография ООО «ИПК „Береста”»
196006, Санкт-Петербург,
ул. Коли Томчака, 28.
Тел./факс: (812) 388-90-00.

Подписано в печать 21.03.2016 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 12.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1090.

© Инфекция и иммунитет
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2016
© НИИЭМ имени Пастера, 2016
© СПб РО РААКИ, 2016

Russian Journal of Infection and Immunity

(Infektsiya i immunitet)

January–March

2016, volume 6

No. 1

The journal is published with the assistance of the Branch of All-Russian Scientific and Practical Society of epidemiologists, microbiologists and parasitologists for St. Petersburg and Leningrad region

Editor-in-chief

Areg A. Totolian PhD, MD (Medicine), Professor, RAS corresponding member, St. Petersburg Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, Deputy Director on Science, Head of the Laboratory of Molecular Immunology and Seroepidemiology, St. Petersburg, Russian Federation

Deputy editor-in-chief

Igor V. Mokrousov PhD, MD (Biology), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Molecular Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Members of editorial board

Alexander S. Apt PhD, MD (Biology), Professor, Central Research Institute of Tuberculosis, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Moscow, Russian Federation

Luis Barbeito PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Montevideo, Director, Montevideo, Uruguay

Paul Brey PhD, MD (Biology), Professor, Institute Pasteur du Laos, Director; Laboratory of Medical Entomology and Biology of Disease Vectors, Head, Vientiane, Laos

Charles M. Dozois PhD, MD (Biology), Professor, INRS — Institute Armand Frappier, Director, Quebec, Canada

Alexander L. Gintsburg PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation

Irina N. Lavrentieva PhD, MD (Medicine), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Childhood Viral Infections, St. Petersburg, Russian Federation

Yuri V. Lobzin PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Institute of Childhood Infections, Director, St. Petersburg, Russian Federation

Hechmi Louzir Professor, Institute Pasteur de Tunis, Director, Tunis, Tunisia

Dmitry K. Lvov PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, M.F. Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Menelaos N. Manoussakis Hellenic Pasteur Institute, Director, Athens, Greece

Nikolai V. Medunitsyn PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Scientific Center for Expertise of Medical Products, Moscow, Russian Federation

Michael I. Michailov PhD, MD (Medicine), Professor, RAS corresponding member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Head of the Laboratory of Viral Hepatitis; Peoples' Friendship University of Russia, Head of the Department of Microbiology and Virology, Moscow, Russian Federation

Hristo Najdenski PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Stephan Angeloff, Director; Department of Infectious Microbiology, Head, Sofia, Bulgaria

Gennadiy G. Onishchenko PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Assistant to the Chairman of the Government of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Vadim V. Pokrovskiy PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Central Research Institute of Epidemiology, Director, Head of the Federal AIDS Center, Moscow, Russian Federation

Angela Santoni PhD, Professor, Institute Pasteur-Fondation Cenci Bolognetti, Scientific Director; Full Professor of Immunology and Immunopathology, Department of Molecular Medicine, Sapienza University of Rome, Rome, Italy

Andre Spiegel PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Dakar, Director, Dakar, Senegal

Andrei S. Simbirtsev PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Director, St. Petersburg, Russian Federation

Artem A. Totolian PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Institute of Experimental Medicine, Department of Molecular Microbiology, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation

Irina S. Freidlin PhD, MD (Medicine), Professor, RAS corresponding member, Institute of Experimental Medicine, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation

Rahim M. Khaitov PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Institute of Immunology, Scientific Adviser, Moscow, Russian Federation

Valery A. Chereshevnev PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Institute of Immunology and Physiology, Director, Yekaterinburg, Russian Federation

Members of editorial council

- Vladimir A. Aleshkin** PhD, MD (Biology), Professor, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation
- Oleg V. Bukharin** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Director, Orenburg, Russian Federation
- Boris I. Vishnevsky** PhD, MD (Medicine), Professor, Research Institute of Phthisiopulmonology, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostic, St. Petersburg, Russian Federation
- Ilija I. Dolgushin** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS corresponding member, Chelyabinsk State Medical Academy, Rector, Moscow, Russian Federation
- Vitaly V. Zverev** PhD, MD (Biology), Professor, RAS full member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation, Director; I.M. Sechenov State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Moscow, Russian Federation
- Ludmila P. Zueva** PhD, MD (Medicine), Professor, I.I. Mechnikov North-West State Medical University, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, St. Petersburg, Russian Federation
- Lydia A. Kaftyreva** PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Bacterial Intestinal Infections, St. Petersburg, Russian Federation
- Kirill P. Kashkin** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Head of the Department of Immunology, Moscow, Russian Federation
- Olga I. Kubar** PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Leading Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
- Victor V. Maleev** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS full member, Central Research Institute of Epidemiology, Deputy Director on Science, Moscow, Russian Federation
- Olga V. Narvskaya** PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Laboratory of Molecular Microbiology, St. Petersburg, Leading Researcher, Russian Federation
- Alevtina M. Savicheva** PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation
- Sergei A. Selkov** PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Immunology, St. Petersburg, Russian Federation
- Viktor V. Tets** PhD, MD (Medicine), Professor, Pavlov State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, St. Petersburg, Russian Federation
- Susanna M. Kharit** PhD, MD (Medicine), Professor, Institute of Childhood Infections, Head of the Prevention Department of Infectious Diseases, St. Petersburg, Russian Federation
- Galina Ya. Tseneva** PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Bacterial Respiratory Infections, St. Petersburg, Russian Federation
- Sergei B. Cheknev** PhD, MD (Medicine), N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Deputy Director on Science, Head of the Laboratory of Cellular Interactions, Moscow, Russian Federation
- Vyacheslav V. Shkarin** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS corresponding member, State Medical Academy, President, Head of the Department of Epidemiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Assistant editor: Irina N. Lavrentieva (St. Petersburg)

Translation editor: Alexander V. Semenov (St. Petersburg)

Copy editor: Aram Ya. Muradyan (St. Petersburg)

Founders

North-West Regional Branch of Medical Sciences

Saint Petersburg Pasteur Institute

Russian Association of Allergologists and Clinical Immunologists, St. Petersburg Regional Branch (SPb RAACI)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass media in Saint Petersburg and Leningrad region

Certificate of registration PI no. TU 78–00578 from April, 26, 2010.

Certificate of registration PI no. TU 78–00910 from June, 24, 2011.

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media

Certificate of registration PI no. FS 77–64788 from February, 02, 2016.

Electronic version: www.iimmun.ru and www.elibrary.ru

Since 2012, the *Infection and Immunity* journal is admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science

Since 2014 the *Infection and Immunity* journal is included into international Ulrich's Periodicals Directory database

Since 2016 included in Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science

Editorial office:

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.

Publishing house of St. Petersburg Pasteur Institute

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.

Phone/fax: (812) 232-07-42.

E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Produced at the Beresta Printing House

196084, Russian Federation, St. Petersburg,

Koli Tomchaka str., 28.

Phone/fax: (812) 388-90-00.

Passed for printing 21.03.2016. Print format 60 x 90 1/8.

Offset printing. Printed sheets 12.

Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies).

© Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet

© North-West Regional Branch of Medical Sciences, 2016

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2016

© SPb RAACI, 2016

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Панферова Ю.А.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕННОСТИ *COXIELLA BURNETII* 7

Горовенко М.В., Каримов И.З.

АКТУАЛЬНЫЕ ТРАНСМИССИВНЫЕ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫЕ ИНФЕКЦИИ КРЫМА 25

Оригинальные статьи

Алексеева Л.А., Железникова Г.Ф., Жирков А.А., Скрипченко Н.В., Вильниц А.А., Монахова Н.Е., Бессонова Т.В.

**СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ И ЦИТОКИНЫ В КРОВИ И ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ
ПРИ ВИРУСНЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТАХ У ДЕТЕЙ 33**

Шабалдин А.В., Шабалдина Е.В., Рязанцев С.В., Симбирцев А.С.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА ИНТЕРЛЕЙКИНА 1 И ИНТЕРЛЕЙКИНА 4 ПРИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ
ДЕТЕЙ РАННЕГО И ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА К *STREPTOCOCCUS PYOGENES* 45**

Кривицкая В.З., Васильева А.А., Войцеховская Е.М., Петрова Е.Р., Писарева М.М., Бузицкая Ж.В., Елпаева Е.А., Го А.А.,
Волощук Л.В., Львов Н.И., Смирнова Т.Д., Соминина А.А.

**ИЗОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВИРУССПЕЦИФИЧЕСКОГО СИСТЕМНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО
ОТВЕТА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ, ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ С ГРИППОМ А 55**

Тарасов А.В., Куляшова Л.Б., Желтакова И.Р., Хирманов В.Н., Дрыгина Л.Б.

**ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE*,
У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ 67**

Акышбаева К.С., Нурушева С.М., Альменова Л.Т.

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ
И КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРИХОМОНОЗА У ЖЕНЩИН 73**

Краткие сообщения

Мордык А.В., Ситникова С.В., Пузырева Л.В.

**ВЛИЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА, СТАДИИ И ТЕРАПИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ НА ИСХОД СТАЦИОНАРНОГО
ЭТАПА ЛЕЧЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ТУБЕРКУЛЕЗ/ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ 81**

Будыка Д.А., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Ракитина Е.Л., Иванова Г.Ф., Фисун А.А.

**БИОТЕХНОЛОГИЯ СТАБИЛИЗАЦИИ ЖИВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОМАССЕ
И В ПРЕПАРАТЕ ЧУМНОЙ ВАКЦИНЫ 87**

Правила для авторов 93

Авторский указатель 96

Предметный указатель 96

CONTENTS

Reviews

Panferova Yu.A.

COXIELLA BURNETII PATHOGENICITY MOLECULAR BASIS 7

Gorovenko M.V., Karimov I.Z.

ACTUAL TICK-BORNE INFECTIONS IN CRIMEA 25

Original articles

Alekseeva L.A., Zheleznikova G.F., Zhirkov A.A., Skripchenko N.V., Vilnits A.A., Monakhova N.E., Bessonova T.V.

LYMPHOCYTE SUBSETS AND CYTOKINES IN BLOOD AND CEREBROSPINAL FLUID IN CHILDREN WITH VIRAL AND BACTERIAL MENINGITIS 33

Shabaldin A.V., Shabaldina E.V., Ryazantsev S.V., Simbirtsev A.S.

INTERLEUKIN 1 AND INTERLEUKIN 4 GENES POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH EARLY AND PRESCHOOL AGE CHILDREN SENSITIZATION TO *STREPTOCOCCUS PYOGENES* 45

Krivitskaya V.Z., Vasilieva A.A., Voytsekhovskaya E.M., Petrova E.R., Pisareva M.M., Buzitskaya Zh.V., Elpaeva E.A., Go A.A., Voloshchuk L.V., Lvov N.I., Smirnova T.D., Sominina A.A.

VIRUS-SPECIFIC HUMORAL IMMUNE RESPONSE ISOTYPIC STRUCTURE IN ADULT PATIENTS HOSPITALIZED WITH INFLUENZA A 55

Tarasov A.V., Kuliashova L.B., Zheltakova I.R., Khirmanov V.N., Drygina L.B.

DIAGNOSTICS ISSUES OF *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* INFECTION IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME 67

Akyshbayeva K.S., Nurusheva S.M., Almenova L.T.

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FACTORS DETERMINING PROPAGATION AND CLINIC OF UROGENITAL TRICHOMONIASIS IN WOMEN 73

Short communications

Mordyk A.V., Sitnikova S.V., Puzyreva L.V.

HIV INFECTION STAGE, ANTIRETROVIRAL THERAPY SCHEME AND PATIENT IMMUNE STATUS INFLUENCE ON HIV/TB CO-INFECTION OUTCOME 81

Budika D.A., Abzaeva N.V., Gostischeva S.E., Rakitina E.L., Ivanova G.F., Fisun A.A.

LIVING MICROORGANISM'S STABILIZATION IN BIOMASS BIOTECHNOLOGY AND PLAGUE VACCINE PREPARATION 87

Instructions to Authors 93

Author index 96

Subject index 96

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕННОСТИ *COXIELLA BURNETII*

Ю.А. Панферова

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. *Coxiella burnetii* — облигатный внутриклеточный грамотрицательный бактериальный патоген, возбудитель Ку-лихорадки — природно-очагового заболевания, протекающего в острой (преимущественно в виде атипичной пневмонии) или хронической (чаще всего в виде эндокардита) форме. Хозяевами коксиелл в природе являются многие виды млекопитающих, птиц и членистоногих, основным источником инфекции для человека — сельскохозяйственные животные. Основным путем передачи инфекции — аэрозольный. При попадании в организм человека патоген связывается с фагоцитирующими клетками моноцитарно-макрофагального ряда. Внутри клетки хозяина *C. burnetii* способствует созреванию специфического, подобного фаголизосоме, компартмента, известного как коксиелла-содержащая вакуоль, внутри которого происходит метаболическая активация и репликация бактерий. Во внешней среде коксиелла существует в виде метаболически неактивной спороподобной формы. В процессе внедрения в клетку хозяина *C. burnetii* использует актин-зависимый фагоцитоз и механизм «застежки-молнии». После интернализации бактерии происходит созревание фаголизосомоподобного компартмента и формирование крупной коксиелла-содержащей вакуоли, занимающей почти всю цитоплазму клетки хозяина. Выживание инфицированных клеток является важным для поддержания хронической коксиеллезной инфекции. Коксиелла продлевает жизнеспособность хозяйской клетки двумя способами: она активно ингибирует апоптотический сигнальный каскад и индуцирует способствующие выживанию факторы. Помимо этого, коксиелла активно задействует компоненты аутофагии в формировании коксиелла-содержащей вакуоли, и индукция аутофагии способствует внутриклеточной репликации патогена. В процессе инфекции коксиелла с помощью секреторной системы IV типа транслоцирует эффекторные субстраты из бактериального цитозоля напрямую в цитозоль эукариотной клетки, где они взаимодействуют с белками хозяина. Всего идентифицировано около 130 секретируемых эффекторов транспортной системы IV типа, функция большинства из них на данный момент неизвестна. Обнаружены специфические для ряда штаммов и изолятов секретируемые белки, что подтверждает существующую гипотезу о наличии отдельных патотипов *C. burnetii*. Идентификация и характеристика новых факторов вирулентности стала возможной после появления бесклеточной среды для культивирования и развития методов сайт-специфического мутагенеза и других генетических манипуляций, что является важной вехой в исследовании молекулярного патогенеза *C. burnetii*.

Ключевые слова: *Coxiella burnetii*, Ку-лихорадка, молекулярный патогенез, вирулентность, транспортная система, секретируемые эффекторы.

Адрес для переписки:

Панферова Юлия Александровна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: (812) 232-21-36 (служебн.). Факс: (812) 232-92-17.
E-mail: panferova.jul@gmail.com

Contacts:

Yulia A. Panferova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 232-21-36 (office). Fax: +7 (812) 232-92-17.
E-mail: panferova.jul@gmail.com

Библиографическое описание:

Панферова Ю.А. Молекулярные основы патогенности *Coxiella burnetii* // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 7–24. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-7-24

Citation:

Panferova Yu.A. *Coxiella burnetii* pathogenicity molecular basis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 7–24. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-7-24

© Панферова Ю.А., 2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2016-1-7-24>

COXIELLA BURNETII PATHOGENICITY MOLECULAR BASIS

Panferova Yu.A.

St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. *Coxiella burnetii* is an obligate intracellular gram-negative bacterial pathogen, an ethiological agent of Q-fever, a zoonotic disease, elapsing as an acute (mostly atypical pneumonia) or a chronic (mostly endocarditis) form. The host range is represented by wide range of mammal, avian and arthropod species, but the main source of human infection are farm animals. The main route of infection is aerosolic. In case of contact with organism pathogen binds with phagocytal monocytic-macrophagal cell line. *C. burnetii* promotes maturation of specific phagolysosome-like compartment in host cell, called coxiella-containing vacuole, within this vacuole pathogen becomes metabolically activated and actively replicates. *Coxiella* persists as metabolically inactive spore-like form in environment. Internalisation of *C. burnetii* occurs using actin-mediated phagocytosis and zipper mechanism. After internalization of bacteria maturation of phagolysosome-like compartment and large coxiella-containing vacuole formation occure, and vacuole can occupy nearly the whole cytoplasm of the host cell. Survivance of infected cells is important for chronic infection with *C. burnetii*. *C. burnetii* elongate the viability of host cell by two ways: it actively inhibits apoptotic signal cascades and induce pro-survival factors. Except that *C. burnetii* involves autophagic pathway during coxiella-containing vacuole formation, and induction of autophagy promotes pathogen replication. During infection *C. burnetii* translocates effector substrates from bacterial cytosole to eucaryotic host cell cytosole using type IV secretion system, where effectors modulate host cell proteins. Overall approximately 130 secreted effectors of type IV transport system, but function of most of them remains unknown to date. Specific secreted proteins for variety of strains and isolates were identified, confirmed that certain pathotypes of *C. burnetii* can exist. Identification and characterization of novel virulence factors it is now possible through axenic media for *C. burnetii* cultivation and development of site-specific mutagenesis and other genetic technics, which is important for research of *C. burnetii* molecular pathogenesis.

Key words: *Coxiella burnetii*, Q-fever, molecular pathogenesis, virulence, transport system, secreted effectors.

Coxiella burnetii — облигатный внутриклеточный грамотрицательный бактериальный патоген, возбудитель Ку-лихорадки — природно-очагового заболевания, протекающего в острой или хронической форме. Летальность при хронической форме заболевания, представленной чаще всего в виде гепатита и эндокардита, составляет 65% [59]. Основным источником инфекции для человека являются сельскохозяйственные животные (преимущественно козы и овцы, реже — крупный рогатый скот), хотя хозяевами коксиелл в природе могут быть многие виды млекопитающих, птиц и членистоногих.

Коксиелла способна длительно выживать во внешней среде. Эта способность связана с особенностью перехода в различные стадии развития. Малая клеточная форма метаболически неактивна и устойчива к многочисленным факторам внешней среды, таким как температура, воздействие ультрафиолетового излучения, высушивание. Переход из малой в большую клеточную форму происходит после внедрения в клетку хозяина в процессе закисления содержащей патоген фагосомы: в это время патоген становится метаболически активным [38].

В организм человека возбудитель попадает чаще всего через дыхательные пути при вдыхании зараженных аэрозолей или пыли, затем

они попадают в кровь и связываются с фагоцитирующими клетками моноцитарно-макрофагального ряда. Будучи внутриклеточным патогеном, *C. burnetii* вовлечена в широкий спектр механизмов проникновения в клетки хозяина и выживания в них. Коксиелла обладает тропностью к профессиональным фагоцитам и проникает в такие клетки путем классического фагоцитоза, который основан на взаимодействии рецептора с лигандом. Внутри клетки хозяина *C. burnetii* способствует созреванию фаголизосомоподобного компартмента, известного как коксиелла-содержащая вакуоль, внутри которого происходит репликация бактерий [40].

Патотип-специфическая вирулентность *C. burnetii* — длительно существующая гипотеза, основанная на возможности ряда изолятов вызывать преимущественно острую или хроническую Ку-лихорадку у людей [88]. Филогенетический анализ показал, что изоляты, вызывающие острую и хроническую Ку-лихорадку, распределяются по разным генограммам, включающим в состав генома различные плазмиды, что является подтверждением существования отдельных патотипов коксиелл [80].

До недавнего времени ЛПС были единственным охарактеризованным фактором вирулентности коксиелл. Идентификация и ха-

рактеристика новых факторов вирулентности стала возможной после появления бесклеточной среды для культивирования и улучшения инструментов для генетических манипуляций, что явилось важной вехой в исследовании молекулярного патогенеза *C. burnetii*. Об этих механизмах молекулярного патогенеза коксиеллы пойдет речь в настоящем обзоре.

Инфекционный цикл. Адгезия и инвазия

Как и у многих других облигатных внутриклеточных патогенов, инвазия *C. burnetii* в клетку хозяина является первым шагом инфекции. При аэрозольном пути передачи коксиелла поражает альвеолярные макрофаги и проникает в них посредством актин-зависимого фагоцитоза. Отсутствие транспортной системы III типа позволило предположить, что для адгезии и инвазии этот микроорганизм использует механизм «застежки-молнии». Идентификация транспортной (секреторной) системы IV типа указывала на возможное использование бактерией активного триггерного цикла, осуществляемого за счет секретируемых через транспортную систему эффекторных белков, чтобы индуцировать инвазию после адгезии на поверхности клетки хозяина [81]. Исследование мутантов по транспортной системе IV типа показало, что эти бактерии не являются дефектными по способности проникать в фагоцитирующие (моноциты и макрофаги) и не фагоцитирующие клетки. Следовательно, вероятнее всего проникновение в фагоциты происходит за счет пассивного актин-зависимого фагоцитоза, а в непрофессиональные фагоциты — путем активного механизма «застежки-молнии» [10, 19]. Вирулентные *C. burnetii* связываются с фагоцитирующими клетками, используя интегрин $\alpha V\beta 3$ в качестве основного рецептора, и входят в клетку путем RAC1-зависимого фагоцитоза, который требует ундуляции мембраны [18, 27]. Что интересно, интегрин $\alpha V\beta 3$ обычно вовлечен в устранение апоптотических клеток путем фагоцитоза и связан с ингибированием воспаления. Таким образом, способность коксиелл использовать этот интегрин для инвазии может служить одним из механизмов избегания индукции воспалительного ответа. Согласно этому предположению, *C. burnetii* характеризуется как скрытый патоген, который проникает в клетки без «оповещения» иммунной системы. Хотя идентичность бактериального лиганда для интегрин $\alpha V\beta 3$ не была установлена, в классе

возможных кандидатов могут быть связанные с мембраной белки, содержащие интегрин-связывающий домен «аргинин-глицин-аспартамовая кислота» (RGD-мотив). Интегрин $\alpha V\beta 3$ мало секретируется в находящихся в покое моноцитах, и, по-видимому, *C. burnetii* использует другие рецепторы для проникновения в эти клетки [25].

Хотя идентичность рецепторов в непрофессиональных фагоцитах в настоящее время неизвестна, механизм, посредством которого коксиелла проникает в клетки, видимо, тоже связан с перестройкой актиновых филаментов. Поскольку субъединица $\beta 3$ слабо экспрессируется в бронхиальном эпителии, непохоже, чтобы интегрин $\alpha V\beta 3$ был первичным рецептором при проникновении в непрофессиональные фагоциты. Гистопатологический анализ, проведенный на легких животных с моделью коксиеллезной пневмонии и у пациентов с атипичной пневмонией, вызванной *C. burnetii*, позволил идентифицировать моноциты и макрофаги в первичных сайтах инфекции, но в этих сайтах также были обнаружены эпителиальные и эндотелиальные клетки [78]. Кинетика коксиелл различных фазовых вариантов в клеточных культурах была представлена по-разному, причем авирулентные клетки фазы II интернализировались быстрее, чем полностью вирулентные бактерии в фазе I [6, 93]. *C. burnetii* фазы I и II реплицируются со сходной кинетикой в одинаковых по структуре, протеолитически активных коксиелла-содержащих вакуолях, что важно отметить, поскольку многие исследования внутриклеточного траффика проведены с использованием авирулентной фазы II. Обе фазы привлекают рецептор интегрин $\alpha V\beta 3$ в моноцитах, но крупная реорганизация актинового цитоскелета наблюдается только при инфицировании бактериями фазы I [18]. Изменения в цитоскелете в процессе инвазии являются обычным эффектом для некоторых других инвазивных патогенов, которые способствуют фагоцитозу посредством секреции эффекторов, активирующих хозяйские ГТФазы [31]. Хотя секреторная система IV типа не является обязательной для проникновения в клетку хозяина, не установлено, необходимы ли ее эффекторы для реорганизации актинового цитоскелета в ходе инфекции. Что интересно: ундуляция актинового цитоскелета индуцируется через SRC-тирозинкиназу вслед за связыванием коксиелл фазы I [62]. Эта ундуляция мембраны требует контакта между *C. burnetii* и хозяйской клеткой и может быть индуцирована очищенными липополисахаридами

(ЛПС) фазы I [62, 63]. Способность индуцировать ундуляцию также зависит от экспрессии TLR4 на поверхности клетки хозяина [37]. Эти наблюдения позволяют предположить, что ЛПС индуцируют изгибание мембраны, и эффекторы секреторной системы IV типа временно контролируют последующие сигнальные каскады после интернализации патогена, но экспериментально это не было доказано.

Хотя основные бактериальные факторы, которые опосредуют инвазию патогена в клетку остаются неизвестными, полагают, что их идентификация возможна при скрининге мутантных клеток коксиилл, у которых изменена интернализация. Так, мутанты по CBU_1260 способны проводить репликацию внутри клетки хозяина, но в меньшей степени по сравнению с изолятом дикого типа. Это один из трех белков со структурой, сходной с белком наружной мембраны OmpA (CBU_0307, CBU_0936 и CBU_1260). Полагают, что эти белки играют важную роль в адгезии и интернализации коксииллы, в том числе клетками, не являющимися профессиональными фагоцитами [57]. На данный момент это первый инвазин коксииллы. Также известно, что OmpA-белки участвуют в адгезии и интернализации других бактериальных патогенов [8, 22].

От фагосомы к коксиилла-содержащим вакуолям

Фагоцитоз приводит к формированию фагосомы, которая созревает в фаголизосому посредством серии поочередных и регулируемых событий слияния и разделения компартментов. Вскоре после интернализации патогена на поверхности клетки наивная фагосома развивается в раннюю фагосому и приобретает ГТФазу RAB5. Эта ГТФаза стимулирует слияние с ранними эндосомами, приводя к закислению примерно до pH 5,4 и приобретению раннего эндосомального маркера EEА1. Одним из самых поразительных свойств фагосомы является то, что размер ее остается постоянным, что свидетельствует о непрерывном удалении компонентов мембраны после процесса слияния. В поздней фагосоме отсутствует RAB5, но присутствует ГТФаза RAB7, лизосома-ассоциированные мембранные гликопротеины LAMP1 и LAMP2 и вакуолярная АТФаза, которая вводит протоны в созревающую фагосому, уменьшая pH до 5. В итоге фагосома сливается с лизосомальным компартментом и приобретает на своей поверхности катепсины и гидролазы, а вакуолярная АТФаза уменьшает pH

до 4,5 [30, 44]. Сайленсинг хозяйских генов, кодирующих регуляторы мембранного транспорта RAB5 и RAB7, мешает транслокации эффекторных протеинов патогена. Этот факт указывает на то, что эффекторы не транслоцируются до тех пор, пока бактерия не окажется в позднем эндоситозном компартменте клетки хозяина [69]. Также на ранних стадиях инфекции паразитофорная вакуоль декорируется хозяйским маркером RAB1, малой ГТФазой, вовлеченной в антероградный транспорт, который функционирует на поверхности аппарата Гольджи [17].

В ответ на закисление паразитофорной вакуоли *C. burnetii* становится метаболически активной, что приводит к синтезу бактериальных протеинов, необходимых для созревания вакуоли. Биогенез паразитофорной вакуоли включает слияние вакуоли с пузырьками, имеющими эндоситозное, аутофагическое и связанное с секреторными путями происхождение, через процессы, контролируемые множественными факторами клетки хозяина, включая RAB-ГТФазы и растворимые SNARE-белки [48, 60].

Созревание коксиилла-содержащих вакуолей в основном следует по каноническому эндосомальному пути, но есть многочисленные различия, которые основаны на бактериальных протеинах. После интернализации бактерии коксиилла-содержащая вакуоль по размерам сходна с нарождающейся фагосомой и последовательно приобретает RAB5 и RAB7, что показывает, что она проходит через типичный эндосомальный каскад, описанный ранее. Тем не менее, созревание паразитофорной вакуоли включает увеличение этого компартмента в размерах, когда он почти полностью занимает хозяйскую цитоплазму, что значительно отличается от не изменяющейся в размерах созревающей фаголизосомы. Совместное функциональное ингибирование RAB5 и RAB7 через доминантный негативный мутагенез нарушает экспансию коксиилла-содержащей вакуоли, в то время как ингибирование только RAB5 (но не только RAB7) блокирует интернализацию коксиилл [77]. Более того, формирование крупной коксиилла-содержащей (паразитофорной) вакуоли зависит от активного синтеза коксииллой протеинов, возможно, из-за требований к синтезу и последующей секреции эффекторов между мембраной паразитофорной вакуоли и цитоплазмой клетки хозяина. Однако в отсутствие синтеза протеинов малая коксиилла-содержащая вакуоль продолжает приобретать маркеры LAMP и закисляться. Это позволяет предположить,

что приобретение LAMP и закисление являются пассивными процессами, сходными с нормальным процессом созревания фагосомы.

Большинство внутриклеточных патогенов нарушают эндосомальный каскад и блокируют созревания фагосомы на ранней стадии, избегая слияния с лизосомами. Но в случае *C. burnetii*, лизосомальные энзимы, включая катепсин D и кислую лизосомальную фосфатазу, аккумулируются в коксIELла-содержащей вакуоли, хотя и с задержкой на 2 ч после инфекции (по сравнению с 15 мин после их интернализации для фагосомы, содержащей инертные частицы). Полагают, что эта задержка вызвана взаимодействием коксIELла-содержащей вакуоли с компонентами пути аутофагии [77]. По-видимому, секреторная система IV типа коксIELлы в данный процесс не вовлечена, поскольку транслокации эффекторов не происходит по крайней мере в течение 8 ч после инфекции. Это позволяет предположить, что бактериальные протеины, которые взаимодействуют с путем аутофагии, еще предстоит определить [19]. Однако существует точка зрения, что транслокация секреторных субстратов происходит только после закисления коксIELла-содержащей вакуоли [69]. Аутофагия осложняется хозяйским влиянием через врожденный и приобретенный иммунитет к внутриклеточным патогенам, и, уже спустя 5 мин после интернализации, коксIELла-содержащая вакуоль декорируется маркером аутофагии — микротрубочко-ассоциированным протеином легкой цепи 3 (LC3) [77]. Роль аутофагии в патогенезе *C. burnetii* остается неясной: недавние исследования не показали, что аутофагия является важной для роста коксIELл. Одним из потенциальных преимуществ аутофагического взаимодействия может быть то, что аутофагические полости часто заполнены питательными веществами и мембранами из их деградировавших грузов, и эти компоненты могут служить «топливом» для конверсии из малой клеточной формы в большую [34, 77]. Установлено, что связанные с аутофагическим путем белки LC3 и p62 локализуются в фаголизосомах, содержащих коксIELлы дикого типа, но не мутанты по генам секреторной системы IV типа [107]. Известен белок Cig2, который нарушает аутофагические пути, необходим для обеспечения слияния коксIELла-содержащей вакуоли с аутофагосомами в течение инфекции и связан с процессами, которые поддерживают фузогенные свойства этой специфической органеллы; мутанты по гену, кодирующему данный белок, представлены мультивакуолярным фенотипом [68].

Конверсия в большую клеточную форму происходит одновременно с блокадой эндосомального созревания коксIELла-содержащей вакуоли; процент большой клеточной формы (как пропорция общего числа большой и малой клеточной форм) спустя 1 ч после инфекции составляет 80%, а спустя 16 ч коксIELла-содержащая вакуоль содержит только большую клеточную форму [21, 38]. Значительное число эффекторов секреторной системы IV типа необходимо для биогенеза коксIELла-содержащей вакуоли. Так, было показано, что локализованный в ней эффекторный протеин CvpA обеспечивает внутриклеточный рост коксIELлы и экспансию паразитофорной вакуоли [48]. CvpA участвует в биогенезе коксIELла-содержащей вакуоли за счет механизма, включающего клатрин-опосредованный везикулярный трафик [40]. Секреторные белки CvpB, CvpC, CvpD и CvpE метят везикулярные компоненты на начальных стадиях созревания паразитофорной вакуоли [48]. Эти белки при эктопической экспрессии эукариотическими клетками маркируют компоненты поздней эндосомальной системы, а CvpC также метит рециклизирующиеся эндосомы. CvpA содержит множественные дилейциновые и тирозиновые мотивы, связанные с эндоцитозным сортированием, подобные тем, что распознаются адаптерными клатриновыми белками (AP1-AP3 и тяжелой цепью клатрина). Репликация бактерий, мутантных по этим генам, значительно нарушена; также у них нарушено формирование крупной паразитофорной вакуоли [48].

Между 8 ч и двумя днями после инфекции коксIELла-содержащая вакуоль значительно увеличивается в размере и может занимать практически весь объем хозяйской клетки [76]. Крупная коксIELла-содержащая вакуоль формируется как результат гомотипического слияния многочисленных малых вакуолей, и это может продолжаться как гетеротипическое слияние с аутофагическими, эндоцитозными и лизосомальными пузырьками [40]. Поддержание крупной коксIELла-содержащей вакуоли не только требует продукции протеинов бактерией, но также зависит от актинового цитоскелета; так, обработка инфицированных клеток актин-деполимеризующими агентами приводит к формированию только маленьких вакуолей [1]. Кроме того, инфицирование *C. burnetii* активирует ряд хозяйских белков из семейства киназ — протеинкиназу C, протеинкиназу A и киназу легкой цепи миозина, которые требуются для формирования и поддержания крупной коксIELла-содержащей вакуоли [43]. Более того, на этой стадии инфек-

ционного процесса вакуоль взаимодействует с ранними секреторными путями (что подтверждается аккумуляцией RAB18 на ее мембране), которые необходимы для формирования крупной коксIELла-содержащей вакуоли [17]. Взаимодействие с эндоплазматическим ретикуломом через ранние секреторные пути может обеспечивать источник липидов для формирования крупной вакуоли. Эти взаимодействия, по-видимому, организованы эффекторами *C. burnetii*, поскольку продукция бактериальных протеинов требуется для формирования крупной коксIELла-содержащей вакуоли; однако идентичность и специфические функции этих возможных эффекторов только еще предстоит установить [17]. Интересно, что мембрана коксIELла-содержащей вакуоли содержит сравнимые с плазматической мембраной количества холестерина, что в два раза больше, чем в нормальном лизосомальном компартменте [39]. Более того, гены хозяина, вовлеченные в синтез холестерина, усиленно экспрессируются на фоне инфекции *C. burnetii*, и ингибирование метаболизма холестерина негативно влияет на формирование вакуоли. Это позволяет предположить, что коксIELла напрямую влияет на метаболизм холестерина, вероятно, через взаимодействие с эндоплазматическим ретикуломом [29, 39, 41]. Хотя эти события достаточно хорошо охарактеризованы, факторы вирулентности *C. burnetii*, которые напрямую влияют на формирование коксIELла-содержащей вакуоли, еще предстоит идентифицировать.

Зрелая коксIELла-содержащая вакуоль

Примерно через 6 ч после инфекции коксIELла-содержащая вакуоль заполнена большими клеточными формами бактерии, которые начинают дифференцироваться обратно в малую клеточную форму [21]. Зрелая вакуоль обладает в основном теми же характеристиками, что и зарождающаяся: pH остается низким (pH в значениях примерно 4,5–5, такая же pH у фаголизосом неинфицированных клеток) и вакуоль содержит те же маркеры, а также обладает фузогенными свойствами, которые влияют на синтез протеинов *C. burnetii* [40]. Что удивительно: жизнеспособность хозяйской клетки не зависит от значительного увеличения вакуоли, которая занимает большую часть цитоплазмы и объем которой значительно больше необходимого для *C. burnetii* [101]. Кроме того, время генерации и геномная стабильность хозяйской клетки остаются без изменений [5]. КоксIELла продлевает жизнеспособность хо-

зяйской клетки двумя способами: она активно ингибирует апоптотический сигнальный каскад и индуцирует способствующие выживанию факторы. Например, *C. burnetii* блокирует апоптоз, индуцированный обработкой культуры клеток млекопитающих проапоптотическим веществом стауроспорином, и этот ингибирующий эффект зависит от продукции бактерией протеинов [101]. Антиапоптотическое действие может быть результатом взаимодействия между беклином 1 (BECN1) и регулятором апоптоза BCL2. Беклин 1 является белком инициации аутофагии, который взаимодействует с антиапоптотическим протеином BCL2, причем оба находятся в коксIELла-содержащей вакуоли. Взаимодействие с беклином 1 останавливает высвобождение цитохрома с из митохондрий и, таким образом, ведет к ингибированию апоптоза, что является феноменом, ассоциированным с инфекцией *C. burnetii* и функциями BCL2 [51, 94]. Второй тип антиапоптотической деятельности, инициализируемой после инфицирования *C. burnetii*, — это поддерживаемая активация необходимых для выживания клетки сигнальных протеинов киназного каскада ERK1 (также известного как MAPK3), ERK2 (также известного как MAPK1) и семейства АКТ [103]. Было обнаружено три секретиремых коксIELлой эффектора — CBU_0388, CBU_1676 и CBU_0885, которые модулируют MAP-киназные пути в клетке хозяина, однако точная их функция остается неизвестной [50].

Выживание инфицированных клеток является важным для поддержания хронической коксIELлезной инфекции. Это позволяет предположить, что в течение цитокинеза хозяйской клетки крупная коксIELла-содержащая вакуоль сегрегируется только у одной дочерней клетки, другая же остается не инфицированной [75]. Способность предупреждать развитие апоптоза и стимулировать необходимые для выживания пути может полезным и для персистирующей инфекции, так как эта активность поддерживает хозяйскую клетку в таком состоянии, чтобы могла продолжаться репликация бактерии. В течение острой инфекции инфицирующая доза может быть очень низкой (1–10 бактериальных клеток). Это позволяет предположить, что существуют другие механизмы для поддержания распространения реплицирующихся бактерий для поражения других чувствительных клеток [90]. Последние исследования показали, что коксIELла также способна индуцировать апоптоз через высвобождение цитохрома с посредством механизма, который зависит от синте-

за бактериальных протеинов [112]. Более того, предупреждение апоптоза, по-видимому, используется коксией, чтобы вызвать персистирующую инфекцию, в то время как индукция апоптоза — чтобы осуществить распространение инфекции на близлежащие чувствительные клетки. Эта стратегия также применяется другими патогенами: например, *M. tuberculosis* ингибирует апоптоз на ранних стадиях инфекции, но индуцирует клеточную гибель на поздних стадиях инфекции.

Секреторная система IV типа (Dot/Icm секреторная система)

Секвенирование генома *C. burnetii* выявило присутствие генов трех секреторных систем: секреторной системы I типа, родственному секреторной системе II типа комплекса биогенеза пилей и родственной конъюгационному комплексу секреторной системы IV типа [9, 72, 82]. В настоящее время мало известно о роли секреторных систем I и II типа в патогенезе коксиейеллезной инфекции. Биоинформационный анализ генома коксииеллы выявил канонические компоненты секреторной системы I типа, доставляющей протеины напрямую из бактериальной цитоплазмы в окружение микроорганизма, в присутствии гомолога *tolC* (CBU_0056) [9]. Типичные составляющие секреторной системы II типа у коксииеллы отсутствуют, но организм кодирует некоторые гены, вовлеченные в сборку пилей IV типа, являющихся частью этой системы [72]. Доступность *Legionella pneumophila* в качестве суррогатного хозяина для экспрессии возможных эффекторов секреторной системы IV типа, обеспечило значительные успехи в исследовании этой секреторной системы.

Транспортная система IV типа коксииеллы гомологична связанной с вирулентностью транспортной (секреторной) системой IV типа *L. pneumophila*, кодирующей дефектные в трафике органелл (*dot*) и связанные с внутриклеточной репликацией (*icm*) гены, поэтому она также носит название Dot/Icm-системы. Секреторная система IV типа транслоцирует эффекторные субстраты из бактериального цитозоля напрямую в цитозоль эукариотной клетки хозяина и является тесно вовлеченной в патогенез многих бактерий [10, 19]. Многокомпонентный белковый комплекс может быть подразделен на многие субструктуры, включая пили, коровый транспортный комплекс и связывающий протеиновый комплекс IV типа [111]. Секреторная систе-

ма IV типа представлена двумя подтипами (A и B) на основе гомологии с *Agrobacterium tumefaciens* и *L. pneumophila* соответственно [2]. Секреторная система типа IVB, также известная как Dot/Icm-система, имеет сходство с конъюгационным комплексом, кодируемым плазмидами IncI. Исследования *L. pneumophila* выявили некоторые коровые комплексы, которые определяют топологию Dot/Icm-аппарата, такого, как подкомплекс, состоящий из DotC, DotD, DotF (также известный как IcmG), DotG (также известный как IcmE) и DotH (также известный как IcmK), которые соединяют внутреннюю и внешнюю бактериальную мембраны и функционально являются коровым транспортным комплексом [98]. Второй подкомплекс включает в себя связывающий протеин DotL (также известный как IcmO; захватывает IcmSW-зависимые субстраты в секреторный аппарат) и DotM (также известный как IcmP), IcmS и IcmW [99]. Штамм *C. burnetii* Nine Mile I кодирует гомологи 24 из 27 протеинов Dot/Icm-системы, найденных у *L. pneumophila*, и эта высокая степень сходства между двумя системами позволяет предположить, что они структурно похожи [81]. В геноме коксииеллы отсутствуют гены *dotV* (также известный как *icmC*), *icmR* и *dotJ* (также известный как *icmM*), но имеется дупликация гена *dotI* (также известного как *icmL*, что приводит к появлению генов *icmL1* и *icmL2*). Сходство *dotJ* и *dotI* позволяет предположить, что эта дупликация *dotI* может заменить отсутствие *dotJ*, функционального гомолога *icmR* [67]. Существует консервативность между двумя этими секреторными системами IV типа: *dotB*, *icmS*, *icmT* и *icmW* *C. burnetii* могут быть комплементарными для внутриклеточного роста дефектных по этим генам штаммов *L. pneumophila*, у которых эти гены мутировали [108]. Это было первое доказательство того, что коксииелла кодирует функциональную Dot/Icm-систему, и оно привело к использованию *L. pneumophila* в качестве суррогатного хозяина с целью идентификации и характеристики эффекторных протеинов коксииеллы [20]. Транскрипционный анализ с использованием этой системы продемонстрировал, что некоторые гены *dot/icm* у коксииеллы активно транскрибируются на ранних стадиях после инфекции [66], и, подобно *L. pneumophila*, Dot/Icm-система локализуется в районе клеточных полюсов *C. burnetii* в ходе инфекции [65]. Используя транспозонных и сайт-специфичных мутантов, исследователи подтвердили зависимость *C. burnetii* от Dot/Icm-системы в процессе выживания внутри клетки хозяина [10, 19].

Штаммы коксиилл, содержащие транспозон *Himar1* в последовательностях генов *icmL* или *icmD* или делеции генов *dotA* или *dotB*, не способны секретировать эффекторы и приобретают различные дефекты при внутриклеточном росте [10, 12, 19].

Использование транспозонного мутагенеза позволило выявить, что ключевыми для репликации *C. burnetii* в клетках хозяина являются гены *icmD*, *dotA* и *icmL1* [19]. У этих мутантов, а также у мутантов по гену *dotB*, была сохранена способность проникать в клетку хозяина, но нарушена способность формировать крупную паразитофорную вакуоль и реплицироваться внутри нее [12]. Значительный интерес также представляет ген *icmS*: его продукт — шаперонин, который опосредует секрецию целого подкласса бактериальных эффекторов [113]. Мутанты по этому гену представлены мультивакуолярным фенотипом, что позволяет предположить, что *IcmS* вовлечен в секрецию эффекторов, опосредующих события слияния мембран, необходимых для биогенеза коксиилла-содержащей вакуоли; субстраты *IcmS* пока остаются не известными [57].

Идентификация и характеристика субстратов Dot/Icm-системы

Изначально эффекторы *C. burnetii* исследовались с использованием легионеллы как суррогатного хозяина [71, 102]. Проведенные недавно генетические и биоинформатические скрининги идентифицировали 60 субстратов Dot/Icm-системы у коксииллы, и еще более 60 предполагаемых субстратов недавно было добавлено в этот список [49, 55, 105, 106]. Функции большинства из этих почти 130 субстратов Dot/Icm-системы остаются неустановленными. Большая часть кодирующих генов (23 из 60 генов охарактеризованных субстратов) имеют GC-состав, значительно отличающийся от среднего GC-состава генома коксииллы [20]. Облигатная внутриклеточная природа коксииллы и присутствие похожих на эукариотические доменов (суперспиральные домены и лейцин-богатые повторы, служащие для распознавания лигандов, а также трансмембранные домены, связанные с прикреплением к мембране) во многих субстратах позволяют предположить, что гены, кодирующие эти субстраты, были приобретены путем междоменного горизонтального переноса генов от эукариотного источника [23]. Более того, как и у легионеллы, многие субстраты секреторной системы IV типа коксииллы со-

держат карбокситерминальный мотив или распознаются последовательностями, необходимыми для транслокации [20, 102, 105].

Вслед за транслокацией в клетку хозяина, многие эффекторные протеины метят специфические клеточные компартменты или декорируют мембрану паразитофорной вакуоли, где они взаимодействуют с хозяйскими протеинами [20, 52, 105]. Мутанты по части транслоцируемых эффекторов проявляют сниженную способность при репликации внутри клетки хозяина [106].

Бактериальные патогены используют секреторную систему IV типа в процессе реализации вирулентности, чтобы контролировать активность различных эффекторных протеинов с целью обеспечения правильной прогрессии инфекции. Например, у *L. pneumophila* эффекторный протеин LubX действует как лигаза убиквитина E3, который метит эффектор SidH для дегградации в течение нескольких часов после инфекции, представляя механизм временного контроля [46]. Эффекторные функции у коксииллы, по-видимому, контролируются сходными временными механизмами, включая транскрипционный контроль, эффективность транслокации и стабильность протеинов в клетке хозяина. Эта гипотеза подтверждается недавними наблюдениями, что эффекторы Dot/Icm-системы у коксииллы не транслоцируются в течение 8 ч после инфекции и также требуют закисления коксиилла-содержащих вакуолей для транслокации [19, 69]. Хотя эти экспрессионные паттерны связаны со способностью dot/icm-мутантов к пассивному трафику через эндоцитозный путь, это не объясняет того, как *C. burnetii* способна влиять на процесс аутофагии сразу после попадания в клетку хозяина [10, 19]. Таким образом, возможно, что независимые от секреторной системы IV типа эффекторы, воздействуя на процессы аутофагии, задерживают слияние коксиилла-содержащей вакуоли с лизосомой.

Обнаружен специфический фактор вирулентности, представленный белком Mir (усилитель инфекционности для макрофагов). Это секретлируемый иммунофилин, вовлеченный в выживание патогена внутри клетки хозяина. Mir принадлежит к семейству пептидилпролил-цис-транс-изомераз и участвует в реализации вирулентности у ряда других микроорганизмов [64, 92]. Кроме того, обнаружено еще три белка, поддерживающих инфекционный потенциал коксиилл (CBU_0085, CBU_0318 и CBU_1138) [86].

В геноме коксииллы обнаружены гены, кодирующие четыре двукомпонентные системы:

PhoB-PhoR, GacA-GacS, PmrA-PmrB и RstB-подобную систему [12]. Мутации в ряде этих систем приводят к формированию клеточных фенотипов патогена, у которых нарушена репликация внутри клетки хозяина, как, например, в случае встраивания транспозона в CBU_2006, часть RstB-подобной системы [57].

Другой механизм контроля реализуется на транскрипционном уровне двухкомпонентной регуляторной системой PmrAB, которая, как было показано, напрямую регулирует систему секреции Dot/Icm у *L. pneumophila* и *C. burnetii* [113]. У других патогенных бактерий, таких как *Pseudomonas aeruginosa*, система PmrAB регулирует гены вирулентности в ответ на низкие уровни магния, высокие уровни железа и низкий pH [61]. Биоинформационный анализ выявил, что гены, кодирующие пять структурных протеинов Dot/Icm (*dotP* (также известный как *icmD*), *icmQ*, *icmV*, *icmW* и *dotD*) содержат PmrA-связывающие последовательности, расположенные правее –10 региона их промоторов. Более того, 20 возможных PmrA-регулируемых генов коксииеллы, как было показано, являются субстратами Dot/Icm-системы, которая может представлять глобальный регулятор вирулентности *C. burnetii* [20, 71, 113]. Биоинформационный анализ также предполагает, что существуют другие неизвестные механизмы для регуляции не регулируемых PmrA эффекторов, поскольку многие вновь идентифицированные эффекторы не содержат PmrA-связывающих последовательностей, но продолжают секретироваться. Наличие реагирующих на PmrA генов без специфичных к нему регуляторных элементов позволяет высказать предположение, что двухкомпонентная система PmrAB контролирует экспрессию регуляторных систем, ассоциированных с продукцией коксииеллой дополнительных белков, вовлеченных в паразитизм [11]. Обнаружена сниженная способность к репликации у транспозонных мутантов коксииеллы по генам, кодирующим CBU_1761 (возможная сенсорная гистидинкиназа с неизвестным родством к регуляторам) и VacB (экзорибонуклеаза РНаза R). По-видимому, VacB опосредует регуляторный контроль за счет способности процессировать мРНК. Это позволяет предположить, что, в дополнение к PmrAB, необходимы транскрибирующиеся гены для работы регулона Dot/Icm-системы [68].

Хотя *L. pneumophila* и *C. burnetii* филогенетически родственны, всего десять из идентифицированных субстратов Dot/Icm коксииеллы имеют значительное сходство с почти 300 субстратами секреторной системы IV типа

легионеллы. Это неудивительно, принимая во внимание то, что легионелла и коксииелла реплицируются в разных вакуолярных компартментах при совместной и при отдельной инфекции [49]. Возможно Dot/Icm-эффекторы легионеллы и коксииеллы выполняют специфические функции, создавая отдельное, окружение для каждой бактерии, обеспечивающее возможность репликации.

Пластичность и избыточность субстратов Dot/Icm у различных патотипов *C. burnetii*

Эффекторы Dot/Icm проявляют поразительную гетерогенность у полностью отсекаемых изолятов *C. burnetii*, принадлежащих к различным патотипам [19]. Всего 19 из идентифицированных в настоящее время эффекторов являются полностью консервативными у «острых» и «хронических» изолятов. Тот факт, что эти эффекторы поддерживаются у всех изолятов коксииелл, позволяет предположить, что они играют важную роль для выживания внутри клетки хозяина. Пластичность остальных эффекторов может быть опосредована частично экстенсивной рекомбинацией между имеющимися в избытке инсерционными последовательностями, обнаруженными в геноме *C. burnetii* [9]. У изолятов, вызывающих хроническое или бессимптомное заболевание, большинство гомологов эффекторов штамма *C. burnetii* Nine Mile I представлены либо в усеченном виде, либо в виде псевдогенов. Это позволяет предположить, что усеченные гомологи нефункциональны. Гипотеза поддерживается наблюдением, что эктопическая экспрессия CBU_1532 (присутствующего у штамма Nine Mile I) приводит к округлению клетки хозяина, в то время как альтернативный старт гомолога CBU_D0454 (у штамма Dugway) не приводит к образованию данного фенотипа [19]. Предполагается, что некоторые группоспецифичные эффекторы Dot/Icm принимают участие в патотип-специфичной вирулентности, что также является гипотезой, которая в настоящее время проверяется методами сайт-специфичного мутагенеза [12, 70].

Разные изоляты *C. burnetii* связаны с некоторыми уникальными характеристиками вызываемого ими заболевания, характеризующимися определенными патологическими свойствами. Например, штамм Dugway, выделенный от грызунов, авирулентен по сравнению с референсным штаммом Nine Mile I,

выделенным из клешей, а штаммы Graves и Kearns проявляют инфекционные свойства, выражающиеся в меньшей степени воспаления и диссеминации [79]. Сравнение этих изолятов выявило множество эффекторов, которые интактны у одних изолятов, но нарушены у других. Это может быть связано с тем, что различные эффекторы могут быть причиной разных вариантов ответа клетки хозяина и, следовательно, разных характеристик заболевания [9, 104]. Исследование вышеназванных четырех изолятов показало, что среди всех эффекторных белков лишь 12 полностью консервативны, среди остальных же зачастую у некоторых штаммов обнаруживаются вставки, ведущие к образованию псевдогенов [106]. Исследование региона *cirA-cirE* показало, что лишь четыре из пяти субстратов полностью консервативны (*cirA-cirD*), но значительная гетерогенность представлена в последовательности *cirE*. У ряда изолятов наблюдаются сдвиги рамки считывания, что может быть важно для решения вопроса о том, секретируется ли данный субстрат у этих изолятов [20].

Большое семейство белков, содержащих анкириновые повторы (Ank-белки) — одно из первых обнаруженных у коксиеллы эффекторов транспортной системы IV типа, показавших значительное разнообразие у изолятов, относящихся к разным патотипам. Например, у штамма Nine Mile I обнаружено всего четыре интактных Ank-белка, а у штамма Dugway — 11. Эти исследования свидетельствуют о наличии изолят-специфических эффекторов в дополнение к эффекторам, консервативным у всех изолятов [104]. Был также идентифицирован патотип-специфичный субстрат, связывающийся с тиоредоксином, — *ElpA*, который содержит специфический для эндоплазматического ретикулума (ЭР) мотив, транспортируется в хозяйский ЭР и нарушает секреторный транспорт. Этот белок был обнаружен у всех изолятов *S. burnetii*, кроме штамма Nine Mile I, вызывающего острую Ку-лихорадку, что позволяет предположить, что данный штамм адаптирован выживать в отсутствие этого эффектора, возможно, за счет использования протеинов со сходными функциями [33]. Nine Mile I кодирует два других субстрата Dot/Icm-системы, *CBU_0372* и *CBU_1576*, локализующихся в ЭР, однако эти эффекторы не нарушают секреторный транспорт [106]. Только Nine Mile I и Dugway содержат эти белки, в то время как остальные изоляты — *ElpA*. Таким образом, Dugway кодирует все три белка, и это позволяет предположить, что данный патотип может кодировать множество субстратов

Dot/Icm-системы со сходными функциями. Хотя белки *CBU_0019*, *CBU_0635*, *CBU_1556* и *CBU_1825* не транспортируются в ЭР, эти эффекторы негативно влияют на секреторный транспорт клетки хозяина. Наличие нескольких эффекторов, связывающихся с ЭР или нарушающих секреторный транспорт, свидетельствует о важности взаимодействия с данной органеллой в процессе инфекции [33].

При анализе кодируемых плазмидными генами эффекторов Dot/Icm-системы, были обнаружены белки *CpeG-CpeL* [58, 105]. Из них четыре (*CpeI-CpeL*) кодируются плазмидой *QpDG*, которая обнаруживается у аттенуированных изолятов *S. burnetii*, например, штамма Dugway; у изолятов с плазмидой *QpH1* гены, кодирующие эти белки, отсутствуют [58]. *CpeL* локализуется вокруг коксиелла-содержащей вакуоли вместе с убиквитиновыми белками таким же образом, что и специфичный для плазмиды *QpH1* белок *CpeC* [105]. Это позволяет предположить, что штамм Dugway кодирует белок, который может регулировать модификацию хозяйских и бактериальных белков посредством убиквитинирования. По-видимому, существуют специфические эффекторы, которые могут влиять на патогенный потенциал возбудителя; у штаммов, не имеющих данных эффекторов, вирулентность значительно повышена.

Стоит отметить, что не только разные эффекторы секреторной системы IV типа представлены у штаммов коксиеллы различного патотипа. Есть определенные различия в секретируемых с помощью Sec-системы субстратах. Так, гены, кодирующие *CBU_0400* и *CBU_0562a*, отсутствуют у штаммов Q154 и Q212, а у четырех генов обнаружены укорочения: *CBU_0110* и *CBU_1822* у Q212, *CBU_1429a* у Q212 и Q154 и *CBU_1822* (*SodH*) у штамма Dugway [87]. Белки, транспортируемые с помощью Sec-системы, являются важными для модификации хозяйской клетки и репликации патогена.

По сравнению с другими секреторными системами, Dot/Icm-система *L. pneumophila* имеет значительно большее число субстратов. Dot/Icm-система способна транслоцировать почти 10% протеома *L. pneumophila* (что соотносится с приблизительно 300 из 2943 открытых рамок считывания) [49]. Почему у данного патогена так много эффекторов? Результаты недавних исследований позволяют предположить, что по крайней мере 30% Dot/Icm-эффекторов *L. pneumophila* не вовлечены в прохождение инфекции в клетках млекопитающих, но требуются для адаптации к широкому спектру

хозяев [42]. По-видимому, значительная часть протеома *C. burnetii* — на данный момент 5,8% — служит субстратами секреторной системы IV типа [19, 20, 49, 71, 105]. *C. burnetii* способна колонизировать широкий спектр млекопитающих и членистоногих хозяев, и пул субстратов секреторной системы IV типа может обеспечивать инфицирование различных животных. Кроме того, *L. pneumophila* кодирует некоторые множественные эффекторы, имеющие своей целью те же механизмы клетки хозяина, которые способствуют выживанию внутриклеточных бактерий [47]. Это позволяет предположить, что коксии используют сходную стратегию, поскольку были идентифицированы три эффектора, ингибирующие апоптоз (AnkG, SaeA, SaeB) [45, 52]. Установлено, что SaeB влияет на процесс апоптоза за счет индукции экспрессии белка Вах, а не каспазы-3 [14]. Также был обнаружен субстрат секреторной системы IV типа CBU_A0020, колокализующийся после трансляции с митохондриальным маркером CoxIV; возможно, этот протеин также связан с ингибированием апоптоза [106].

Различные цитозольные функции эффекторов Dot/Icm-системы

Большинство идентифицированных субстратов Dot/Icm аннотировано как гипотетические протеины со специфическими сигнальными последовательностями на С-конце [49]. Однако многие кодируют один или более доменов, подобных эукариотическим, вовлеченных в белок-белковые взаимодействия, что говорит о функциональности белков. Эти домены включают анкириновые и тетраатрикопептидные повторы и суперспиральные домены [20, 102]. Другие субстраты имеют подобные эукариотическим домены, которые вовлечены в посттрансляционные модификации, такие как серин-треонин киназы, домены с F-боксом и Fic-домены [20, 105]. Эукариотические белки, несущие эти мотивы, вовлечены в широкий спектр процессов у хозяина, включая апоптоз, убиквитилирование, метаболизм липидов и трафик мембран, что позволяет предположить вовлеченность эффекторов коксии в модуляцию многих из этих клеточных процессов [7, 16, 24, 32, 84]. Например, эффекторы секреторной системы IV типа AnkG, SaeA и SaeB ингибируют апоптоз [45, 52]. Модуляция апоптоза AnkG зависит от способности AnkG связывать хозяйский митохондриальный матричный протеин р32 (также известный как С1QBP). Механизм действия р32 в течение

апоптоза еще не установлен, но полагают, что протеин регулирует открытие митохондриальной поры переходной проницаемости [52]. Установлено, что в процессе ингибирования апоптоза AnkG движется к ядру клетки хозяина, что связано с его способностью связывать хозяйский белок р32. Это происходит только в условиях апоптоза и клеточного стресса и, по-видимому, задействует специфический стрессовый сенсор клетки хозяина [28]. SaeB локализован на митохондриях и ингибирует пермеабиллизацию митохондриальной мембраны, стабилизируя потенциал мембраны, и таким образом предупреждая высвобождение проапоптотических протеинов [45]. Эти два эффектора имеют своей целью одни и те же клеточные пути, хотя и через различные механизмы. Хотя SaeA локализован в ядре, точный механизм ингибирования апоптоза этим белком еще не установлен [45].

Баланс про- и антиапоптотических митохондриальных белков является критичным для апоптоза. Упомянутый выше белок BCL2 обеспечивает выживание клетки за счет ингибирования проапоптотических белков. Есть также группа белков, известных как проапоптотические ВНЗ-протеины, включающие Bad, Bid и Bim, которые формируют димеры с BCL2 и ингибируют антиапоптотический эффект [95]. Было установлено, что фосфорилирование белка Bad значительно увеличивается в процессе инфицирования *C. burnetii* [53]. Возможно, что патоген регулирует активность Bad для поддержания выживания клетки хозяина. Эукариотические сАМР-зависимые протеинкиназы необходимы для опосредованного коксией выживания клетки хозяина; патоген также захватывает белок Bad в паразитарную вакуоль, где этот белок фосфорилируется и инактивируется [54].

Как обсуждалось выше, для *C. burnetii* ингибирование апоптоза необходимо для поддержания жизнедеятельности клетки хозяина, несмотря на то, что коксия-содержащая вакуоль занимает практически весь ее объем. Респираторные патогены, такие как *M. tuberculosis* и *L. pneumophila*, противостоят проапоптотической активности пораженных макрофагов, манипулируя путями их выживания для успешной репликации. В отличие от них, коксия длительное время способна реплицироваться в одной и той же клетке, причем период удвоения составляет около 12 ч [21]. Такой жизненный цикл требует длительной жизнеспособности клетки хозяина, и *C. burnetii* обеспечивает ее зависимым от секреторной системы IV типа спо-

собом. Таким образом, коксиелла вовлекает механизмы для предотвращения ответа альвеолярных макрофагов на инфекцию, позволяя наращивать бактериальную популяцию до гематогенного распространения по другим сайтам инфекции.

Функциональные исследования служат стартовой точкой для характеристики многих эффекторных функций *C. burnetii*, и эктопическая экспрессия эффекторных протеинов в эукариотических клетках показала, что многие эффекторы имеют своей целью строго определенные органеллы хозяина [102, 105]. Например, по крайней мере три эффектора (CaeA, CBU1314 и CBU1976) ассоциированы с ядром клетки хозяина [20], и, вероятно, зависят от наличия мотивов ядерной локализации. Поскольку было показано, что инфицирование коксиеллами влияет на транскрипцию генов хозяина [74], имеются основания предположить, что эти возможные ядерные эффекторы вовлечены в процесс инфекции. Помимо этого, некоторые эффекторы, являющиеся везикулярными мембранными белками, имеют целью своей локализации коксиелла-содержащую вакуоль и аутофагосому [102]. В настоящее время исследователи идентифицировали семейство связанных с коксиелла-содержащей вакуолью протеинов, некоторые из которых являются необходимыми для внутриклеточной репликации. Эти эффекторы могут служить для стабилизации коксиелла-содержащей вакуоли или как точки докинга для сигнальных молекул, и, таким образом, они могут обеспечивать фузогенную активность коксиелла-содержащей вакуоли. Поскольку коксиелла влияет на фузогенные свойства коксиелла-содержащей вакуоли, идентификация эффекторов, которые нарушают секреторные пути эукариотической клетки, является очень важной. *C. burnetii* активно модулирует пути везикулярного трафика захватом мембран для коксиелла-содержащей вакуоли. Это является свидетельством того, что ранние секреторные пути вовлечены в биогенез этой вакуоли [17]. Эффекторы Dot/Icm-системы, которые включаются в секреторные пути хозяина, были идентифицированы у *L. pneumophila* с использованием секреторируемой эмбриональной щелочной фосфатазы [56]. У коксиеллы был обнаружен эффектор CBU_0635, нарушающий секреторные пути клеток млекопитающих с использованием этой же методики; он локализуется в связке с аппаратом Гольджи [19]. Дальнейший анализ необходим для установления точного механизма действия CBU_0635 и его связи с вирулентностью коксиеллы.

Родственные убиквитину, содержащие F-бокс, белки представляют интересную группу эффекторов Dot/Icm-системы. Подобно *L. pneumophila*, *C. burnetii* кодирует паралоги содержащих F-бокс белков; три из них являются эффекторами Dot/Icm-системы, а один (CpeC) ассоциирован с убиквитином [20, 105]. В эукариотической клетке эта группа белков может обеспечивать связанную с протеасомами деградацию [73]. Например, у легионеллы содержащий F-бокс протеин AnkV метит второстепенные протеины хозяина (через убиквитинилирование) для деградации протеасомой 26S, обеспечивая источник аминокислот для роста бактерий [73]. Играют ли F-бокс протеины коксиеллы подобную роль — еще только предстоит установить.

Стратегии ухода от механизмов иммунного ответа

C. burnetii использует несколько стратегий ухода от иммунного ответа, которые связаны со структурой ее липополисахаридов (ЛПС). Вирулентная фаза I коксиелл продуцирует ЛПС с полноразмерным O-антигеном [100]. Более того, структура этих так называемых гладких ЛПС препятствует обнаружению бактерии паттернами распознавания Toll-подобного рецептора TLR2 [83], который распознает лиганды внутри ЛПС. Напротив, авирулентная фаза II *C. burnetii* продуцирует шероховатые ЛПС, у которых отсутствует терминальный сахар O-антигена и которые легко детектируются TLR2; их распознавание индуцирует продукцию интерлейкина-12 (IL-12) и фактора некроза опухолей (TNF) и активирует макрофаги для опосредованного бактериального клиренса [110]. В противоположность этому, фаза I *C. burnetii* не индуцирует созревание первичных дендритных клеток и индуцирует продукцию относительно низких уровней IL-12 и TNF [83]. Это позволяет предположить, что ЛПС фазы I, содержащие полноразмерный O-антиген, защищают лиганды TLR2 на поверхности бактериальной клеточной стенки. Другие исследования показали, что ЛПС фаз I и II индуцируют продукцию TNF макрофагами. Однако индукция этого процесса, по видимому, происходит из-за контаминирующих лигандов TLR2, поскольку очищенные ЛПС (которые могут содержать контаминирующие лиганды TLR) индуцируют сигналинг TLR2. Очищенный хроматографией липид A (компонент ЛПС, распознаваемый TLR4) подобным свойством не обладает [27, 36, 110].

Исследования показали, что ЛПС коксиделл являются примерно в тысячу раз менее токсичными, нежели ЛПС бактерий кишечной группы, например, *E. coli* [3]. Далее было установлено, что коксиделла использует вторую ЛПС-зависимую собственную стратегию ухода от иммунного ответа: чаще, чем агонист сигналинга TLR4, липид А коксиделлы служит в качестве антагониста TLR4 [110]. Липид А *C. burnetii* (фазовых вариантов I и II) состоит из тетраациллированной структуры. Такая форма липида А связана с антагонизмом к TLR4-сигналингу у некоторых других бактериальных патогенов, в частности, у *Yersinia pestis* [89, 91]. Выяснение роли TLR4 в патогенезе *C. burnetii* было осложнено тем, что рецепторы клеточной поверхности, по видимому, вовлечены в перестройку актиновых филаментов и фагоцитоз вирулентной фазы I [37]. Предполагается, что способность TLR4 различать липополисахариды фазы I и II не зависит от структуры липида А, но зависит от новых сигнальных механизмов, включающих опосредованный О-антигеном фагоцитоз (О-антиген отсутствует у ЛПС фазы II) [110]. Дальнейшие исследования требуются для того, чтобы объяснить полученные данные, в том числе, потому что транскрипционный профиль клетки хозяина, инфицированной коксиделлами фазы I или II, не выявляет экспрессии генов, необходимых для TLR4-сигналинга [13].

Способность *C. burnetii* избегать детекции рецепторами распознавания патогенов предупреждает активацию инфицированных макрофагов и обеспечивает внутриклеточную нишу, поддерживающую репликацию патогена. Большое число исследований показало, что активация инфицированных клеток IFN γ ингибирует репликацию коксиделл [26, 109], прежде всего за счет продукции активных форм кислорода (ROS) и активных форм азота (RNS) [15]. *C. burnetii* предотвращает продукцию ROS через секрецию кислой фосфатазы (CBU0335), механизм действия которой пока не установлен, но известно, что этот протеин препятствует сборке NADPH-оксидазного комплекса, хотя этот механизм может быть неэффективен в защите от высоких уровней ROS, которые индуцируются IFN γ [35, 85]. Продукция RNS требует синтеза *de novo* индуцибельной NO-синтазы (iNOS), которая происходит после индукции провоспалительными цитокинами, образующимися после стимуляции TLR [97]. В отличие от ЛПС *E. coli*, которые стимулируют макрофаги на синтез нитратов, экспозиция макрофагов с *C. burnetii* не приво-

дит к секреции нитратов, что неудивительно, учитывая, что *C. burnetii* поражает клетки без стимуляции TLR [13].

Гибель клетки хозяина часто индуцируется в процессе инфекции как механизм иммунной защиты. Это служит двум целям: элиминирует инфицированные клетки и позволяет окружить дендритными клетками пораженные апоптотические бляшки и произвести последующую презентацию антигена через молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса, которые индуцируют протективный иммунитет к внутриклеточным патогенам [4]. Таким образом, способность *C. burnetii* ингибировать апоптоз представляет стратегию ухода от иммунного ответа. Аутофагия является другим механизмом, используемым системой врожденного иммунитета для устранения внутриклеточных патогенов. Однако, как уже упоминалось, коксиделла активно задействует компоненты аутофагии в формировании коксиделла-содержащей вакуоли, и индукция аутофагии на самом деле способствует внутриклеточной репликации патогена [96, 107].

Заключение

C. burnetii является широко распространенной во внешней среде бактерией, имеет широкий круг хозяев и способна вызывать эпидемические вспышки благодаря аэрозольному пути заражения и чрезвычайной стабильности в условиях внешней среды. Понимание механизмов патогенности этого микроорганизма является приоритетным направлением исследований. Активация или подавление процессов внутриклеточного трафика в ходе инфекции позволяет *C. burnetii* адаптироваться к существованию в коксиделла-содержащей вакуоли с низким pH. Кроме того, *C. burnetii* ингибирует активацию макрофагов для того, чтобы избежать распознавания системой врожденного иммунитета.

Длительное время существовавшая идея, о том, что только ЛПС являются детерминантами вирулентности, признана неверной, и в настоящее время значительное число исследований посвящено важной роли функциональной секреторной системы IV типа в обеспечении внутриклеточного роста. Секреторная система IV типа коксиделл транспортирует более сотни известных субстратов, но какие из них являются необходимыми для внутриклеточной репликации еще только предстоит установить. Недавние исследования показали, что, по сравнению с *L. pneumophila*,

у *C. burnetii* есть некоторые особенные эффекторы, которые секретируются через транспортную систему IV типа, что демонстрирует некоторую избыточность этой системы у коксиеллы по сравнению с легионеллой. В настоящее время разрабатывается высокопроизводительный скрининг случайных и целевых мутантных

библиотек, который позволит идентифицировать новые гены, важные для внутриклеточного роста этого патогена *in vitro* и *in vivo*. Наконец, развитие методов сайт-специфического мутагенеза позволит установить роль предполагаемых путей и факторов в получении знаний о молекулярном патогенезе Ку-лихорадки.

Список литературы/References

1. Aguilera M., Salinas R., Rosales E., Carminati S., Colombo M.I., Beron W. Actin dynamics and Rho GTPases regulate the size and formation of parasitophorous vacuoles containing *Coxiella burnetii*. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 10, pp. 4609–4620. doi: 10.1128/IAI.00301-09
2. Alvarez-Martinez C.E., Christie P.J. Biological diversity of prokaryotic type IV secretion systems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2009, vol. 73, no. 4, pp. 775–808. doi: 10.1128/MMBR.00023-09
3. Amano K., Williams J.C., Missler S.R., Reinhold V.N. Structure and biological relationships of *Coxiella burnetii* lipopolysaccharide. *J. Biol. Chem.*, 1987, vol. 262, no. 10, pp. 4740–4747.
4. Ashida H., Mimuro H., Ogawa M., Kobayashi T., Sanada T., Kim M., Sasakawa C. Cell death and infection: a double-edged sword for host and pathogen survival. *J. Cell. Biol.*, 2011, vol. 195, no. 6, pp. 931–942. doi: 10.1083/jcb.201108081
5. Baca O.G., Scott T.O., Akporiaye E.T., De Blasiis R., Crissman H.A. Cell cycle distribution patterns and generation times of L929 fibroblast cells persistently infected with *Coxiella burnetii*. *Infect. Immun.*, 1985, vol. 47, no. 2, pp. 366–369.
6. Baca O.J., Klassen D.A., Aragon A.S. Entry of *Coxiella burnetii* into host cells. *Acta Virol.*, 1993, vol. 37, no. 2–3, pp. 143–155.
7. Banga S., Gao P., Shen X., Fiscus V., Zong W.X., Chen L., Luo Z.Q. *Legionella pneumophila* inhibits macrophage apoptosis by targeting pro-death members of the Bcl2 protein family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, vol. 104, no. 12, pp. 5121–5126.
8. Bartra S.S., Gong X., Loricca C.D., Jain C., Nair M.K., Schifferli D., Qian L., Li Z., Plano G.V., Schlessner K. The outer membrane protein A (OmpA) of *Yersinia pestis* promotes intracellular survival and virulence in mice. *Microb. Pathog.*, 2012, vol. 52, no. 1, pp. 41–46. doi: 10.1016/j.micpath.2011.09.009
9. Beare P.A., Unsworth N., Andoh M., Voth D.E., Omsland A., Gilk S.D., Williams K.P., Sobral B.V., Kupko J.J. 3rd, Porcella S.F., Samuel J.E., Heinzen R.A. Comparative genomics reveal extensive transposon-mediated genomic plasticity and diversity among potential effector proteins within the genus *Coxiella*. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 2, pp. 642–656. doi: 10.1128/IAI.01141-08
10. Beare P.A., Gilk S.D., Larson C.L., Hill J., Stead C.M., Omsland A., Cockrell D.C., Howe D., Voth D.E., Heinzen R.A. Dot/Icm type IVB secretion system requirements for *Coxiella burnetii* growth in human macrophages. *MBio*, 2011, vol. 2, no. 4, e0017511. doi: 10.1128/mBio.00175-11
11. Beare P.A., Sandoz K.M., Larson C.L., Howe D., Kronmiller B., Heinzen R.A. Essential role for the response regulator PmeA in *Coxiella burnetii* type IVB secretion and colonization of mammalian host cells. *J. Bacteriol.*, 2014, vol. 196, no. 11, pp. 1925–1940. doi: 10.1128/JB.01532-14
12. Beare P.A., Larson C.L., Gilk S.D., Heinzen R.A. Two systems for targeted gene deletion in *Coxiella burnetii*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, vol. 78, no. 13, pp. 4580–4589. doi: 10.1128/AEM.00881-12
13. Benoit M., Barbarat B., Bernard A., Olive D., Mege J.L. *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, stimulates an atypical M2 activation program in human macrophages. *Eur. J. Immunol.*, 2008, vol. 38, no. 4, pp. 1065–1070. doi: 10.1002/eji.200738067
14. Berens C., Bisle S., Klingenberg L., Luhrmann A. Applying an inducible expression system to study interference of bacterial virulence factors with intracellular signaling. *J. Vis. Exp.*, 2015, vol. 100, e52903. doi: 10.3791/52903
15. Brennan R.E., Russell K., Zhang G.E., Samuel J. Both inducible nitric oxide synthase and NADPH oxidase contribute to the control of virulent phase I *Coxiella burnetii* infections. *Infect. Immun.*, 2004, vol. 72, no. 11, pp. 6666–6675.
16. Campodonico E.M., Chesnel L., Roy C.R. A yeast genetic system for the identification and characterization of substrate proteins transferred into host cells by the *Legionella pneumophila* Dot/Icm system. *Mol. Microbiol.*, 2005, vol. 56, no. 4, pp. 918–933.
17. Campoy E.M., Zoppino F.C., Colombo M.I. The early secretory pathway contributes to the growth of the *Coxiella*-replicative niche. *Infect. Immun.*, 2011, vol. 79, no. 1, pp. 402–413. doi: 10.1128/IAI.00688-10
18. Capo C., Lindberg F.P., Meconi S., Zaffran Y., Tardei G., Brown E.J., Raoult D., Mege J.L. Subversion of monocyte functions by *Coxiella burnetii*: impairment of the cross-talk between $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin and CR3. *J. Immunol.*, 1999, vol. 163, no. 11, pp. 6078–6085.
19. Carey K.L., Newton H., Luhrmann A.J., Roy C.R. The *Coxiella burnetii* Dot/Icm system delivers a unique repertoire of type IV effectors into host cells and is required for intracellular replication. *PLoS Pathog.*, 2011, vol. 7, no. 5, e1002056. doi: 10.1371/journal.ppat.1002056
20. Chen C., Banga S., Mertens K., Weber M.M., Gorbaslieva I., Tan Y., Luo Z.Q., Samuel J.E. Large-scale identification and translocation of type IV secretion substrates by *Coxiella burnetii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, vol. 107, no. 50, pp. 21755–21760. doi: 10.1073/pnas.1010485107
21. Coleman S.A., Fischer E.R., Howe D., Mead D.J., Heinzen R.A. Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation. *J. Bacteriol.*, 2004, vol. 186, no. 21, pp. 7344–7352.
22. Datta D., Vaidehi N., Floriano W.B., Kim K.S., Prasadarao N.V., Goddard W.A. 3rd. Interaction of *E. coli* outer-membrane protein A with sugars on the receptors of the brain microvascular endothelial cells. *Proteins*, 2003, vol. 50, no. 2, pp. 213–221.
23. De Felipe K.S., Pampou S., Jovanovic O.S., Pericone C.D., Ye S.F., Kalachikov S., Shuman H.A. Evidence for acquisition of *Legionella* type IV secretion substrates via interdomain horizontal gene transfer. *J. Bacteriol.*, 2005, vol. 187, no. 22, pp. 7716–7726.

24. De Felipe K.S., Glover R.T., Charpentier X., Anderson O.R., Reyes M., Pericone C.D., Shuman H.A. Legionella eukaryotic-like type IV substrates interfere with organelle trafficking. *PLoS Pathog.*, 2008, vol. 4, no. 8, e1000117. doi: 10.1371/journal.ppat.1000117
25. De Fougerolles A.R., Kotliansky V.E. Regulation of monocyte gene expression by the extracellular matrix and its functional implications. *Immunol. Rev.*, 2002, vol. 186, pp. 208–220.
26. Dellacasagrande J., Capo C., Raoult D., Mege J.L. IFN- γ -mediated control of *Coxiella burnetii* survival in monocytes: the role of cell apoptosis and TNF. *J. Immunol.*, 1999, vol. 162, no. 4, pp. 2259–2265.
27. Dellacasagrande J., Ghigo E., Machergui-El S., Hammami S.M., Toman R., Raoult D., Capo C., Mege J.L. $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ integrin and bacterial lipopolysaccharide are involved in *Coxiella burnetii*-stimulated production of tumor necrosis factor by human monocytes. *Infect. Immun.*, 2000, vol. 68, no. 10, pp. 5673–5678.
28. Eckart R.A., Bisle S., Schulze-Luehrmann J., Wittman I., Jantsch J., Schmid B., Berens C., Luhrmann A. Antiapoptotic activity of *Coxiella burnetii* effector protein AnkG is controlled by p32-dependent trafficking. *Infect. Immun.*, 2014, vol. 82, no. 7, pp. 2763–2771. doi: 10.1128/IAI.01204-13
29. Espenshade P.J., Hughes A.L. Regulation of sterol synthesis in eukaryotes. *Annu. Rev. Genet.*, 2007, vol. 41, pp. 401–427.
30. Flannagan R.S., Jaumouillé V., Grinstein S. The cell biology of phagocytosis. *Annu. Rev. Pathol.*, 2012, vol. 7, pp. 61–98. doi: 10.1146/annurev-pathol-011811-132445
31. Fu Y., Galan J.E. Salmonella protein antagonizes Rac1 and Cdc42 to mediate host-cell recovery after bacterial invasion. *Nature*, 1999, vol. 401, pp. 293–297. doi: 10.1038/45829
32. Ge J., Xu H., Li T., Zhou Y., Zhang Z., Li S., Liu L., Shao F. A Legionella type IV effector activates the NF κ B pathway by phosphorylating the I κ B family of inhibitors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2009, vol. 106, no. 33, pp. 13725–13730. doi: 10.1073/pnas.0907200106
33. Graham J.J., Winchell C.J., Sharma U.M., Voth D.E. Identification of ElpA, a *Coxiella burnetii* pathotype-specific Dot/Icm type IV secretion system substrate. *Infect. Immun.*, 2015, vol. 83, no. 3, pp. 1190–1198. doi: 10.1128/IAI.02855-14
34. Gutierrez M.G., Vazques C.L., Munafo D.B., Zoppino F.C., Beron W., Rabinovitch M., Colombo M.I. Autophagy induction favours the generation and maturation of the *Coxiella*-replicative vacuoles. *Cell Microbiol.*, 2005, vol. 7, no. 7, pp. 981–993. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00527.x
35. Hill J., Samuel J.E. *Coxiella burnetii* acid phosphatase inhibits the release of reactive oxygen intermediates in polymorphonuclear leukocytes. *Infect. Immun.*, 2011, vol. 79, no. 1, pp. 414–420. doi: 10.1128/IAI.01011-10
36. Hirschfeld M., Ma Y., Weis J.H., Vogel S.N., Weis J.J. Cutting edge: repurification of lipopolysaccharide eliminates signaling through both human and murine Toll-like receptor 2. *J. Immunol.*, 2000, vol. 165, no. 2, pp. 618–622. doi: 10.4049/jimmunol.165.2.618
37. Honstetter A., Ghigo E., Moynault A., Capo C., Toman R., Akira S., Takeuchi O., Lepidi H., Raoult D., Mege J.L. Lipopolysaccharide from *Coxiella burnetii* is involved in bacterial phagocytosis, filamentous actin reorganization, and inflammatory responses through Toll-like receptor 4. *J. Immunol.*, 2004, vol. 172, no. 6, pp. 3695–703. doi: 10.4049/jimmunol.172.6.3695
38. Howe D., Mallavia L.P. *Coxiella burnetii* exhibits morphological change and delays phagolysosomal fusion after internalization by J774A.1 cells. *Infect. Immun.*, 2000, vol. 68, no. 7, pp. 3815–3821. doi: 10.1128/IAI.68.7.3815-3821.2000
39. Howe D., Heinzen R.A. *Coxiella burnetii* inhabits a cholesterol-rich vacuole and influences cellular cholesterol metabolism. *Cell. Microbiol.*, 2006, vol. 8, no. 3, pp. 496–507. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00641.x
40. Howe D., Melnicakova J., Barak I., Heinzen R.A. Maturation of the *Coxiella burnetii* parasitophorous vacuole requires bacterial protein synthesis but not replication. *Cell. Microbiol.*, 2003, vol. 5, no. 7, pp. 469–480. doi: 10.1046/j.1462-5822.2003.00293.x
41. Howe D., Heinzen R.A. Replication of *Coxiella burnetii* is inhibited in CHO K-1 cells treated with inhibitors of cholesterol metabolism. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2005, vol. 1063, pp. 123–129. doi: 10.1196/annals.1355.020
42. Huang L., Boyd D., Amyot W.M., Hempstead A.D., Luo Z.Q., O'Connor T.J., Chan C., Machner M., Montminy T., Isberg R.R. The E Block motif is associated with Legionella pneumophila translocated substrates. *Cell. Microbiol.*, 2011, vol. 13, no. 2, pp. 227–245. doi: 10.1111/j.1462-5822.2010.01531.x
43. Hussain S.K., Broderdorf L.J., Sharma U.M., Voth D.E. Host kinase activity is required for *Coxiella burnetii* parasitophorous vacuole formation. *Front. Microbiol.*, 2010, vol. 1:137. doi: 10.3389/fmicb.2010.00137
44. Kinchen J.M., Ravichandran K.S. Phagosome maturation: going through the acid test. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2008, vol. 9, no. 10, pp. 781–795. doi: 10.1038/nrm2515
45. Klingenberg L., Eckart R.A., Berens C., Luhrmann A. The *Coxiella burnetii* type IV secretion system substrate CaeB inhibits intrinsic apoptosis at the mitochondrial level. *Cell. Microbiol.*, 2013, vol. 15, no. 4, pp. 675–687. doi: 10.1111/cmi.12066
46. Kubori T., Shinzawa N., Kanuka H., Nagai H. Legionella metaeffector exploits host proteasome to temporally regulate cognate effector. *PLoS Pathog.*, 2011, vol. 6, no. 12, e1001216. doi: 10.1371/journal.ppat.1001216
47. Laguna R.K., Creasey E.A., Li Z., Valtz N., Isberg R.R. A Legionella pneumophila – translocated substrate that is required for growth within macrophages and protection from host cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 49, pp. 18745–18750. doi: 10.1073/pnas.0609012103
48. Larson C.L., Beare P., Howe D.A., Heinzen R.A. *Coxiella burnetii* effector protein subverts clathrin-mediated vesicular trafficking for pathogen vacuole biogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, vol. 110, no. 49, E4770–4779. doi: 10.1073/pnas.1309195110
49. Lifshitz Z., Burstein D., Peeri M., Zusman T., Schwartz K., Shuman H.A., Pupko T., Segal G. Computational modeling and experimental validation of the Legionella and *Coxiella* virulence-related type-IVB secretion signal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, vol. 110, no. 8, E707–715. doi: 10.1073/pnas.1215278110
50. Lifshitz Z., Burstein D., Schwartz K., Shuman H.A., Pupko T., Segal G. Identification of novel *Coxiella burnetii* Icm/Dot effectors and genetic analysis of their involvement in modulating a mitogen-activated protein kinase pathway. *Infect. Immun.*, 2014, vol. 82, no. 9, pp. 3740–3752. doi: 10.1128/IAI.01729-14
51. Luhrmann A., Roy C.R. *Coxiella burnetii* inhibits activation of host cell apoptosis through a mechanism that involves preventing cytochrome c release from mitochondria. *Infect. Immun.*, 2007, vol. 75, no. 11, pp. 5282–5289. doi: 10.1128/IAI.00863-07

52. Luhrmann A., Nogueira C.V., Carey K.L., Roy C.R. Inhibition of pathogen-induced apoptosis by a *Coxiella burnetii* type IV effector protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, vol. 107, no. 44, pp. 18997–19001. doi: 10.1073/pnas.1004380107
53. MacDonald L.J., Kurten R.C., Voth D.E. *Coxiella burnetii* alters cyclic AMP-dependent protein kinase signalling during growth in macrophage. *Infect. Immun.*, 2012, vol. 80, no. 6, pp. 1980–1986. doi: 10.1128/IAI.00101-12
54. MacDonald L.J., Graham J.J., Kurten R.C., Voth D.E. *Coxiella burnetii* exploits host cAMP-dependent protein kinase signalling to promote macrophage survival. *Cell. Microbiol.*, 2014, vol. 16, no. 1, pp. 146–159. doi: 10.1111/cmi.12213
55. Maffatt J.H., Newton P., Newton H.J. *Coxiella burnetii*: turning hostility into a home. *Cell. Microbiol.*, 2015, vol. 17, no. 5, pp. 621–631. doi: 10.1016/j.devcel.2006.05.013
56. Machner M.P., Isberg R.R. Targeting of host Rab GTPase function by the intravacuolar pathogen *Legionella pneumophila*. *Dev. Cell*, 2006, vol. 11, no. 1, pp. 47–56. doi: 10.1016/j.devcel.2006.05.013
57. Martinez E., Cantet F., Fava L., Norville I., Bonazzi M. Identification of OmpA, a *Coxiella burnetii* protein involved in host cell invasion, by multi-phenotypic high-content screening. *PLOS Pathog.*, 2014, vol. 10, no. 3, e1004013. doi: 10.1371/journal.ppat.1004013
58. Maturana P., Graham J.G., Sharma U.M., Voth D.E. Refining the plasmid-encoded type IV secretion system substrate repertoire of *Coxiella burnetii*. *J. Bacteriol.*, 2013, vol. 195, no. 14, pp. 3269–3276. doi: 10.1128/JB.00180-13
59. Maurin M., Raoult D. Q fever. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1999, vol. 12, no. 4, pp. 518–553.
60. McDonough J.A., Newton H.J., Klum S., Swiss R., Agaisse H., Roy C.R. Host pathways important for *Coxiella burnetii* infection revealed by genome-wide RNA interference screening. *mBio*, 2013, vol. 4, no. 1, e00606-12. doi: 10.1128/mBio.00606-12
61. McPhee J.B., Lewenza S., Hancock R.E. Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Microbiol.*, 2003, vol. 50, no. 1, pp. 205–217. doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03673.x
62. Meconi S., Capo C., Remacle-Bonnet M., Pommier G., Raoult D., Mege J.L. Activation of protein tyrosine kinases by *Coxiella burnetii*: role in actin cytoskeleton reorganization and bacterial phagocytosis. *Infect. Immun.*, 2001, vol. 69, no. 4, pp. 2520–2526. doi: 10.1128/IAI.69.4.2520-2526.2001
63. Meconi S., Jacomo V., Boguet P., Raoult D., Mege J.L., Capo C. *Coxiella burnetii* induces reorganization of the actin cytoskeleton in human monocytes. *Infect. Immun.*, 1998, vol. 66, no. 11, pp. 5527–5533.
64. Mo Y.Y., Cianciotto N.P., Mallavia L.P. Molecular cloning of a *Coxiella burnetii* gene encoding a macrophage infectivity potentiator (Mip) analogue. *Microbiology*, 1995, vol. 141, no. 11, pp. 2861–2871. doi: 10.1099/13500872-141-11-2861
65. Morgan J.K., Luedtke B.E., Thompson H.A., Shaw E.I. *Coxiella burnetii* type IVB secretion system region I genes are expressed early during the infection of host cells. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2010, vol. 311, no. 11, pp. 61–69. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02072.x
66. Morgan J.K., Luedtke B.E., Shaw E.I. Polar localization of the *Coxiella burnetii* type IVB secretion system. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2010, vol. 305, no. 2, pp. 177–183. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.01926.x
67. Nagai H., Kubori T. Type IVB secretion systems of *Legionella* and other Gram-negative bacteria. *Front. Microbiol.*, 2011, vol. 2:136, eCollection 2011, doi: 10.3389/fmicb.2011.00136
68. Newton H.J., Kohler L.J., McDonough J.A., Temoche-Diaz M., Crabill E., Hartland E.L., Roy C.R. A screen of *Coxiella burnetii* mutants reveals important roles for Dot/Icm effectors and host autophagy in vacuole biogenesis. *PloS Pathog.*, 2014, vol. 10, no. 7, e1004286, doi: 10.1371/journal.ppat.1004286
69. Newton H.J., McDonough J.A., Roy C.R. Effector protein translocation by the *Coxiella burnetii* Dot/Icm type IV secretion system requires endocytic maturation of the pathogen-occupied vacuole. *PloS One*, 2013, vol. 8, no. 1, e54566. doi: 10.1371/journal.pone.0054566
70. Omsland A., Beare P.A., Hill J., Cockrell D.C., Howe D., Hansen B., Samuel J.E., Hainzen R.A. Isolation from animal tissue and genetic transformation of *Coxiella burnetii* are facilitated by an improved axenic growth medium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2011, vol. 77, no. 11, pp. 3720–3725. doi: 10.1128/AEM.02826-10
71. Pan X., Luhrmann A., Satoh A., Laskowski-Arce M.A., Roy C.R. Ankyrin repeat proteins comprise a diverse family of bacterial type IV effectors. *Science*, 2008, vol. 320, no. 5883, pp. 1651–1654. doi: 10.1126/science.1158160
72. Peabody C.R., Chung Y.J., Yen M.R., Vidal-Ingigliardi D., Pubsley A.P., Saier M.H. JR. Type II protein secretion and its relationship to bacterial type IV pili and archaeal flagella. *Microbiology*, 2003, vol. 149, pt. 11, pp. 3051–3072. doi: 10.1099/mic.0.26364-0
73. Price C.T., Al-Quadan T., Santic M., Rosenshine I., Abu Kwaiq Y. Host proteasomal degradation generates amino acids essential for intracellular bacterial growth. *Science*, 2011, vol. 334, no. 6062, pp. 1553–1557. doi: 10.1126/science.1212868
74. Ren Q., Robertson S.J., Howe D., Barrows L.F., Heinzen R.A. Comparative DNA microarray analysis of host cell transcriptional responses to infection by *Coxiella burnetii* or *Chlamydia trachomatis*. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2003, vol. 990, pp. 701–713.
75. Roman M.J., Coriz P.D., Baca O.G. A proposed model to explain persistent infection of host cells with *Coxiella burnetii*. *J. Gen. Microbiol.*, 1986, vol. 132, no. 5, pp. 1415–1422.
76. Roman M.J., Crissman H.A., Samsonoff W.A., Hechemy K.E., Baca O.G. Analysis of *Coxiella burnetii* isolates in cell culture and the expression of parasite-specific antigens on the host membrane surface. *Acta Virol.*, 1991, vol. 35, no. 6, pp. 503–510.
77. Romano P.S., Gutierrez M.G., Beron W., Rabinovitch M., Colombo M.A. The autophagic pathway is actively modulated by phase II *Coxiella burnetii* to efficiently replicate in the host cell. *Cell. Microbiol.*, 2007, vol. 9, no. 4, pp. 891–909. doi: 10.1111/j.1462-5822.2006.00838.x
78. Russell-Lodrigue K.E., Zhang G.Q., McMurray D.N., Samuel J.E. Clinical and pathologic changes in a guinea pig aerosol challenge model of acute Q fever. *Infect. Immun.*, 2006, vol. 74, no. 11, pp. 6085–6091.
79. Russell-Lodrigue K.E., Andoh M., Poels M.W., Shive H.R., Weeks B.R., Zhang G.Q., Tersteeg C., Fukushi H., Hirai K., McMurray D.N., Samuel J.E. *Coxiella burnetii* isolates cause genogroup-specific virulence in mouse and guinea pig models of acute Q fever. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 12, pp. 5640–5650. doi: 10.1128/IAI.00851-09
80. Samuel J.E., Frazier M.E., Mallavia L.P. Correlation of plasmid type and disease caused by *Coxiella burnetii*. *Infect. Immun.*, 1985, vol. 49, no. 3, pp. 775–779.

81. Seshadri R., Paulsen I.T., Eisen J.A., Read T.D., Nelson K.E., Nelson W.C., Ward N.L., Tettelin H., Davidsen T.M., Beanan M.J., Deboy R.T., Daugherty S.C., Brinkac L.M., Madupu R., Dodson R.J., Khouri H.M., Lee K.H., Carty H.A., Scanlan D., Heinzen R.A., Thompson H.A., Samuel J. E., Fraser C.M., Heidelberg J.F. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, vol. 100, no. 9, pp. 5455–5460.
82. Sexton J.A., Vogel J.P. Type IVB secretion by intracellular pathogens. *Traffic*, 2002, vol. 3, no. 3, pp. 178–185.
83. Shannon J.G., Howe D., Heinzen R.A. Virulent *Coxiella burnetii* does not activate human dendritic cells: role of lipopolysaccharide as a shielding molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, vol. 102, no. 24, pp. 8722–8727.
84. Shen X., Banga S., Liu Y., Xu L., Gao P., Shamovsky I., Nudler E., Luo Z.Q. Targeting eEF1A by a *Legionella pneumophila* effector leads to inhibition of protein synthesis and induction of host stress response. *Cell. Microbiol.*, 2009, vol. 11, no. 6, pp. 911–926. doi: 10.1111/j.1462-5822.2009.01301.x
85. Siemsen D.W., Kirpotina L.N., Jutila M.A., Quinn M.T. Inhibition of the human neutrophil NADPH oxidase by *Coxiella burnetii*. *Microbes Infect.*, 2009, vol. 11, no. 6–7, pp. 671–679. doi: 10.1016/j.micinf.2009.04.005
86. Skultety L., Hajduch M., Floraz-Ramirez G., Miernyk J.A., Ciampor F., Toman R., Sekeyova Z. Proteomic comparison of virulent phase I and avirulent phase II of *Coxiella burnetii*, the causative agent of Q fever. *J. Proteomics*, 2011, vol. 74, no. 10, pp. 1971–1984. doi: 10.1016/j.jprot.2011.05.017
87. Stead C.M., Omsland A., Beare P.A., Sandoz K.M., Heinzen R.A. Sec-mediated secretion by *Coxiella burnetii*. *BMC Microbiol.*, 2013, vol. 13, p. 222. doi: 10.1186/1471-2180-13-222
88. Stein A., Raoult D. Lack of pathotype specific genes in human *Coxiella burnetii* isolates. *Microb. Pathol.*, 1993, vol. 15, no. 3, pp. 175–185.
89. Telepnev M.V., Klimpel G.R., Haithcoat J., Knirel Y.A., Anisimov A.P., Motin V.L. Tetraacylated lipopolysaccharide of *Yersinia pestis* can inhibit multiple Toll-like receptor-mediated signaling pathways in human dendritic cells. *J. Infect. Dis.*, 2009, vol. 200, no. 11, pp. 1694–1702. doi: 10.1086/647986
90. Tigertt W.D., Benenson A.S., Gochenour W.S., Airborne Q fever. *Bacteriol. Rev.*, 1961, vol. 25, pp. 285–293.
91. Toman R., Garidel P., Andra J., Slaba K., Hussein A., Koch M.H., Brandenburg K. Physicochemical characterization of the endotoxins from *Coxiella burnetii* strain Priscilla in relation to their bioactivities. *BMC Biochem.*, 2004, vol. 5:1. doi: 10.1186/1471-2091-5-1
92. Tse M.K., Cheung S.K., Ke Y.H., Lau C.C., Sze K.H., Yuen K.Y. Backbone and side-chain 1H, 13C and 15N assignments of the PPIase domain of macrophage infectivity potentiator (Mip) protein from *Coxiella burnetii*. *Biomol. NMR Assign.*, 2014, vol. 8, no. 1, pp. 173–176. doi: 10.1007/s12104-013-9477-3
93. Tujulin E., Macellaro A., Lilliehook B., Norlander L. Effect of endocytosis inhibitors on *Coxiella burnetii* interaction with host cells. *Acta Virol.*, 1998, vol. 42, no. 3, pp. 125–131.
94. Yang J., Kiu X., Bhalla K., Kim C.N., Ibrado A.M., Cai J., Peng T.I., Jones D.P., Wang X. Prevention of apoptosis by Bcl2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science*, 1997, vol. 275, no. 5303, pp. 1129–1132. doi: 10.1126/science.275.5303.1129
95. Youle R.J., Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2008, vol. 9, no. 1, pp. 47–59. doi: 10.1038/nrm2308
96. Vazquez C.L., Colombo M.I. *Coxiella burnetii* modulates Beclin 1 and Bcl2, preventing host cell apoptosis to generate a persistent bacterial infection. *Cell Death Differ.*, 2010, vol. 17, no. 3, pp. 421–438. doi: 10.1038/cdd.2009.129
97. Vila-del Sol V., Diaz-Munoz M.D., Fresno M. Requirement of tumor necrosis factor α and nuclear factor- κ B in the induction by IFN- γ of inducible nitric oxide synthase in macrophages. *J. Leukoc. Biol.*, 2007, vol. 81, no. 1, pp. 272–283. doi: 10.1189/jlb.0905529
98. Vincent C.D., Friedman J.R., Jeong K.C., Buford E.C., Miller J.L., Vogel J.P. Identification of the core transmembrane complex of the *Legionella* Dot/Icm type IV secretion system. *Mol. Microbiol.*, 2006, vol. 62, no. 5, pp. 1278–1291.
99. Vincent C.D., Friedman J.R., Jeong K.C., Sutherland M.C., Vogel J.P. Identification of the DotL coupling protein subcomplex of the *Legionella* Dot/Icm type IV secretion system. *Mol. Microbiol.*, 2012, vol. 85, no. 2, pp. 378–391. doi: 10.1111/j.1365-2958.2012.08118.x
100. Vishwanath S., Hackstadt T. Lipopolysaccharide phase variation determines the complement-mediated serum susceptibility of *Coxiella burnetii*. *Infect. Immun.*, 1988, vol. 56, no. 1, pp. 40–44.
101. Voth D.E., Howe D., Heinzen R.A. *Coxiella burnetii* inhibits apoptosis in human THP1 cells and monkey primary alveolar macrophages. *Infect. Immun.*, 2007, vol. 75, no. 9, pp. 4263–4271. doi: 10.1128/IAI.00594-07
102. Voth D.E., Heinzen R.A. *Coxiella* type IV secretion and cellular microbiology. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2009, vol. 12, no. 1, pp. 74–80. doi: 10.1016/j.mib.2008.11.005
103. Voth D.E., Heinzen R.A. Sustained activation of Akt and Erk1/2 is required for *Coxiella burnetii* antiapoptotic activity. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 1, pp. 205–213. doi: 10.1128/IAI.01124-08
104. Voth D.E., Howe D., Beare P.A., Vogel J.P., Unsworth N., Samuel J.E., Heinzen R.A. The *Coxiella burnetii* ankyrin repeat domain-containing protein family is heterogeneous, with C-terminal truncations that influence Dot/Icm-mediated secretion. *J. Bacteriol.*, 2009, vol. 191, no. 13, pp. 4232–4242. doi: 10.1128/JB.01656-08
105. Voth D.E., Beare P.A., Howe D., Sharma U.M., Samoilis G., Cockrell D.C., Omsland A., Heinzen R.A. The *Coxiella burnetii* cryptic plasmid is enriched in genes encoding type IV secretion system substrates. *J. Bacteriol.*, 2011, vol. 193, no. 7, pp. 1493–1503. doi: 10.1128/JB.01359-10
106. Weber M.M., Cen C., Rowin K., Mertens K., Galvan G., Zhi H., Dealing C.M., Roman V.A., Bange S., Tan Y.Q., Luo Z.E., Samuel J. Identification of *Coxiella burnetii* type IV secretion substrates required for intracellular replication and *Coxiella*-containing vacuole formation. *J. Bacteriol.*, 2013, vol. 195, no. 17, pp. 3914–3924. doi: 10.1128/JB.00071-13
107. Winchell C.G., Graham J.G., Kurten R.C., Voth D.E. *Coxiella burnetii* type IV secretion-dependent recruitment of macrophage autophagosomes. *Infect. Immun.*, 2014, vol. 82, no. 6, pp. 2229–2238. doi: 10.1128/IAI.01236-13
108. Zamboni D.S., McGrath S., Rabinovitch M., Roy C.R. *Coxiella burnetii* express type IV secretion system proteins that function similarly to components of the *Legionella pneumophila* Dot/Icm system. *Mol. Microbiol.*, 2003, vol. 49, no. 4, pp. 965–976. doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03626.x

109. Zamboni D.S., Rabinovitch M. Nitric oxide partially controls *Coxiella burnetii* phase II infection in mouse primary macrophages. *Infect. Immun.*, 2003, vol. 71, no. 3, pp. 1225–1233. doi: 10.1128/IAI.71.3.1225-1233.2003
110. Zamboni D.S., Campos M.A., Torrecilhas A.C., Kiss K., Samuel J.E., Golenbock D.T., Lauw F.N., Roy C.R., Almeida I.C., Gazinelli R.T. Stimulation of toll-like receptor 2 by *Coxiella burnetii* is required for macrophage production of pro-inflammatory cytokines and resistance to infection. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, no. 52, pp. 54405–54415. doi: 10.1074/jbc.M410340200
111. Zechner E.L., Lang S., Schildbach J.F. Assembly and mechanisms of bacterial type IV secretion machines. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.*, 2012, vol. 367, no. 1592, pp. 1073–1087. doi: 10.1098/rstb.2011.0207
112. Zhang Y., Zhang G., Hendrix L.R., Tesh V.L., Samuel J.E. *Coxiella burnetii* induces apoptosis during early stage infection via a caspase-independent pathway in human monocytic THP1 cells. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7, no. 1, pp. e30841. doi: 10.1371/journal.pone.0030841
113. Zusman T., Aloni G., Halperin E., Kotzer H., Degtyar E., Feldman M., Segal G. The response regulator PmrA is a major regulator of the icm/dot type IV secretion system in *Legionella pneumophila* and *Coxiella burnetii*. *Mol. Microbiol.*, 2007, vol. 63, no. 5, pp. 1508–1523. doi: 10.1111/j.1365-2958.2007.05604.x

Автор:

Панферова Ю.А., младший научный сотрудник лаборатории зооантропонозных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Поступила в редакцию 22.12.2015
Отправлена на доработку 09.02.2016
Принята к печати 15.02.2016

Author:

Panferova Yu.A., Junior Researcher, Laboratory of Zoonoses, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Received 22.12.2015
Revision received 09.02.2016
Accepted 15.02.2016

АКТУАЛЬНЫЕ ТРАНСМИССИВНЫЕ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫЕ ИНФЕКЦИИ КРЫМА

М.В. Горovenko, И.З. Каримов

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, г. Симферополь, Республика Крым

Резюме. Крымский полуостров расположен в северной части Черного моря, с востока омывается Азовским морем, с юга и запада — Черным. Географические и климатические условия Республики Крым способствовали формированию на её территории природных очагов лептоспироза, туляремии, клещевого вирусного энцефалита, болезни Лайма, кишечного иерсиниоза, псевдотуберкулеза, геморрагической лихорадки с почечным синдромом, Конго-Крымской геморрагической лихорадки, марсельской лихорадки, Ку-лихорадки и других инфекционных заболеваний. Первостепенное значение среди них, ввиду благоприятных эпидемиологических условий и на фоне неуклонного роста числа нападения клещей на людей, имеют именно трансмиссивные природно-очаговые инфекции. В эпизоотологии и эпидемиологии трансмиссивных природно-очаговых инфекций Крыма ведущую роль играют иксодовые клещи, которые встречаются в различных ландшафтно-климатических зонах, причем наибольшая их численность и видовое разнообразие отмечены в горно-предгорных, лесных и лесостепных районах. Всего в фауне иксодовых клещей Крымского полуострова описано около 30 видов. Определение видового состава клещей показывает, что более чем 50% случаев нападения на людей в Крыму в последние годы обусловлены клещами вида *Ixodes ricinus*, остальные — видами *Haemaphysalis punctata*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma marginatum*, *Dermacentor marginatus* и др. Отказ от обращения в лечебно-профилактические учреждения некоторых лиц, пострадавших от укусов, и возможность нападения на людей малозаметных преимагинальных фаз клещей не позволяют составить реальную картину частоты контактов населения с клещами, что усложняет прогнозирование эпидемической ситуации. В обзоре отражены имеющиеся сведения по распространенности клещевого вирусного энцефалита, болезни Лайма, марсельской и Конго-Крымской геморрагической лихорадки на территории Республики Крым; показаны современные тенденции и проявления эпидемического процесса данных нозологических форм. Результаты, полученные нами при анализе результатов наших исследований и данных литературы, показали, что условия глобализации приводят к увеличению частоты контактов населения с природными очагами, а одними из самых распространенных трансмиссивных природно-очаговых инфекций на территории полуострова являются болезнь Лайма и марсельская лихорадка, эпидемическая ситуация по которым остается нестабильной. Эпидемиологический анализ распространенности клещевого вирусного энцефалита и Конго-Крымской геморрагической лихорадки в Крыму выявил некоторое снижение активности природных очагов этих инфекций на современном этапе. Проблема трансмиссивных природно-очаговых инфекций в Республике Крым требует дальнейшего пристального изучения.

Ключевые слова: природно-очаговые инфекции, клещевой вирусный энцефалит, болезнь Лайма, марсельская лихорадка, Конго-Крымская геморрагическая лихорадка.

Адрес для переписки:

Горovenko Максим Вячеславович
295006, Республика Крым, г. Симферополь, б-р Ленина, 5/7,
Медицинская академия им. С.И. Георгиевского Крымского
федерального университета им. В.И. Вернадского.
Тел.: 8 978 774-02-99 (моб.).
E-mail: gorovenko_epid@mail.ru

Contacts:

Maxim V. Gorovenko
197376, Crimea, Simferopol, Lenin blv., 5/7,
Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Crimean Federal
University named after V.I. Vernadsky.
Phone: +7 978 774-02-99 (mobile).
E-mail: gorovenko_epid@mail.ru

Библиографическое описание:

Горovenko М.В., Каримов И.З. Актуальные трансмиссивные природно-очаговые инфекции Крыма // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 25–32. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-25-32

Citation:

Gorovenko M.V., Karimov I.Z. Actual tick-borne infections in Crimea // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 25–32. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-25-32

ACTUAL TICK-BORNE INFECTIONS IN CRIMEA

Gorovenko M.V., Karimov I.Z.

Medical Academy named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Crimea

Abstract. The Crimean Peninsula is located in the Northern part of the Black sea, from the East it is washed by the Sea of Azov, to the South and West by the Black Sea. The unique geographical and climatic conditions facilitate leptospirosis, tularemia, tick-borne encephalitis, Lyme disease, intestinal yersiniosis, pseudotuberculosis, hemorrhagic fever with renal syndrome, Crimean-Congo hemorrhagic fever, Mediterranean fever, Q-fever and other infectious diseases natural foci formation on the territory of Crimea Republic. Tick-borne natural focal infections have the most significance due to favorable epidemiologic conditions especially on the background of high raid ticks attacks on people. A leading role in the epizootology and epidemiology of tick-borne natural-focal infections of the Crimea are playing Ixodidae that occur in different landscape-climatic zones, with the greatest their species diversity is observed in mountain-foothill, forest and forest-steppe regions. There are about 30 species in Ixodidae fauna of the Crimean Peninsula. Ticks species composition identification shows that over 50% of people attacks episodes in the Crimea on recent years is caused by *Ixodes ricinus* ticks species, the remaining are associated with *Haemaphysalis punctata*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma marginatum*, *Dermacentor marginatus* and other. Refusal of treatment in medical institutions of the people affected by tick bites, and the possibility of an attack on people subtle phases of mites are lubricates the real picture of the frequency of contacts of the population with ticks and complicates the forecasting of the epidemiological situation. This review summarizes the available information about spreading of tick-borne encephalitis, Lyme disease, Mediterranean and Crimean-Congo haemorrhagic fevers on the territory of Crimea Republic and demonstrates the modern trends and manifestations of epidemic process of these nosological forms. The results obtained in the analysis of our investigations and literature data, showed that the conditions of globalization lead to an increase in the frequency of contacts of the population with natural foci, and one of the most common tick-borne natural focal infections on the territory of the Peninsula are Lyme disease and the Mediterranean fever. Epidemiological analysis of the prevalence of tick-borne encephalitis and Crimean-Congo haemorrhagic fever in Crimea revealed a decrease in the activity of natural foci of these infections at the present stage. The problem of tick-borne natural focal infections in Crimea Republic requires further careful study.

Key words: natural focal infections, tick-borne encephalitis, Lyme disease, Mediterranean fever, Crimean-Congo hemorrhagic fever.

Крымский полуостров расположен в северной части Черного моря, с востока омывается Азовским морем, с юга и запада — Черным. Приморское положение Крыма, разнообразие природно-климатических условий — от умеренно-континентального климата в северной части до субтропического на южном берегу, многообразие ландшафтов способствовали формированию на территории полуострова богатой по видовому составу флоры и фауны [28].

Абсолютное большинство видов крымской териофауны является естественным резервуаром возбудителей многих природно-очаговых инфекций. Млекопитающие конкретной экосистемы вместе с возбудителями инфекций и комплексом их эктопаразитов, нередко являющихся переносчиками, составляют единую природно-очаговую экосистему [10]. Так, на территории Крыма сформировались и функционируют природные очаги лептоспироза, туляремии, клещевого вирусного энцефалита, болезни Лайма, кишечного иерсиниоза, псевдотуберкулеза, геморрагической лихорадки с почечным синдромом, Конго-Крымской геморрагической лихорадки, марсельской лихорадки, Ку-лихорадки, бешенства и др. [28]. Неуклонная урбанизация населения, рост числа дачных поселков и садовых товариществ, расширение и рост рекреационных нагрузок увеличивают количество контактов населения с природными очагами и, соответственно, создают благопри-

ятные эпидемиологические условия для распространения природно-очаговых инфекционных заболеваний [21, 32, 35].

Ведущую роль в эпизоотологии и эпидемиологии трансмиссивных природно-очаговых инфекций Крыма играют иксодиды или иксодовые клещи, относящиеся к группе паразитиформных клещей. Последние, как известно, распространены повсеместно и включают в себя свыше 12 тыс. видов [26]. Значительный рост численности иксодовых клещей, наблюдающийся с начала 90-х гг., невозможность полного прекращения циркуляции возбудителей в подобных природных очагах делают проблему переносимых иксодидами природно-очаговых инфекций актуальной [7]. В фауне иксодовых клещей Крымского полуострова описано около 30 видов, они встречаются в различных ландшафтно-климатических зонах, причем наибольшая их численность и видовое разнообразие отмечены в горно-предгорных, лесных и лесостепных районах.

Нападение клещей на людей в Крыму происходит практически круглый год при посещении лесов и лесопарковых территорий, а интенсивность нападений меняется в зависимости от сезона и климатических условий местности. В целом наибольшее количество нападений приходится на апрель—июнь (более 70%), что связано с максимальной активностью в этот период [8].

Согласно официальным данным Роспотребнадзора, частота контактов населения РФ с клещами находится на относительно стабильном уровне. В среднем ежегодно в лечебно-профилактические учреждения по поводу нападения клещей обращаются около 550 тыс. человек [17]. Подобная ситуация наблюдается и в Крыму. Так в 2014 г. обратилось 1721 человек, что на 19% выше показателя 2013 г. Абсолютное большинство случаев укусов людей в Крыму (официально регистрируемых в Межрегиональном управлении Роспотребнадзора по Республике Крым и г. Севастополю) пришлось на предгорную и горно-лесную зоны: на Симферопольский район — 24%, Симферополь — 19%, Ялту — 10%, Алушту — 7% и Белогорский район — 7% от всех укушенных. Однако учитывая, что часть пострадавших лиц не обращается в лечебно-профилактические учреждения, а некоторые просто не замечают укусов клещей (особенно малозаметными преимагинальными фазами), в действительности количество пострадавших намного больше. Поэтому данные статистики в полной мере не отражают реальной картины, создавая иллюзию благополучия. Кроме того, стоит отметить, что клещи *I. ricinus* нападают на человека во всех активных фазах развития, а преимущественно летняя активность нимф и личинок удлиняет эпидемически опасный период и увеличивает возможность заражения трансмиссивными природно-очаговыми инфекциями [27].

Определение видового состава клещей на основании исследования 1442 экземпляров в 2013 г. и 1005 — в 2014 г. показывает, что более чем 50% случаев нападений на людей в Крыму обусловлено клещами вида *Ixodes ricinus*, остальные — видами *Haemaphysalis punctata*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma marginatum*, *Dermacentor marginatus* и др. (рис.).

Актуальными для Республики Крым, как и для Российской Федерации (РФ) [7, 30], на сегодняшний день являются такие инфекции, переносимые клещами, как клещевой вирусный энцефалит (КВЭ), болезнь Лайма (БЛ), марсельская лихорадка (МЛ) и Конго-Крымская геморрагическая лихорадка (ККГЛ).

Клещевой вирусный энцефалит

Как известно, ареал КВЭ представляет собой практически непрерывную полосу по южной части лесной зоны внетропической Евразии — от Атлантического до Тихого океана [16]. Несмотря на начавшийся в 2000 г. спад заболеваемости КВЭ в РФ, обусловленный как цикличностью эпидемического процесса данной инфекции, так и процессами урбанизации, эпидемическая ситуация остается напряженной. Так, уровень инцидентности в 2013 г. составил 1,56 на 100 тыс. населения, что на 17,9% ниже показателя 2012 г. Средний интенсивный показатель за 2004–2007 гг. составлял 2,7 случаев на 100 тыс. населения, за 2008–2011 гг. — 2,0 [22, 24].

Первый серологически подтвержденный случай КВЭ официально зарегистрирован в Крыму в 1980 г. у жителя Белогорского района с многоволновой лихорадкой. С этого периода началось активное выявление больных, выделение возбудителя КВЭ из клещей и животных, изучение напряженности иммунитета к вирусу у жителей и констатирован факт существования на территории Крымского полуострова природных очагов данной инфекции [9].

Изучение иммунной прослойки населения к возбудителю КВЭ, проведенное в 1987–1989 гг. при обследовании 8875 образцов сывороток крови здорового населения степной, предгорной и горной зон Крыма на наличие специфических антител, позволило обозначить наличие более активной циркуляции вируса в лесной части горной зоны по сравнению с другими (число сероположительных находок составляло от 19,4 до 25,8%) [19]. Данные исследования подтверждаются и выделением штаммов вирусов из клещей в административных районах горно-лесной зоны Крыма [9]. Таким образом, наиболее активный очаг КВЭ в Республике Крым занимает практически всю горно-лесную зону — начиная с запада от окрестностей Севастополя и заканчивая на востоке окрестностями Феодосии.

Основными источниками инфекции и резервуаром возбудителя КВЭ в Крыму являются в основном фоновые мелкие млекопитающие: малая

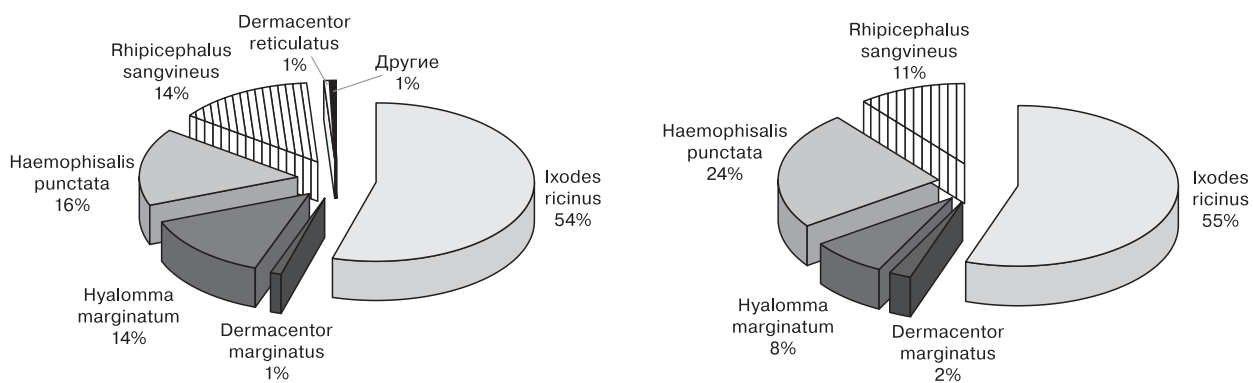


Рисунок. Видовой состав клещей, нападавших на людей в Крыму, за 2013 (слева) и 2014 (справа) годы

и желтогорлая мыши, обыкновенная полевка и малая белозубка. Основным переносчиком КВЭ являются клещи *I. ricinus*, имеются убедительные доказательства роли клещей *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor marginatus* и *Hyalomma marginatum* в качестве переносчиков [9].

Уровень заболеваемости КВЭ обусловлен, во-первых, вирусофорностью клещей и, соответственно, интенсивностью эпизоотического процесса, во-вторых, — частотой контактов населения с природными очагами [9, 16, 17]. Заболеваемость КВЭ в Республике Крым имеет спорадический характер и тенденцию, схожую с таковой в РФ. Так, если с 1955 по 2014 гг. в Республике Крым было зарегистрировано 265 случаев КВЭ, то с 2002 по 2014 гг. — 42 случая. При этом в 2013 г. зарегистрирован 1 случай КВЭ (0,05 на 100 тыс. населения), в 2014 г. случаев заболеваний не регистрировалось. Подобная динамика эпидемического процесса в Крыму подтверждается отсутствием выявления циркуляции возбудителя КВЭ в 2014 г. (методом ПЦР) у 765 экземпляров иксодовых клещей (11 видов) и 178 экземпляров мышевидных грызунов (11 видов) [31], что косвенно свидетельствует о низкой активности природных очагов в настоящее время.

Наибольший уровень инцидентности чаще всего приходился на теплый период года, совпадающий с периодом активности иксодид. Первые случаи заболевания отмечали с конца апреля до начала мая с пиком заболеваемости в июне — начале июля, последние — с октября по ноябрь.

Группой риска заражения КВЭ по-прежнему являются лица, профессионально связанные с лесом (11,9%) или часто выезжающие в лес для отдыха и сбора грибов (84,9%).

Таким образом, в Крыму имеются природные очаги КВЭ, занимающие практически всю горно-лесную зону и совпадающие с ареалом распространения основного переносчика — клещей *I. ricinus*. В последнее время имеет место снижение активности природных очагов КВЭ на полуострове.

Болезнь Лайма

Болезнь Лайма считается самым распространенным в Европе трансмиссивным заболеванием, от которого за последние 20 лет пострадало более 360 тыс. человек [6]. Несмотря на снижение заболеваемости БЛ в РФ за последние годы (17% в 2012 г. и 31,2% — в 2013 г.), она продолжает играть доминирующую роль среди других природно-очаговых инфекций [17, 18, 24, 25].

Ареал распространения БЛ в Крыму практически идентичен таковому при КВЭ, причем горно-лесная и предгорная лесостепные области (Ялта, Алушта, Судак, Бахчисарайский, Симферопольский и Белогорский районы) яв-

ляются зоной высокого риска, где уровень инцидентности может достигать 7,72 на 100 тыс. населения [3].

Официальная регистрация случаев БЛ в Республике Крым осуществляется с 2000 г. и, по нашим ранее опубликованным данным, уже с этого периода отмечается ежегодный рост числа случаев заболевания [15]. Так, за период 2000–2014 гг. в Крыму зарегистрировано 204 случая БЛ, причем если заболеваемость за 2000–2009 гг. составляла в среднем $0,32 \pm 0,42$, то за 2010–2014 гг. — $1,44 \pm 0,41$ на 100 тыс. населения. Такие показатели, безусловно, можно объяснить улучшением за последнее десятилетие лабораторной диагностики БЛ на полуострове. Однако полиморфизм клинических проявлений, наличие безэритемных форм БЛ и склонность к хронизации инфекционного процесса наводят на мысль, что такая эпидемическая ситуация — только видимая часть проблемы. Этот факт, кроме того, подтверждается исследованиями 1986–2009 гг., при которых установлено, что более 17% переносчиков инфицировано боррелиями, а около 8,5% здоровых лиц имеют специфические антитела к боррелиям [4]. По итогам 2014 г. зарегистрировано 24 случая БЛ (1,2 на 100 тыс. населения), что в 1,7 раза ниже уровня 2013 г. (42 случая, 2,15 на 100 тыс. населения). Как и в 2013 г. [15], наиболее часто в 2014 г. больные выявлялись в городах Симферополь (50%) и Ялта (33,3%).

Следует также отметить, что современными характерными чертами эпидемического процесса БЛ на полуострове являются: рост заболеваемости среди городского населения и в антропоургических очагах, поражение лиц работоспособного возраста (в основном женщин).

Сезонность БЛ, как и КВЭ, определяется периодом активности основного переносчика — иксодовых клещей *I. ricinus*, поэтому заболеваемость может регистрироваться на протяжении всего года с пиками в июне-июле и октябре-ноябре.

Эпизоотологический мониторинг возбудителя БЛ в 2014 г. в Бахчисарайском, Белогорском, Ленинском, Сакском, Симферопольском, Судакском, Феодосийском, Черноморском, Нижнегорском, Советском, Красногвардейском, Джанкойском, Кировском и Красноперекском районах, городах Керчь, Алушта, Феодосия и Судак методом ПЦР показал, что рРНК *B. burgdorferi* обнаружена у 4 видов клещей (*I. ricinus*, *I. redikorzevi*, *H. punctata*, *D. marginatus*) и 3 видов грызунов (желтогорлая и степная мыши, серый хомячок). При этом максимальное количество положительных проб выявлено в Симферопольском (53,1%) и Бахчисарайском (24,5%) районах [31].

Таким образом, ареал распространения и основные эпидемиологические особенности БЛ являются сходными с КВЭ, что в первую очередь связано с одним и тем же переносчиком, а также с наличием в природных очагах микст-

инфицированных иксодовых клещей [1, 13, 17]. Кроме того, тенденция последнего десятилетия к росту заболеваемости БЛ при одновременном спаде заболеваемости КВЭ может косвенно подтверждать факт наличия конкурентных, антагонистических взаимоотношений двух возбудителей в пользу боррелий в переносчике [1, 13], и, видимо, также в организме млекопитающих.

Марсельская лихорадка

Природные очаги МЛ расположены в субтропических прибрежных районах Средиземного, Черного и Каспийского морей. Первые больные в Крыму выявлены в 30-х гг. в Севастополе А.Я. Алымовым [2, 5, 14, 28]. В настоящее время МЛ регистрируется в большинстве приморских населенных пунктов — городах Евпатория, Алушта, Ялта, Судак, Феодосия, Керчь и Севастополь; случаи болезни отмечаются в Сакском, Черноморском, Симферопольском, Ленинском, Бахчисарайском и других районах.

Главное значение в эпидемиологии и поддержании очаговости МЛ имеют клещи *Rhipicephalus sanguineus*, паразитирующие на собаках, а в некоторых случаях (до 9%) — кошках, козах и коровах [5, 14]. Изучение их распространенности за 1986–2003 гг. с использованием геоинформационных технологий показало, что они обнаруживаются на всей территории Крыма, но имеет место формирование очагов повышенной концентрации в основном на Южном берегу, в Сакском районе, Евпатории и на Керченском полуострове. Сопоставление показателей численности клещей *R. sanguineus* и заболеваемости МЛ позволило выявить прямо пропорциональную зависимость [11]. С целью определения зараженности собачьих клещей *R. conorii*, за период с 1996 по 2008 гг. методом ПЦР исследовано 30 328 клещей. Геном возбудителя выявлен в 21% случаев. Помимо этого, установлен факт несоответствия процента положительных проб по районам уровню заболеваемости МЛ. Так, за 1999–2002 гг. в Ялте количество положительных результатов составило 50%, средняя заболеваемость МЛ — 2,4 на 100 тыс. населения; аналогичные показатели по Черноморскому району — 54,5% и 58,2 на 100 тыс. населения. Возможно, это связано с биологическими особенностями *R. conorii*, как считают Малый К.Д. и др. Учитывая, что такая тенденция ярко прослеживается именно в тех районах, которые соответствуют ареалу распространения *I. ricinus* (Ялта, Судак), можно предположить и некоторые особенности межвидового взаимодействия клещей. Кроме того, эти данные могут свидетельствовать о значительной иммунной прослойке населения в данных регионах, к тому же в эндемичных районах мира удельный вес серопозитивных достигает 20% среди клинически здоровых лиц [34].

До 90-х гг. благодаря проводимым профилактическим мероприятиям регистрировались спорадические случаи заболевания МЛ. Начиная с 1992 г., наблюдалась активация старых и возникновение новых очагов болезни в Крыму, что было в первую очередь связано с резким увеличением числа пораженных клещами собак [12, 14]. Так, в 1996 г. зарегистрирован и лабораторно подтвержден 31 случай заболевания людей марсельской лихорадкой, в 1997 г. — 74, в 1998 г. — 30, в 1999 г. — 64, в 2000 г. — 90, в 2001 г. — 65, а в 2002 г. — 57 случаев [28]. С 2001 г. наблюдалось постепенное снижение заболеваемости МЛ в Крыму — с 3,1 до 0,1 на 100 тыс. населения в 2007 г. В 2014 г. зарегистрировано 14 случаев МЛ (0,5 на 100 тыс. населения), что на 2 случая больше по сравнению с 2013 г.: 5 больных выявлено в Севастополе, 3 — в Евпатории, по 2 — в Симферополе и Феодосии, по 1 — в Судак и Керчи.

Максимум заболеваемости людей МЛ на полуострове приходится на май–сентябрь с пиком в июле–августе, что связано с максимальной активностью *R. sanguineus*, в частности, с максимумом численности его нимфальной стадии, и высокими индексами пораженности собак.

Следовательно, эпидемическая ситуация по МЛ в Республике Крым продолжает оставаться нестабильной, главным образом ввиду обилия популяций носителей и переносчиков.

Конго-Крымская геморрагическая лихорадка

В настоящее время ККГЛ распространена в Средней и Юго-Восточной Азии, Юго-Восточной и Центральной Европе, а также во многих странах Африканского континента.

Впервые ККГЛ как отдельная нозологическая форма описана в 1944 г. на территории Республики Крым у лиц, принимавших участие в уборке сена. В том же году М.П. Чумаковым установлена вирусная этиология данной болезни [29] и практически до 1969 г. в Крыму отмечалась лишь спорадическая заболеваемость. Случаи заболевания людей с похожей на ККГЛ симптоматикой за последние 20 лет не регистрировались.

Основными переносчиками ККГЛ на полуострове являются пастбищные клещи — *Hyalomma marginatum*, *Dermacentor marginatus*, *Haemaphysalis punctata* и *Ixodes ricinus*, спонтанная инфицированность которых в Крыму установлена в 1986–1987 гг. при исследовании 8642 экземпляров иксодовых клещей 9-ти видов методами биопробы на мышах, МФА и ИФА [20]. Тогда же подтверждена роль *H. marginatum* в трансвариальной передаче вируса ККГЛ.

Немаловажным оказалось установление эпидемиологического значения в циркуляции вируса ККГЛ прокормителей преимагинальных форм иксодид — зайцев-русаков в степной и мышевидных

грызунов (малая белозубка, обыкновенная полевка и лесная мышь) в предгорной зоне [20]. Последние данные эпизоотологического мониторинга возбудителя ККГЛ на территории Черноморского, Бахчисарайского, Белогорского, Ленинского, Сакского, Симферопольского, Судакского и Феодосийского районов при исследовании методом ПЦР 640 экземпляров иксодовых клещей (*H. erinacei*, *H. punctata*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *H. marginatum*, *I. redikorzevi*, *I. ricinus*, *R. bursa*, *R. rossicus*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*) и 234 экземпляров мелких млекопитающих, принадлежащих к 11 видам, показали отрицательные результаты [31].

При исследовании иммунной прослойки населения эндемичных регионов полуострова к ККГЛ, выявлены низкие показатели и неравномерность распределения положительных находок в зависимости от ландшафтно-географической зоны (от 0,4% в степной до 0,8% в предгорной лесостепной зонах) [20].

Сложившаяся эпидемическая ситуация по ККГЛ в Республике Крым позволяет предположить низкую активность природного очага данной инфекции. Однако, учитывая возможность доминирования легких форм болезни без выраженного геморрагического синдрома и недостаточную лабораторную базу, ставить точку в этом вопросе пока рано. К тому же следует обратить внимание на случай ККГЛ в 2014 г. у жительницы Воронежской области, которая заболела, как оказалось, после пребывания в Крыму [23].

С учетом вышеизложенного, понятна актуальность проблемы, а главное — что явление природной очаговости является широко распространенным как в мире [33], так и в Республике Крым. При этом значительный интерес

для полуострова ввиду сложившихся природных условий представляют инфекции, живыми факторами передачи которых являются клещи: болезнь Лайма, клещевой вирусный энцефалит, марсельская и Конго-Крымская геморрагическая лихорадка.

Анализ результатов наших исследований и данных литературы свидетельствуют о следующем:

1. условия глобализации приводят к увеличению частоты контактов населения с природными очагами, в том числе и клещами, что способствует росту уровня инцидентности данными нозологическими формами;
2. болезнь Лайма и марсельская лихорадка на территории Республики Крым — одни из самых распространенных трансмиссивных природно-очаговых инфекций, эпидемическая ситуация по ним остается нестабильной;
3. наблюдается некоторое снижение активности природных очагов клещевого вирусного энцефалита и Конго-Крымской геморрагической лихорадки в Крыму на современном этапе.

В заключении отдельно следует отметить, что проблема трансмиссивных природно-очаговых инфекций в Крыму, являющемся курортным регионом Российской Федерации, сквозь призму имеющихся на сегодня данных и недостаточного объема исследований в этой области требует дальнейшего пристального изучения с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия не только жителей полуострова, но и отдыхающих.

Список литературы/References

1. Алексеев А.Н., Буренкова Л.А., Васильева И.С., Дубинина Е.В., Чунихин С.П. Функционирование очагов смешанных клещевых инфекций на территории России // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1996. № 4. С. 9–16. [Alekseev A.T., Burenkova L.A., Vasilyeva I.S., Dubinina E.V., Tchunichin S.P. The functioning of the foci of mixed tick-borne infections in Russia. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni = Medical Parasitology and Parasitic Diseases*, 1996, no. 4, pp. 9–16. (In Russ.)]
2. Алымов А.Я. Марсельская лихорадка // Советская медицина. 1939. № 13. С. 30–33. [Alymov A.J. Marsellies fever. *Sovetskaya meditsina = Soviet Medicine*, 1939, no. 13, pp. 30–33. (In Russ.)]
3. Бацюра Г.В. Вивчення імунного прошарку населення Криму щодо Лайм-бореліозу // Таврический медико-биологический вестник. 2011. Т. 14, № 1 (53). С. 15–17. [Batsyura G.V. Study of immunity of population to Lyme-borreliosis in Crimea. *Tavrisheskii Mediko-Biologicheskii Vestnik = Taurian Medical and Biology Journal*, 2011, vol. 14, no. 1 (53), pp. 15–17. (In Russ.)]
4. Бацюра Г.В., Федорченко С.В., Пеньковська Н.О. Районування території Криму за ступенем епідеміологічного ризику щодо Лайм-бореліозу // Профілактична медицина. 2011. Т. 1, № 13. С. 18–22. [Batsyura G.V., Fedorchenko S.V., Pen'kovskaya N.A. Crimea districting based on epidemiological risk of being infected with Lyme-borreliosis. *Profilaktichna Meditsina = Preventive Medicine*, 2011, vol. 1, no. 13, pp. 18–22. (In Russ.)]
5. Вербенец Е.А. Сравнительная характеристика клинико-эпидемиологических проявлений марсельской лихорадки на разных временных этапах // Таврический медико-биологический вестник. 2009. Т. 12, № 4 (48). С. 23–26. [Verbenets E.A. Comparativ characteristic clinical epidemiological phenomena Marsellies fever at different time spans. *Tavrisheskii Mediko-Biologicheskii Vestnik = Taurian Medical and Biology Journal*, 2009, vol. 12, no. 4 (48), pp. 23–26. (In Russ.)]
6. Всемирный день здоровья 2014 г.: трансмиссивные болезни [World Health Day 2014: vector-borne diseases]. URL: <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2014/key-messages/ru> (дата обращения: 30.06.2015).
7. Голубкова А.А., Дорогина Ю.В., Корначев А.С. Характеристика эпидемического процесса клещевого энцефалита и клещевых боррелиозов в сочетании на территории мегаполиса. Пути инфицирования // Медицинский

- альманах. 2012. Т. 3, № 22. С. 100–103. [Golubkova A.A., Dorogina Yu.V., Kornachev A.S. The characteristic of epidemic process of tick-borne encephalitis and tick-borne borrelioses in a multifocus on the territory of metropolis. The ways of contamination. *Meditinskii Almanakh = Medical Almanac*, 2012, vol. 3, no. 22, pp. 100–103. (In Russ.)]
8. Евстафьев И.Л. Иксодиды в Крыму: медико-экологические проблемы // СЕС Профілактична медицина. 2008. № 4. С. 84–87. [Evstafiev I.L. Ixodids in Crimea: medical and ecological problems. *SES Profilaktichna Meditsina = SES Preventive Medicine*, 2008, no. 4, pp. 84–87. (In Russ.)]
 9. Евстафьев И.Л. Итоги 20-летнего изучения клещевого энцефалита в Крыму // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2001. № 2. С. 111–114. [Evstafiev I.L. Results 20-year study of tick-borne encephalitis in Crimea. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Epidemiology, Microbiology and Immunobiology*, 2001, no. 2, pp. 111–114. (In Russ.)]
 10. Евстафьев И., Товпинец Н., Леженцев Б., Альянаки Л., Овдиенко Н., Костенко А., Леженцев В. Териофауна и природно-очаговые инфекции в Крыму // Праці Теріологічної Школи. 2006. Т. 8. С. 157–159. [Evstafiev I., Tovpinets N., Lezhentsev B., Alyanaki L., Ovdienko N., Kostenko A., Lezhentsev V. Fauna of mammals and naturally-hearths infections in Crimea. *Pratsi teriologichnoi shkoli = Proceedings of Theriological School*, 2006, vol. 8, pp. 157–159. (In Russ.)]
 11. Евстафьев И.Л., Пышкин В.Б., Евстафьев А.И., Товпинец Н.Н. Электронные базы данных и геоинформационные технологии в экологических и медико-биологических исследованиях // Культура народов Причерноморья. 2005. № 61. С. 7–10. [Evstafiev I.L., Pyshkin V.B., Evstafiev A.I., Tovpinets N.N. Electronic databases and GIS technology in environmental and biomedical research. *Kul'tura Narodov Prichernomor'ya = Culture of the Peoples of the Black Sea*, 2005, no. 61, pp. 7–10. (In Russ.)]
 12. Евстафьев И.Л., Товпинец Н.Н. Rhipicephalus sanguineus (Ixodidae) в Крыму: экологические и эпизоотологические аспекты // Вестник зоологии. 2002. Т. 36, № 4. С. 85–91. [Evstafiev I.L., Tovpinets N.N. Rhipicephalus sanguineus (Ixodidae) in Crimea: ecological and epizootological aspects. *Vestnik Zoologii = Herald of Zoology*, 2002, vol. 36, no. 4, pp. 85–91. (In Russ.)]
 13. Евстафьев И.Л. Хвороба Лайма – эпизоотологічний аспект // Інфекційні хвороби. 2002. № 4. С. 73–76. [Evstafiev I.L. Lyme disease – epizootological aspect. *Infektsiini khvorobi = Infectious Diseases*, 2002, no. 4, pp. 73–76. (In Russ.)]
 14. Каримов И.З. Клинико-эпидемиологические особенности марсельской лихорадки // Сучасні інфекції. 2008. № 2. С. 79–84. [Karimov I.Z. Clinical and epidemiological features of Marsellies fever. *Suchasni Infektsii = Modern Infection*, 2008, no. 2, pp. 79–84. (In Russ.)]
 15. Каримов И.З., Пеньковская Н.А., Горovenko М.В., Мидикари А.С. Эпидемиологические особенности болезни Лайма в Республике Крым в 2013 г. // Практическая медицина. 2014. Т. 7, № 83. С. 109–112. [Karimov I.Z., Penkovskaya N.A., Gorovenko M.V., Midikari A.S. Epidemiological features of Lyme disease in the Republic of Crimea in 2013. *Prakticheskaya Meditsina = Practical Medicine*, 2014, vol. 7, no. 83, pp. 109–112. (In Russ.)]
 16. Коренберг Э.И. Заболеваемость клещевым энцефалитом и иксодовыми клещевыми боррелиозами (инфекции группы болезни Лайма) // РЭТ-инфо. 1999. № 1. С. 12–13. [Korenberg E.I. Incidence of tick-borne encephalitis and Ixodid tick-borne borrelioses (Lyme disease infection group). *RET-info = RET-INFO*, 1999, no. 1, pp. 12–13. (In Russ.)]
 17. Коренберг Э.И. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в лесной зоне, и стратегия их профилактики: изменения приоритетов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013. Т. 5, № 72. С. 7–17. [Korenberg E.I. Infections transmitted by ticks in the forest area and the strategy of prevention: changing of priorities. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2013, vol. 5, no. 72, pp. 7–17. (In Russ.)]
 18. Коренберг Э.И., Горелова Н.Б., Ковалевский Ю.В. Основные черты природной очаговости клещевых боррелиозов в России // Паразитология. 2002. Т. 36, № 3. С. 177–191. [Korenberg E.I., Gorelova N.B., Kovalevskii Yu.V. Main features of natural foci of ixodid tick-borne borrelioses in Russia. *Parazitologiya = Parasitology*, 2002, vol. 36, no. 3, pp. 177–191. (In Russ.)]
 19. Маркешин С.Я., Караванов А.С., Ковин В.В., Захарова Т.Ф., Евстратов Ю.В., Бычкова М.В., Евстафьев И.Л. Иммуноный статус населения Крыма к вирусу клещевого энцефалита // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1991. № 10. С. 28–31. [Markeshin S.Ya., Karavanov A.S., Kovin V.V., Zakharova T.F., Evstratov Yu.V., Bychkova M.V., Evstafiev I.L. Immune status of the Crimean population with respect to tick-borne encephalitis virus. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Epidemiology, Microbiology and Immunobiology*, 1991, no. 10, pp. 28–31. (In Russ.)]
 20. Маркешин С.Я., Смирнова С.Е., Евстафьев И.Л. Оценка состояния природных очагов Крымской-Конго геморрагической лихорадки в Крыму // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1991. № 9. С. 47–50. [Markeshin S.Ya., Smirnova S.E., Evstafiev I.L. Natural foci of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in the Crimea. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Epidemiology, Microbiology and Immunobiology*, 1991, no. 9, pp. 47–50. (In Russ.)]
 21. Наумов Р.Л. Стратегия и тактика профилактики клещевого энцефалита и болезни Лайма в современных условиях // РЭТ-инфо. 2001. Т. 1, № 37. С. 17–20. [Naumov R.L. Strategy and tactics of preventing tick-borne encephalitis and Lyme disease in modern conditions. *RET-info = RET-INFO*, 2001, vol. 1, no. 37, pp. 17–20. (In Russ.)]
 22. Носков А.К., Никитин А.Я., Пакскина Н.Д., Сидорова Е.А., Чеснокова М.В., Андаев Е.И. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации (2009–2011 гг.) и прогноз на 2012 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2012. Т. 1, № 111. С. 30–33. [Noskov A.K., Nikitin A.Ya., Pakschina N.D., Sidorova E.A., Chesnokova M.V., Andaev E.I. Epidemiological situation on the tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2009–2011 and prognosis for 2012. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2012, vol. 1, no. 111, pp. 30–33. (In Russ.)]
 23. О ситуации по клещевому вирусному энцефалиту и другим заболеваниям, передающимся при укусе клещами, в Российской Федерации: Государственный доклад Управления Роспотребнадзора [On the situation on tickborne viral encephalitis and other diseases transmitted by the bite of ticks in the Russian Federation: State report]. URL: http://rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=3707 (дата обращения: 22.07.2015).
 24. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 году: Государственный доклад Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека за 2014. 191 с. [On the state sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2013: State report]. 2014. 191 p.]. URL: http://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya-sayta.pdf (дата обращения: 24.06.2014).

25. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2012 году: Государственный доклад Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2013. 94 с. [On the state sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2012: State report]. 2013, 94 p.]. URL: http://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/7cd/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2012-godu.pdf (дата обращения: 28.01.2013).
26. Рупперт Э.Э., Фокс Р.С., Барнс Р.Д. Зоология беспозвоночных: функциональные и эволюционные аспекты. Т. 3. Членистоногие. М.: Издательский центр «Академия», 2008. 496 с. [Ruppert E.E., Fox R.S., Barnes R.D., *Zoologiya bespozvonochnykh: funktsional'nye i evolyutsionnye aspekty. T. 3. Chlenistonogie* [Invertebrate zoology: functional and evolutionary aspects. Vol. 3: Arthropods]. Moscow: Publishing Center «Academy», 2008, 496 p. (In Russ.)]
27. Савицкий Б.П., Цвирко Л.С. О нападении личинок, нимф и имаго *Ixodes ricinus* L. на человека // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1985. № 1. С. 43. [Savitsky B.P., Tsvirko L.S. About *Ixodes ricinus* L. maggots, nymphs and imagoes attack on human. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni = Medical Parasitology and Parasitic Diseases*, 1985, no. 1, p. 43. (In Russ.)]
28. Товпинец Н.Н., Евстафьев И.Л. Природная очаговость зоонозных инфекций в Крыму: эпизоотологический и эпидемиологический аспекты // Вопросы развития Крыма. Симферополь, 2003. Вып. 15. С. 94–104. [Tovpinets N.N., Evstafiev I.L. *Prirodnaya ochagovost' zoonoznykh infektsii v Krymu: epizootologicheskii i epidemiologicheskii aspekty* [The natural centers of zoonotic infections in Crimea: epizootological and epidemiological aspects]. *Issues of Development of Crimea, Simferopol*, 2003, vol. 15, pp. 94–104. (In Russ.)]
29. Чумаков М.П. Крымская геморрагическая лихорадка (острый инфекционный капилляротоксикоз). Изд. Отдельной Приморской армии, 1945. С. 13–43. [Chumakov M.P. *Krymskaya gemorragicheskaya likhoradka (ostriy infektsionnyi kapillyarotoksikoz)* [Crimean hemorrhagic fever (acute infectious purpura nervosa)]. Publishing House of Separate Maritime Army, 1945, pp. 13–43. (In Russ.)]
30. Шестопалов Н.В., Шашина Н.И., Германт О.М., Пакскина Н.Д., Чернявская О.П., Царенко В.А., Осипова Н.З., Веригина Е.В. О неспецифической профилактике клещевого вирусного энцефалита, иксодовых клещевых боррелиозов, крымской геморрагической лихорадки и других инфекций, возбудителей которых передают иксодовые клещи (по состоянию на 01.01.2014) // Медицинский алфавит. 2014. Т. 4, № 1 (Эпидемиология и гигиена). С. 57–64. [Shestopalov N.V., Shashina N.I., Germant O.M., Pakschina N.D., Chernyavskaja O.P., Carenko V.A., Osipova N.Z., Verigina E.V. Non-specific prevention of tick-borne encephalitis virus, Lyme disease, Crimean-Congo hemorrhagic fever and other infections that ixodic ticks transmit (as at 01.01.2014). *Meditsinskii alfavit = Medical Alphabet*, 2014, vol. 4, no. 1 (Epidemiologiya i gigiena = Epidemiology and Hygiene), pp. 57–64. (In Russ.)]
31. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням в Южном, Северо-Кавказском и Крымском федеральных округах в 2014 г.: аналитический обзор. Ставрополь, 2015. 76 с. [Epidemiologicheskaya obstanovka po prirodno-ochagovym infektsionnym boleznyam v Yuzhnom, Severo-Kavkazskom i Krymskom federal'nykh okrugakh v 2014 g.: analiticheskii obzor [The epidemiological situation regarding natural focal infectious diseases in the Southern, North Caucasian and Crimean Federal districts in 2014: analytical review]. Stavropol, 2015, 76 p.]
32. Jaenson T.G., Jaenson D.G., Eisen L., Petersson E., Lindgren E. Changes in the geographical distribution and abundance of the tick *Ixodes ricinus* during the past 30 years in Sweden. *Parasit. Vectors*, 2012, vol. 5:8. doi: 10.1186/1756-3305-5-8
33. Malkhazova S.M., Mironova V.A., Kotova T.V., Shartova N.V., Orlov D.S. Natural-focal diseases: mapping experience in Russia. *Int. J. Health Geogr.*, 2014, vol. 13:21. doi: 10.1186/1476-072X-13-21
34. Segura F., Font B. Resurgence of Mediterranean spotted fever in Spain. *Lancet*, 1982, vol. 2, no. 8292:280.
35. Wu X.B., Na R.H., Wei S.S., Zhu J.S., Peng H.J. Distribution of tick-borne diseases in China. *Parasit. Vectors*, 2013, vol. 6:119. doi: 10.1186/1756-3305-6-119

Авторы:

Горовенко М.В., ассистент кафедры инфекционных болезней Медицинской академии им. С.И. Георгиевского Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым;
Каримов И.З., д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней Медицинской академии им. С.И. Георгиевского Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

Authors:

Gorovenko M.V., Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Crimea;
Karimov I.Z., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Crimea.

Поступила в редакцию 27.07.2015
 Отправлена на доработку 11.01.2016
 Принята к печати 15.02.2016

Received 27.07.2015
 Revision received 11.01.2016
 Accepted 15.02.2016

СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ И ЦИТОКИНЫ В КРОВИ И ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ВИРУСНЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТАХ У ДЕТЕЙ

Л.А. Алексеева, Г.Ф. Железникова, А.А. Жирков, Н.В. Скрипченко, А.А. Вильниц, Н.Е. Монахова, Т.В. Бессонова

ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Введение проточной цитометрии вызвало рост исследований фенотипического состава пула лимфоцитов цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) при различных заболеваниях мозга, включая вирусные и бактериальные менингиты, однако у детей подобные исследования проводились редко. Фенотип и функции лимфоцитов находятся под контролем системы цитокинов, поэтому большой интерес представляет выявление взаимосвязей между субпопуляционным составом пула лимфоцитов и уровнем цитокинов в крови и ЦСЖ пациентов. Целью настоящего исследования являлось изучение субпопуляционного состава лимфоцитов и уровня цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IFN α , IFN γ и IL-4, а также IgG в ЦСЖ и крови у детей с вирусными и бактериальными менингитами. Проведено исследование крови и ЦСЖ у 46 детей в возрасте от 1 года до 16 лет с вирусными (n = 35) и бактериальными (n = 11) менингитами. Иммунофенотипирование клеток крови и ЦСЖ осуществляли методом проточной цитометрии с применением моноклональных антител против CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56, CD25 и CD95. Содержание цитокинов определяли в иммуноферментном анализе, IgG — методом количественной иммунотурбидиметрии. В остром периоде вирусных менингитов в крови пациентов отмечено снижение доли NK и активированных CD25⁺ клеток при увеличении числа В-лимфоцитов, наряду с ростом сывороточного уровня цитокинов IFN γ , IL-8 и IL-10. В ЦСЖ накапливались Т-лимфоциты с преобладанием CD4⁺ Т-клеток и, в меньшей степени, CD25⁺ и CD95⁺ клетки, NK и В-лимфоциты. Интратекально превалировал ответ IL-6 при росте концентраций также IL-8 и IL-10. В остром периоде бактериальных менингитов в крови снижалось относительное содержание CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ Т-лимфоцитов, NK, CD25⁺ и CD95⁺ клеток при, напротив, резком увеличении пула В-клеток, одновременно с выраженным системным ответом IL-8 и IL-10. В ЦСЖ относительное содержание Т-лимфоцитов соответствовало показателям в крови, тогда как число (%) NK его превышало, а содержание В-лимфоцитов было в 3–4 раза выше, чем у пациентов с вирусными менингитами. Интратекально имел место ответ IL-1 β , IL-6, IL-10, IFN γ и IL-4, а также 10-кратный рост уровня IgG. Таким образом, перераспределение субпопуляций лимфоцитов, а также системный и локальный ответ цитокинов при менингитах у детей имеют как общие черты, так и существенные особенности в зависимости от этиологии и тяжести процесса. Фенотипирование лимфоцитов и определение цитокинов и иммуноглобулинов одновременно в двух средах позволяет прояснить патогенетическое значение иммунологических сдвигов в крови и ЦСЖ пациентов в аспекте взаимодействия клеточных и гуморальных факторов системного и локального иммунного ответа при нейроинфекциях различной этиологии.

Ключевые слова: лимфоциты, субпопуляции, цитокины, иммуноглобулины, цереброспинальная жидкость, менингиты, дети.

Адрес для переписки:

Железникова Галина Федоровна
197002, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 9,
ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России.
Тел.: 8 905 267-41-32 (моб.).
E-mail: zheleznikova.galina@gmail.com

Contacts:

Galina F. Zheleznikova
197002, Russian Federation, St. Petersburg, Prof. Popova str., 9,
Scientific and Research Institute of Children's Infections.
Phone: +7 905 267-41-32 (mobile).
E-mail: zheleznikova.galina@gmail.com

Библиографическое описание:

Алексеева Л.А., Железникова Г.Ф., Жирков А.А., Скрипченко Н.В., Вильниц А.А., Монахова Н.Е., Бессонова Т.В. Субпопуляции лимфоцитов и цитокины в крови и цереброспинальной жидкости при вирусных и бактериальных менингитах у детей // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 33–44. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-33-44

© Алексеева Л.А. и соавт., 2016

Citation:

Alekseeva L.A., Zheleznikova G.F., Zhirkov A.A., Skripchenko N.V., Vilnits A.A., Monakhova N.E., Bessonova T.V. Lymphocyte subsets and cytokines in blood and cerebrospinal fluid in children with viral and bacterial meningitis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 33–44. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-33-44

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2016-1-33-44>

LYMPHOCYTE SUBSETS AND CYTOKINES IN BLOOD AND CEREBROSPINAL FLUID IN CHILDREN WITH VIRAL AND BACTERIAL MENINGITIS

Alekseeva L.A., Zheleznikova G.F., Zhirkov A.A., Skripchenko N.V., Vilnits A.A., Monakhova N.E., Bessonova T.V.
Scientific Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Introduction of flow cytometry caused an increase in the investigation of liquor lymphocyte pool phenotype in the case of different brain disorders, including viral and bacterial meningitis, however this type of research in children has been relatively rare. Phenotype and lymphocyte functions are under cytokine control system, therefore detection of interconnections between lymphocyte pool subpopulation composition and cytokine level in blood and liquor of the patients concerns a great interest. The purpose of this research was to study lymphocyte subpopulation composition and the level of cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IFN α , IFN γ and IL-4, and also IgG in liquor and blood of children with viral and bacterial meningitis. There was performed blood and liquor investigation in 46 children aged from 1 to 16 years old with viral (n = 35) and bacterial (n = 11) meningitis. Immunophenotyping of blood and liquor cells was performed by the method of flow cytometry with the use of monoclonal antibodies to CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56, CD25 and CD95. The content of cytokines was detected in ELISA, and that of IgG — by the method of quantitative immunoturbidimetry. During an acute period of viral meningitis there was detected a decrease in NK portion and activated CD25⁺ cells in the blood of patients accompanied by the increase in B-lymphocytes number, along with cytokine IFN γ , IL-8 and IL-10 serum level rise. There was determined T-lymphocytes accumulation in liquor with the prevalence of CD4⁺ T-cells and, to a lesser degree, CD25⁺ and CD95⁺ cells, NK and B-lymphocytes. Intrathecally there was noted the predominance of IL-6 response accompanied by the growth of IL-8 and IL-10 concentration as well. During an acute period of bacterial meningitis there was noted a decrease in percentage of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T-lymphocytes, NK, CD25⁺ and CD95⁺ cells, along with, on the contrary, sharp increase in B-cells pool, simultaneously with an expressed system response of IL-8 and IL-10. Liquor T-lymphocyte content was relatively correlated with blood indicators whereas the fraction of NK exceeded it, and B-lymphocyte content was 3–4 times higher than in patients with viral meningitis. There was IL-6, IL-10, IFN γ and IL-4 response intrathecally, and 10-fold growth of IgG level. Thus, the redistribution of lymphocyte subpopulations, and system and local cytokine response in children with meningitis have both common and special features depending on the aetiology and severity of disease. Phenotyping of lymphocytes and determination of both cytokines and immunoglobulins simultaneously in two biologic fluid allow to clear up the pathogenetic value of immunologic abnormalities in blood and cerebrospinal fluid of the patients in the aspect of interactions between cell and humoral factors of system and local immune response in neuroinfections of various aetiology.

Key words: lymphocytes, subpopulations, cytokines, immunoglobulines, cerebrospinal fluid, meningitis, children.

Введение

Менингиты (воспаление оболочек мозга) подразделяют по типу возбудителя на вирусные и бактериальные, а по характеру воспаления — на серозные и гнойные. Серозные менингиты имеют, в основном, вирусную природу, среди вирусов-возбудителей доминируют энтеровирусы. Бактериальные гнойные менингиты (БГМ) у детей старше 1 года и взрослых чаще всего вызываются менингококком (*Neisseria meningitidis*), в 75–80% случаев в сочетании с менингококцемией. БГМ остаются наиболее грозной патологией среди инфекционных заболеваний у детей: при отсутствии лечения летальность достигает 100%. В то же время серозные менингиты обычно имеют доброкачественное течение. До сих пор основным лабораторным критерием ранней дифференциальной диагностики между серозными и гнойными менингитами служат различия пула лейкоцитов крови в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) — умеренный лимфоцитарный плеоцитоз при серозном и высокий нейтрофильный плеоцитоз при гнойном менингите [13]. Многие исследователи разделя-

ют мнение о необходимости расширения иммунологических критериев диагностики заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) путем оценки соотношения различных субпопуляций лимфоцитов непосредственно в интратекальном пространстве [15, 17, 19, 20, 22].

Известно, что мозг защищен от попадания клеток иммунной системы с периферии гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ), но при этом обладает собственным защитным потенциалом. Проникновение возбудителя или его антигенов в ЦНС вызывает врожденный иммунный ответ периваскулярных макрофагов, микроглии и астроцитов. Антиген-специфические Т- и В-лимфоциты формируются на периферии в ходе системного адаптивного иммунного ответа и рекрутируются в ЦНС через стимулированный эпителий ГЭБ [4]. В течение двух последних десятилетий расширяется представление о важной роли Т-лимфоцитов в иммунологическом контроле ЦНС не только в условиях воспаления, но и в нормальных физиологических условиях [14, 18, 30]. Еще в 90-х гг. Svenningsson A. и соавт., используя метод точной цитометрии, установили, что в ЦСЖ

здоровых взрослых доноров абсолютное большинство (97%) лимфоцитов составляют CD3⁺ Т-клетки (фенотипа CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток памяти — CD45RO⁺), при незначительном количестве В-лимфоцитов (< 1%) и CD16⁺ натуральных киллеров (NK) (2%) [28]. Позднее de Graaf M. и соавт. уточнили, что около 70% Т-лимфоцитов в нормальной ЦСЖ представлены CD4⁺ Т-клетками, причем большинство из них (около 90%) имеют фенотип Т-клеток центральной памяти [14]. По данным Kivisäkk P. и соавт., CD4⁺CD45RA⁻CD27⁺ Т-клетки центральной памяти могут проникать в ЦСЖ через взаимодействие Р-селектина с молекулой межклеточной адгезии-1 в венах хороидального сплетения и субарахноидального пространства. Это подтверждает общую гипотезу о том, что Т-клетки центральной памяти попадают в ЦСЖ непосредственно из кровотока, сохраняя способность инициировать локальные иммунные реакции или возвращаться во вторичные лимфоидные органы [18]. Возможно, это механизм постоянного интраклеточного иммунологического надзора за персистирующей вирусной инфекцией [15].

Широкое внедрение проточной цитометрии способствовало росту исследований фенотипического состава пула лимфоцитов ЦСЖ при различных заболеваниях ЦНС, включая вирусные и бактериальные менингиты [19, 22, 27, 30]. В большинстве работ иммунофенотипирование клеток проводили параллельно в крови и ЦСЖ, используя этот подход для прояснения особенностей иммунопатогенеза различных заболеваний ЦНС. Следует отметить, что за последние 20 лет фенотипирование клеток ЦСЖ при менингитах у детей проводилось сравнительно редко [17, 20, 21, 24, 29]. Обращает на себя внимание также недостаток исследований клеток с маркером ранней активации — CD25(IL-2R α), готовых к пролиферации и дифференцировке, и маркером поздней активации — CD95(Fas/Apo-1), готовых к апоптозу через взаимодействие Fas/Fas-лиганд [12]. Ранее нами установлена высокая клиническая информативность определения CD25⁺ и CD95⁺ клеток в крови с подсчетом индекса активации CD25/CD95 у детей с вирусными и бактериальными инфекциями [5, 6, 8].

Фенотип, миграционная активность и функции лимфоцитов находятся под строгим контролем системы иммунорегуляторных пептидов — цитокинов, поэтому локальная и системная продукция цитокинов являются ключевыми звеньями иммунной защиты при любой инфекции. Многочисленные исследования демонстрируют возможность использования параметров ответа цитокинов для прогноза течения и исхода инфекционных заболеваний, в том числе нейро-

инфекций [3]. В связи с этим большой интерес представляет выявление взаимосвязей между субпопуляционным составом пула лимфоцитов и уровнем цитокинов в крови и ЦСЖ у пациентов с инфекциями ЦНС.

Целью настоящего исследования являлось изучение субпопуляционного состава лимфоцитов и уровня цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IFN α , IFN γ в цереброспинальной жидкости и крови при вирусных и бактериальных менингитах у детей.

Материалы и методы

Проведено параллельное исследование крови и ЦСЖ 46 детей в возрасте от 1 года до 16 лет, из них у 35 диагностирован вирусный менингит (ВМ), у 11 — бактериальный гнойный менингит (БГМ). Дети с ВМ были несколько старше (от 3 до 16 лет), дети с БГМ — от 1 года до 9 лет. Течение ВМ было, в основном, средней тяжести, БГМ — тяжелым. У 17 из 35 детей с ВМ установлена энтеровирусная (EV-68, EV-70, ЕСНО 6) этиология, у остальных вирус-возбудитель не определен. Из 11 детей с БГМ у 5 выявлена инфекция *Neisseria meningitidis*, у 1 ребенка — *Streptococcus pneumoniae*, у 1 — иерсинии, у 4 этиология БГМ осталась неясной.

Забор крови и ЦСЖ осуществляли дважды: в остром периоде (в течение первых 5 сут от начала болезни, до лечения) и в периоде реконвалесценции: через 12–15 дней при ВМ (14 \pm 0,3 сут) и 6–13 дней при БГМ (8,5 \pm 1,2 сут). Иммунофенотипирование клеток крови и ЦСЖ осуществляли с помощью проточного цитофлюориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, BD) в программах MultiSet и CellQuest. Для оценки относительного содержания субпопуляций лимфоцитов использованы тест-системы BD MultiTEST с 4-цветной панелью антител: CD3/CD8/CD45/CD4 и CD3/CD16⁺CD56/CD19, меченных флюорохромами FITC, PE, PerCP и APC. Для расчета абсолютного содержания субпопуляций использованы показатели абсолютного количества лимфоцитов, полученные при анализе крови на гематологическом анализаторе Cell Dyn1800 (Abbott, США). Содержание клеток с маркерами активации и апоптоза среди лейкоцитов крови и ЦСЖ определяли с использованием моноклональных антител против CD25 и CD95 фирмы BD согласно инструкциям производителя. Определение иммуноглобулина G проведено методом количественной иммунотурбидиметрии на биохимическом анализаторе CLIMA (Испания) с использованием тест-систем фирмы Sentinel (Италия). Концентрации цитокинов в сыворотке крови и ЦСЖ определяли в иммуноферментном анализе с помощью тест-систем ООО «Цитокин»

(Санкт-Петербург). Контрольную группу для оценки концентраций цитокинов и IgG в сыворотке крови составляли практически здоровые дети ($n = 15$), в ЦСЖ — дети, переносящие ОРВИ с менингеальными явлениями ($n = 22$) [1]. Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и GraphPad Prism. При статистической обработке данных использовали t -критерий Стьюдента, непараметрический критерий U Манна–Уитни и коэффициент линейной корреляции r .

Результаты

По данным литературы, у здоровых детей в возрастном интервале от 1 года до 16 лет соотношение основных субпопуляций среди Т-лимфоцитов крови изменяется незначительно и практически соответствует показателям у взрослых здоровых доноров [11, 25]. Эти сведения дают возможность сопоставить от-

носительное содержание субпопуляций лимфоцитов у детей в возрасте от 1 года до 16 лет, переносящих вирусные или бактериальные менингиты (табл. 1). Оценивая отклонение показателей от нормы, мы использовали данные Красновой Е.И. с соавт. (2005), определивших методом проточной цитометрии относительное и абсолютное содержание основных субпопуляций лимфоцитов в крови 30 практически здоровых детей в возрасте от 2 до 14 лет [9]. В качестве контроля содержания в крови $CD25^+$ и $CD95^+$ клеток использовали собственные данные, полученные ранее при фенотипировании лимфоцитов у 10 практически здоровых детей [5].

При вирусных менингитах (ВМ) относительное количество Т-клеток основных субпопуляций ($CD3^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$) среди лимфоцитов крови в обе фазы болезни не отличалось от показателей у практически здоровых детей. В отличие от Т-лимфоцитов, число $CD16^+CD56^+$ НК оказалось существенно сниженным по срав-

ТАБЛИЦА 1. ОТНОСИТЕЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ И ЦСЖ У ДЕТЕЙ С ВИРУСНЫМ ИЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫМ МЕНИНГИТОМ (в %)

CD ⁺ клетки	Нормы в крови	Период болезни	Вирусный менингит (n = 35/14) [#]		Бактериальный менингит (n = 6/4) [#]	
			Кровь	ЦСЖ	Кровь	ЦСЖ
CD3 ⁺ Т-клетки	65,8±5,6	Острый	66,2±1,3	83,6±1,5 $p < 0,0001$	51,2±7,0 ^{***}	52,7±10,5 ^{***}
		РКВ	69,4±1,6	84,5±2,3 $p < 0,0001$	71,7±3,1 ^{**}	77,7±6,0
CD4 ⁺ Т-клетки	41,3±3,8	Острый	36,3±1,1	52,9±2,8 $p < 0,0001$	28,2±2,5 ^{***}	34±8,7 ^{***}
		РКВ	38,3±1,8	49,3±4,5 $p < 0,05$	40,2±4,5 ^{**}	40,7±7,8
CD8 ⁺ Т-клетки	31,2±3,4	Острый	24,6±0,7	18,6±1,6 $p < 0,01$	18±3,5 [*]	11,3±3,8
		РКВ	25,6±1,6	19,5±2,5 $p < 0,05$	23,5±1,7	17±2,8
Индекс CD4/CD8	1,31±0,11	Острый	1,53±0,07	3,51±0,20 $p < 0,0001$	1,72±0,25	4,09±1,14
		РКВ	1,67±0,17	3,08±0,63 $p < 0,05$	1,71±0,17	2,37±0,27
CD16 ⁺ CD56 ⁺ НК	14,2±0,3	Острый	10,5±0,9 [*]	8,6±0,9	5±1,9 ^{***}	15,5±7,4
		РКВ	10,7±1,5 [*]	5,9±1,1 $p < 0,05$	7±0,4 [*]	13,2±6,8
CD19 ⁺ В-клетки	11,3±0,6	Острый	20,8±1,1 [*]	4,8±1,0 $p < 0,0001$	41,4±8,5 ^{***}	18,8±5,1 ^{***} $p < 0,05$
		РКВ	17±1,2 [*]	5,5±1,0 $p < 0,0001$	18,5±2,4 ^{**}	4,25±2,4 ^{**} $p < 0,05$
CD25 ⁺ клетки	18,8±1,8	Острый	11±0,75 [*]	11,5±1,4	7,20±1,3 ^{***}	н.д.
		РКВ	8,4±0,9 [*]	13,9±3,3	8,5±1,0 [*]	7,5±0,5
CD95 ⁺ клетки	22,2±1,6	Острый	21±1,4	16±1,8 $p < 0,05$	15±2,5 ^{***}	н.д.
		РКВ	19,4±1,8	19,3±3,6	21±2,3	18±0,9

Примечания. Нормы из ссылок [9] и [5] (подробнее в тексте); [#] — число больных, обследованных в остром периоде/периоде реконвалесценции (РКВ). В столбцах с данными в ЦСЖ указаны уровни достоверности (p) отличия от показателя в крови; ^{*} — достоверное отличие от нормы, ^{**} — от показателя в остром периоде, ^{***} — от показателя при вирусном менингите при p по крайней мере $< 0,05$; н.д. — нет данных.

нению с нормой, тогда как содержание CD19⁺ В-лимфоцитов в остром периоде ВМ было, напротив, вдвое выше нормы и оставалось повышенным в периоде клинического выздоровления. Доля активированных CD25⁺ клеток в обе фазы болезни оказалась существенно сниженной по сравнению с контролем. В то же время число CD95⁺ клеток не отличалось от нормы, результатом чего было снижение индекса CD25/CD95 (рассчитанного по средним значениям) до 0,5 в остром периоде и 0,4 в периоде реконвалесценции против 0,85 в контроле.

Оценить отклонения в распределении субпопуляций лимфоцитов в ЦСЖ пациентов от показателей в нормальном ЦСЖ у здоровых детей оказалось невозможным, так как спинномозговая пункция проводится строго по показаниям, и в доступных публикациях группы контроля отсутствуют [17, 20, 21, 24, 29]. Большой интерес, однако, представляет сопоставление этих показателей в крови и ЦСЖ детей с ВМ (см. табл. 1). Доля CD3⁺ и CD4⁺ Т-лимфоцитов в ЦСЖ была значительно больше, а CD8⁺ Т-лимфоцитов — значительно меньше, чем в крови. В связи с этим индекс CD4/CD8 в ЦСЖ примерно вдвое превышал его значение в крови как в остром периоде ВМ, так и при выздоровлении. Относительное число НК в остром периоде болезни было сходным в ЦСЖ и кровотоке, но в периоде выздоровления снижалось в ЦСЖ, но не в крови. Содержание (%) В-лимфоцитов в остром периоде ВМ было в ЦСЖ примерно в 4 раза меньше, чем в крови, причем различия сохранялись и в периоде выздоровления. Число (%) в ЦСЖ CD25⁺ клеток в острой фазе ВМ совпадало с показателем в крови, а в фазе рекон-

валесценции даже несколько его превышало. Но доля CD95⁺ клеток в остром периоде болезни оказалась существенно меньше в ЦСЖ, чем в крови, уравниваясь к выздоровлению. В итоге индекс CD25/CD95 в ЦСЖ был выше, чем в крови, составляя 0,72 в оба периода болезни.

В остром периоде БГМ субпопуляционный состав лимфоцитов крови имел существенные отличия от показателей при ВМ (см. табл. 1). У пациентов с БГМ относительное содержание в крови CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ Т-клеток и НК было значительно снижено по сравнению с нормой и показателем при ВМ. Напротив, доля В-клеток примерно в 4 раза превышала норму и вдвое — их содержание при ВМ. В периоде реконвалесценции показатели возвращались к базальному уровню, за исключением НК, число которых оставалось сниженным. Достоверно сниженным в крови оказалось также относительное содержание активированных CD25⁺ и CD95⁺ клеток по сравнению с их уровнем при ВМ и с нормой.

Абсолютное содержание клеток всех субпопуляций прямо связано с общим количеством лимфоцитов, но ряд авторов считают оценку пула клеток отдельных субпопуляций не менее информативной, чем их относительного числа [14, 19, 25]. Исходя из этих предпосылок, мы сравнили абсолютное содержание основных субпопуляций лимфоцитов крови и ЦСЖ у детей с ВМ и БГМ (табл. 2). В остром периоде ВМ абсолютное число в циркуляции CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ Т-клеток, а также НК не отличалось от нормальных показателей. Исключение составил пул В-лимфоцитов, достоверно превышающий базальный уровень в обе фазы болезни.

ТАБЛИЦА 2. АБСОЛЮТНОЕ СОДЕРЖАНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ И ЦСЖ У ПАЦИЕНТОВ С ВИРУСНЫМ ИЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫМ МЕНИНГИТОМ

CD ⁺ клетки	Нормы в крови, × 10 ⁹ /л	Период болезни	Вирусный менингит (n = 35/14)*		Бактериальный менингит (n = 6/4)*	
			Кровь, × 10 ⁹ /л	ЦСЖ, × 10 ⁶ /л	Кровь, × 10 ⁹ /л	ЦСЖ, × 10 ⁶ /л
CD3 ⁺ Т-клетки	1,4±0,4	Острый	1,48±0,14	149±25	1,09±0,22	308±102
		РКВ	2,21±0,2**	16,6±5,6**	3,73±1,02**	21,2±8,6**
CD4 ⁺ Т-клетки	0,8±0,1	Острый	0,82±0,08	103±19	0,63±0,14	214±77
		РКВ	1,21±0,1**	10±3,3**	2,06±0,56**	11±4,1**
CD8 ⁺ Т-клетки	0,6±0,1	Острый	0,55±0,05	32,2±5,5	0,36±0,06***	74,7±26,5
		РКВ	0,83±0,1**	4,2±2,0**	1,17±0,28**	4,5±1,8**
Индекс CD4/CD8	1,3	Острый	1,49	3,22	1,75	2,85
		РКВ	1,46	2,38	1,76	2,44
CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK	0,32±0,04	Острый	0,24±0,03	13,1±2,3	0,10±0,04***	31,6±9,6***
		РКВ	0,36±0,07	0,8±0,15**	0,38±0,13**	1,9±0,4***
CD19 ⁺ В-клетки	0,25±0,03	Острый	0,47±0,06*	7,5±2,5	1,19±0,44***	99,6±48,2***
		РКВ	0,55±0,07*	0,87±0,3**	1,06±0,45***	0,85±0,44**
CD25 ⁺ клетки	0,67±0,12	Острый	0,25±0,03*	19,3±3,9	0,15±0,03***	н.д.
		РКВ	0,25±0,03*	2,7±0,8**	0,5±0,2	2,8±0,8
CD95 ⁺ клетки	0,75±0,06	Острый	0,48±0,05*	25,5±4,5	0,33±0,09*	н.д.
		РКВ	0,60±0,07	4,6±2,0**	1,07±0,28**	7,2±2,2

Примечания. Индекс CD4/CD8 рассчитан по средним данным; остальные обозначения те же, что в таблице 1.

Абсолютное число в крови $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ Т-лимфоцитов в периоде реконвалесценции существенно нарастало, не выходя, однако, за пределы нормальных колебаний. Напротив, в ЦСЖ абсолютное количество клеток всех субпопуляций в фазе выздоровления снижалось примерно на порядок, отражая купирование воспалительного процесса в мозговых оболочках. Следует отметить, что индекс $CD4/CD8$ в ЦСЖ был значительно выше, чем в крови, повторяя закономерность, обнаруженную при учете относительного содержания $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов.

Абсолютное содержание в крови $CD25^+$ клеток у пациентов с ВМ было существенно снижено относительно нормы как в остром периоде, так и при выздоровлении, а $CD95^+$ клеток — только в острую фазу. Пул $CD25^+$ и $CD95^+$ клеток в ЦСЖ к выздоровлению многократно (в 5–6 раз) уменьшался ($p < 0,001$), как и других субпопуляций лимфоцитов. Соответственно более высокому относительному содержанию (см. табл. 1), пул $CD95^+$ клеток был в крови пациентов с ВМ примерно вдвое большим, чем $CD25^+$ клеток ($p < 0,001$ в обе фазы болезни).

В острую фазу БГМ абсолютное содержание в крови $CD3^+$ и $CD4^+$ Т-лимфоцитов было слегка снижено, но не отличалось достоверно от нормальных показателей или значений при ВМ. Обнаружено достоверное снижение в циркуляции пула $CD8^+$ Т-клеток и НК при, напротив, мобилизации в кровь В-лимфоцитов. Соответственно, количество в циркуляции $CD8^+$ Т-клеток и НК было существенно ниже, а В-клеток — выше, чем в остром периоде ВМ. В остром периоде БГМ значительно сниженным в крови оказался также пул $CD25^+$ и $CD95^+$ клеток. Как и у больных с ВМ, соотношение $CD25/CD95$ в остром периоде БГМ приблизительно равнялось 0,5. В периоде реконвалесценции количество в крови клеток большинства субпопуляций возрастало в 3–4 раза по сравнению с острым периодом, соответственно росту общего пула лимфоцитов. Исключение составили В-лимфоциты, содержание которых было высоким в обе фазы болезни.

В отличие от показателей в крови, в ЦСЖ абсолютное содержание клеток всех субпопуляций в остром периоде БГМ оказалось, по средним данным, несколько выше, чем у пациентов с ВМ (см. табл. 2). Наибольшие различия касались двух субпопуляций — НК и В-лимфоцитов, достоверные по критерию U Манна–Уитни. Количество НК в ЦСЖ детей с БГМ и в периоде выздоровления осталось вдвое большим, чем у детей с ВМ. Как и при ВМ, индекс $CD4/CD8$, рассчитанный по среднему абсолютному содержанию этих клеток, в ЦСЖ детей с БГМ был выше, чем в крови, в обе фазы болезни.

Возникает вопрос: зависит ли субпопуляционный состав лимфоцитов ЦСЖ от интенсивности воспаления в мозговых оболочках? С целью выявления возможных взаимосвязей между остротой локального воспалительного ответа и соотношением в ЦСЖ отдельных субпопуляций лимфоцитов, мы провели корреляционный анализ данных фенотипирования с уровнем цитоза в ЦСЖ в основной группе пациентов с ВМ (табл. 3). Показатели цитоза в остром периоде ВМ составляли 243 ± 38 ($\times 10^6/л$) клеток, а в периоде выздоровления — $13,7 \pm 1,9$ ($\times 10^6/л$) клеток против $3,5 \pm 0,8$ ($\times 10^6/л$) в группе контроля ($p < 0,001$). В остром периоде ВМ, как и в периоде реконвалесценции, не обнаружено достоверных связей между уровнем цитоза и относительным содержанием в ЦСЖ основных субпопуляций лимфоцитов: $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ Т-клеток, НК и В-лимфоцитов. Исключение составили $CD95^+$ клетки и, вероятно, $CD25^+$ клетки, доля которых была связана слабой отрицательной корреляцией с уровнем цитоза ($-0,34$ и $-0,30$ соответственно). Напротив, в острой фазе ВМ обнаружена сильная прямая взаимосвязь между уровнем цитоза и абсолютным содержанием $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ Т-лимфоцитов и НК, а также более слабая, но достоверная взаимосвязь между уровнем цитоза и пулом В-лимфоцитов, $CD25^+$ и $CD95^+$ клеток. В периоде выздоровления также прослеживалась сильная прямая связь между уровнем цитоза и абсолютным ко-

ТАБЛИЦА 3. КОЭФФИЦИЕНТЫ КОРРЕЛЯЦИИ (r) МЕЖДУ ОТНОСИТЕЛЬНЫМ И АБСОЛЮТНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ И УРОВНЕМ ЦИТОЗА В ЦСЖ У ПАЦИЕНТОВ С ВИРУСНЫМИ МЕНИНГИТАМИ

Относительное содержание CD^+ клеток, %							Абсолютное содержание CD^+ клеток, $\times 10^6/л$						
CD3	CD4	CD8	CD16	CD19	CD25	CD95	CD3	CD4	CD8	CD16	CD19	CD25	CD95
Острый период (n = 34)													
-0,03	0,16	0,06	0,13	-0,02	-0,3	-0,34	0,78	0,76	0,75	0,81	0,4	0,37	0,42
-	-	-	-	-	-	< 0,05	< 0,001				< 0,05		
Период реконвалесценции (n = 12)													
0,29	0,1	0,41	-0,41	-0,17	-0,19	0,08	0,99	0,97	0,98	0,85	0,92	0,87	0,96
-	-	-	-	-	-	-	< 0,001						

Примечание. Прочерк — корреляции недостоверны ($p > 0,05$) для данного количества пар значений.

личеством в ЦСЖ всех субпопуляций лимфоцитов (коэффициент корреляции r варьировал от 0,85 до 0,99).

Важной задачей исследования было сопоставление модуляций субпопуляционного состава лимфоцитов крови и ЦСЖ с системным и локальным уровнем гуморальных факторов иммунной защиты. В таблице 4 представлены концентрации цитокинов и иммуноглобулина G (IgG) в крови и ЦСЖ пациентов в остром периоде ВМ и БГМ. У детей с ВМ системный ответ цитокинов характеризовался значительным накоплением в циркуляции провоспалительных цитокинов IFN γ и IL-8 (примерно в 5 раз), а также противовоспалительного цитокина IL-10 (примерно в 20 раз) по сравнению с нормой. Содержание в крови цитокина Th2-типа IL-4 было на порядок ниже нормы. В ЦСЖ пациентов уровни трех цитокинов достоверно превышали их концентрации у детей группы «симптоматического» [19] контроля — IL-6 (более чем в 50 раз), IL-10 (более чем в 30 раз) и IL-8 (примерно в 8 раз).

Большой интерес представляет соотношение концентраций цитокинов в ЦСЖ и крови, которое наглядно иллюстрирует индекс ЦСЖ/кровь (Л/Кр), рассчитанный по средним данным (см. табл. 4). Концентрации большинства цитокинов в ЦСЖ у пациентов с ВМ были существенно ниже их значений в сыворотке крови: IL-1 β почти в 5 раз, IL-8 — более чем вдвое, IL-10 — почти втрое, IFN α — более чем в 2 раза, IFN γ приблизительно в 8 раз. Исключением из правила оказались IL-6 и IL-4, содержание которых в ЦСЖ многократно превышало сывороточный уровень (индекс Л/Кр составил 16,7 и 5,3 соответственно).

У детей с БГМ показатели в крови только двух цитокинов достоверно превышали уро-

вень контроля: IL-8 (в 6 раз) и IL-10 (в 28 раз) (см. табл. 4). Но нельзя обойти вниманием и явную тенденцию к накоплению в циркуляции IL-6, концентрации которого в среднем были более чем втрое выше нормы. В ЦСЖ происходило выраженное нарастание уровней IL-6 и IL-10, до 70- и 200-кратного превышения данных симптоматического контроля, а у части пациентов в ЦСЖ накапливался также IL-8, о чем свидетельствует более чем 10-кратный рост его среднего уровня относительно контроля. Уровни в ЦСЖ IL-6 и IL-10 примерно вдвое превышали показатели в крови, а содержание IFN γ и IL-4 было почти одинаковым в крови и ЦСЖ.

Мы не обнаружили значительных модуляций сывороточных уровней IgG у детей с ВМ или БГМ в оба срока обследования (период реконвалесценции в табл. 4 не показан). Однако у пациентов обеих групп в остром периоде болезни установлен достоверный рост в ЦСЖ концентраций IgG по сравнению с нормой, причем при БГМ показатель был более чем в 3 раза выше, чем при ВМ. К периоду выздоровления уровень IgG в ЦСЖ снижался почти до нормы (3,2 \pm 0,4 мг/дл при ВМ и 5,5 \pm 1,7 при БГМ против 2,0 \pm 0,4, $p > 0,05$).

Обсуждение

Сравнение относительного содержания клеток основных субпопуляций лимфоцитов в крови и ЦСЖ детей с менингитами показало, что у детей с ВМ в остром периоде болезни количество CD3 $^+$ и CD4 $^+$, но не CD8 $^+$ Т-клеток в ЦСЖ значительно превышало показатели в крови, что согласуется с данными других авторов, полученных при обследовании детей, переносивших энтеровирусные (ЕСНО 30) менингиты [24, 29]. Однако при обследовании пациентов в пе-

ТАБЛИЦА 4. КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ И IgG В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЦСЖ ДЕТЕЙ С ВИРУСНЫМИ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ МЕНИНГИТАМИ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ БОЛЕЗНИ

Фактор	Вирусный менингит			Бактериальный менингит			К1 n = 15	К2 n = 22	К2/К1
	Кровь n = 26	ЦСЖ n = 23	Л/Кр	Кровь n = 9	ЦСЖ n = 8	Л/Кр			
IL-1 β	14,9 \pm 3,8	3,2 \pm 1,1**	0,21	16,1 \pm 3,6	н.д.	–	27 \pm 7	2,7 \pm 0,8	0,1
IL-6	21,1 \pm 5,4	351 \pm 42***	16,7	174 \pm 81	429 \pm 75***	2,46	49 \pm 10	5,9 \pm 1,8	0,12
IL-8	230 \pm 42*	111 \pm 40***	0,48	309 \pm 124*	193 \pm 130	0,62	49 \pm 11	14,3 \pm 7,7	0,29
IL-10	97 \pm 31*	36 \pm 13*	0,37	139 \pm 65*	240 \pm 101*	1,73	5 \pm 3	1,15 \pm 0,3	0,23
IFN α	17,7 \pm 3,6	7,7 \pm 1,2**	0,43	14,2 \pm 4,5	9,5 \pm 3,1	0,67	10 \pm 7	н.д.	–
IFN γ	119 \pm 29*	14,4 \pm 3,6**	0,12	18,8 \pm 7,0***	21,4 \pm 6,4	1,14	26 \pm 8	н.д.	–
IL-4	4,2 \pm 1,7*	22,2 \pm 9,9	5,3	8 \pm 2*	10,8 \pm 6,4	1,35	51 \pm 7	9 \pm 3,2	0,18
IFN γ /IL-4	28	0,65	–	2,4	2	–	0,5	–	–
IgG	12,2 \pm 0,7	5,2 \pm 0,5*	0,43	10,4 \pm 1,6	18,2 \pm 5,6***	1,75	10,8 \pm 1	2,0 \pm 0,4	0,18

Примечания. Цитокины в пг/мл, IgG в сыворотке крови в г/л, в ЦСЖ — в мг/дл. К1 — контроль показателей в крови, практически здоровые дети, К2 — контроль показателей в ЦСЖ, дети с менингеальными симптомами при ОРВИ [1]. * — достоверное отличие ($p < 0,05$ и менее) от К, ** — от показателя в сыворотке крови, *** — от показателя при ВМ. Индексы Л/Кр (ЦСЖ/кровь) и IFN γ /IL-4 рассчитаны по средним данным; н.д. — нет данных.

риоды выздоровления нами не обнаружены рост в ЦСЖ доли $CD8^+$ Т-лимфоцитов и снижение индекса $CD4/CD8$, отмеченные этими авторами [24, 29]. В связи с этим можно высказать предположение о роли возрастного фактора в несовпадении динамики этих клеток. Так, Matsubara T. с соавт., изучая субпопуляции лимфоцитов в ЦСЖ детей с энтеровирусными (ЕСНО 30) менингитами, выявили прямую корреляцию индекса $CD4/CD8$ с возрастом (в диапазоне от 5 месяцев до 9 лет). Это позволило авторам заключить, что $CD8^+$ Т-лимфоциты более важны в локальном иммунном ответе против вируса у детей младшего возраста по сравнению с детьми старшего возраста или со взрослыми [21]. Действительно, по данным Lerej S. с соавт. [20], изучивших фенотипический состав лимфоцитов ЦСЖ у детей в возрасте от 1 года до 4 лет с асептическим менингитом, число (%) $CD8^+$ Т-клеток было сравнительно высоким и индекс $CD4/CD8$ равнялся, в среднем, 1,4 у пациентов с менингитом, развившимся после иммунизации тройной вакциной MMR (measles-mumps-rubella), и 1,8 у детей с энтеровирусным менингитом. В то же время группа обследованных нами пациентов с ВМ более чем наполовину была представлена детьми в возрасте от 9 до 16 лет (20 из 35), чем, возможно, объясняется сходство полученных нами данных с результатами обследования взрослых пациентов с вирусными менингитами [19, 27] или острым вирусным менингоэнцефалитом [20].

Относительное число НК в остром периоде ВМ было в крови ниже нормы и сходным в ЦСЖ и кровотоке, а содержание (%) в крови В-лимфоцитов было существенно выше нормы, причем в ЦСЖ доля В-клеток была меньше, чем в крови. Тем не менее, относительное содержание в ЦСЖ клеток обеих субпопуляций, особенно В-лимфоцитов, было значительно выше, чем (по данным литературы) у взрослых пациентов без неврологических симптомов или с невоспалительными заболеваниями ЦНС. В образцах нормального ЦСЖ наибольшее содержание НК и В-лимфоцитов не превышало 5 и 2% соответственно [14, 19], при этом в остром периоде вирусного или бактериального менингита содержание в ЦСЖ НК возрастало максимально до 13–26%, а В-лимфоцитов — до 12–17% [19].

Особый интерес представляет оценка количества клеток с маркерами активации $CD25$ (IL-2R α) и апоптоза $CD95$ (Fas/Apo-1). У пациентов с ВМ относительное содержание $CD25^+$ клеток в крови оказалось сниженным, чему соответствовал сниженный индекс $CD25/CD95$. Эти результаты согласуются с данными Крыловой Н.В. и соавт. [10], которые обнаружили снижение в крови индекса $CD25/CD95$ Т-клеток

в остром периоде очаговой (но не лихорадочной) формы клещевого энцефалита у взрослых пациентов. В прежних исследованиях уход из циркуляции $CD25^+$ и, реже, $CD95^+$ клеток обнаружен нами при очаговой форме клещевого энцефалита, тяжелом течении инфекционного мононуклеоза, генерализации иерсиниозной инфекции у детей [3, 6, 8]. По-видимому, уменьшение доли $CD25^+$ клеток в крови отражает их миграцию в очаги инфекции, где они и осуществляют свои иммунные функции. С этих позиций относительно высокое содержание $CD25^+$ клеток в ЦСЖ, равное уровню в крови (см. табл. 1), может свидетельствовать об их усиленной миграции в ЦНС, что подтверждает более высокий индекс $CD25/CD95$ в ЦСЖ по сравнению с кровью, сохраняющийся и в периоде выздоровления.

Соотношения основных субпопуляций лимфоцитов в крови и ЦСЖ пациентов с БГМ имели и сходные черты, и отличия по сравнению с описанными при ВМ. В отличие от ВМ, доля $CD3^+$ Т-клеток при БГМ была одинакова в обеих средах, а содержание НК в ЦСЖ заметно выше, чем в крови, в том числе в периоде выздоровления. Однако индекс $CD4/CD8$ в ЦСЖ, как и у пациентов с ВМ, превышал значения в крови; при этом различия почти достигали уровня достоверности в обе фазы болезни ($p = 0,051$ и $0,057$ в тесте Манна–Уитни). Относительное количество В-лимфоцитов в ЦСЖ детей с БГМ в остром периоде болезни значительно превышало показатель при ВМ.

Главной чертой иммунного статуса в острой фазе БГМ было снижение в крови доли Т-клеток с одновременным накоплением В-клеток, что согласуется с данными Ishiyama T. с соавт. [17]. Однако, в отличие от данных этих авторов, у обследованных нами детей с БГМ не отмечено достоверного повышения доли $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ Т-клеток в ЦСЖ по сравнению с кровью. Несовпадения с данными [17] могут быть обусловлены различиями этиологии БГМ. В исследовании Ishiyama T. с соавт. возбудителями БГМ были бактерии *Haemophilus influenzae* и *Streptococcus pneumoniae*, тогда как у большинства обследованных нами детей с БГМ определена *Neisseria meningitidis*. Менингит, вызванный *Neisseria meningitidis*, развивается как проявление генерализованной инфекции, сопровождающейся менингококкцемией и образованием очагов инфекции во многих органах и тканях [13]. Поэтому рекрутирование Т-лимфоцитов происходит не только в ЦНС, но и в другие локусы инфекции, чем можно объяснить умеренный прирост этих клеток в ЦСЖ пациентов с БГМ. С другой стороны, снижение доли Т-клеток среди лимфоцитов крови и ЦСЖ может быть результатом выраженной мобилиза-

ции В-лимфоцитов, которые в остром периоде БГМ в крови детей составляли в среднем 40%, а в ЦСЖ почти 20%. По данным Kowarik M. с соавт. [19], рост числа В-клеток в ЦСЖ взрослых пациентов характерен для воспалительных заболеваний ЦНС бактериальной и, реже, вирусной этиологии.

Доля НК, сниженная в крови относительно нормы и при ВМ, у детей с БГМ была еще ниже (примерно в 2 раза), тогда как среди клеток ЦСЖ в оба срока обследования она была выше, чем в крови, превышая также показатели в ЦСЖ пациентов с ВМ. Это позволяет предположить еще более активное участие этих клеток в локальном иммунном ответе при БГМ по сравнению с ВМ. В остром периоде БГМ оказалась сниженной частота в крови не только CD25⁺, но и CD95⁺ клеток. Эти отличия могли быть обусловлены большей остротой и тяжестью инфекционного процесса в целом при БГМ по сравнению с ВМ, о чем свидетельствуют клинические параметры болезни.

Подсчет абсолютного количества клеток всех субпопуляций в обеих средах подтвердил выявленные различия у пациентов с ВМ и БГМ, удостоверив больший приток НК и В-клеток в ЦСЖ пациентов в острой фазе БГМ, чем ВМ. К моменту клинического выздоровления пул CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ Т-клеток и НК в крови в 3–4 раза нарастал, в то время как содержание тех же клеток в ЦСЖ снижалось более чем на порядок в ходе разрешения воспалительного процесса в оболочках мозга. Эта динамика, одинаковая при ВМ и БГМ, отражает общую тенденцию к взаимосвязи между пулами лимфоцитов разных субпопуляций в системном и локальном иммунном ответе.

При корреляционном анализе показателей у детей с ВМ нами не обнаружено достоверных связей между уровнем цитоза и относительным содержанием в ЦСЖ основных субпопуляций лимфоцитов: CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ Т-клеток и В-клеток, в подтверждение аналогичным результатам других авторов [17]. Исключение составили активированные CD25⁺ и CD95⁺ клетки, доля которых в ЦСЖ оказалась связанной с уровнем цитоза слабой обратной корреляцией. В то же время абсолютное содержание в ЦСЖ клеток различного фенотипа прямо коррелировало с уровнем цитоза. По-видимому, это означает, что трафик циркулирующих лимфоцитов основных субпопуляций в мозговые оболочки происходит в прямой зависимости от общей интенсивности рекрутирования лейкоцитов крови в ЦНС, без различий в способности клеток разного фенотипа преодолевать ГЭБ. Возможно, повышенную способность проникать в ЦНС проявляют активированные CD25⁺ и CD95⁺ клетки, которые осуществляют свои

иммунные функции в ЦНС, сдерживая рекрутирование лейкоцитов, чем можно объяснить обратную связь их относительного содержания с уровнем цитоза.

Как и модуляции фенотипического состава пула лимфоцитов крови и ЦСЖ, системный и локальный ответы цитокинов также имели общие черты, но и существенные особенности при вирусных и бактериальных менингитах у детей. В остром периоде менингита, независимо от этиологии, имел место значительный подъем системной продукции цитокинов врожденного иммунитета IL-8 и IL-10. У пациентов с БГМ в дополнение к этим двум цитокинам в крови происходило накопление IL-6. Отличительной особенностью ответа детей с ВМ был высокий уровень в крови IFN γ , при этом индекс IFN γ /IL-4 составлял примерно 28, что свидетельствует о поляризации системного иммунного ответа в сторону Th1. В то же время у пациентов с БГМ нормальный уровень IFN γ в циркуляции свидетельствовал о дефиците системного иммунного ответа Th1-типа против возбудителя инфекции. В ЦСЖ пациентов обеих групп многократно возрастали уровни IL-6 и IL-8, но БГМ сопровождался также накоплением в ЦСЖ IL-10, что подтверждает результаты предыдущего исследования [1]. Следует заметить, что ответ цитокинов зависит от этиологии ВМ. Так, сравнив цитокиновый профиль при менингитах энтеровирусной (ЕСНО 30) и паротитной этиологии, авторы [16, 26] выявили накопление IL-8 в ЦСЖ детей обеих групп, высокий уровень IL-6 в ЦСЖ пациентов с энтеровирусным менингитом, но рост IL-1 β только в ЦСЖ пациентов с паротитным менингитом.

Сопоставление концентраций цитокинов в ЦСЖ и крови с подсчетом индекса ЦСЖ/кровь позволило предположить, что при ВМ основным цитокином интратекального ответа является IL-6. Действительно, Kawashima H. с соавт. (2008) установили, что подъем уровня IL-6 в ЦСЖ может служить наиболее ранним маркером острого воспаления оболочек мозга при энтеровирусных менингитах у детей [7]. Заметен также рост интратекальных концентраций IL-4 и инверсия индекса IFN γ /IL-4, отражающая различия баланса Th1/Th2 ответов на системном и локальном уровнях. При БГМ важными цитокинами локального ответа, вероятно, служат IL-6 и IL-10, наряду с умеренным ответом IFN γ и IL-4.

Каким же образом особенности системного и локального ответа цитокинов при ВМ и БГМ соотносятся с перераспределением субпопуляций лимфоцитов в крови и ЦСЖ пациентов? На наш взгляд, главным отличием системного ответа цитокинов у пациентов с ВМ является выраженная продукция IFN γ — ключевого фак-

тора врожденного и адаптивного иммунитета при вирусных и бактериальных инфекциях [2]. Адекватный системный ответ $IFN\gamma$ сочетается с ограниченной миграцией лейкоцитов в ЦНС без снижения частоты клеток основных субпопуляций лимфоцитов (за исключением $CD25^+$ и NK-клеток) и выраженной интратекальной продукцией $IL-6$. Известна связь между $IFN\gamma$ и $IL-6$ в противовирусном ответе клеток мозга. Так, Farina С. с соавт. (2005) показали, что продукция $IL-6$ астроцитами, стимулированными через TLR3, значительно усиливается под влиянием $IFN\gamma$ [4]. Вероятно, другие цитокины врожденного иммунитета ($IL-8$, $IL-10$, $IFN\alpha$) в достаточном количестве поступают из системного кровотока через активированный ГЭБ, обеспечивая противовирусную защиту ЦНС. В то же время при БГМ отсутствие системного ответа $IFN\gamma$ как главного фактора активации макрофагов сопровождается значительными изменениями иммунного статуса: снижением в крови числа $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ Т-клеток, NK, $CD25^+$ и $CD95^+$ клеток при росте пула В-клеток в крови и ЦСЖ наряду с интратекальной продукцией цитокинов $IL-6$, $IL-10$, $IFN\gamma$ и $IL-4$. По-видимому, все эти параметры отражают неэффективность системной иммунной защиты в целом и соответствуют гораздо более тяжелому течению БГМ по сравнению с ВМ.

Необходимо особо отметить, что селективная способность Т-клеток проникать в ЦНС через ГЭБ присуща им не только при патологии, но и в нормальных физиологических условиях [14, 18, 28, 30]. Поэтому развитие воспаления в ЦНС сопровождается лишь многократным усилением миграции в мозг Т-клеток с преобладанием $CD4^+$ над $CD8^+$ Т-лимфоцитами. Отсюда следует, что более специфическим параметром локальной иммунной защиты при менингитах может быть накопление в ЦСЖ активированных $CD25^+$ и $CD95^+$ клеток, NK и В-лимфоцитов, присутствующих в нормальном ЦСЖ в очень малых количествах. По представленным данным можно предположить, что NK активно мигрируют из крови в менингеальные пространства в остром периоде как ВМ, так и БГМ. В последнем случае рекрутирование NK в ЦНС еще более заметно и, возможно, связано с необходимостью восполнить недостаток $IFN\gamma$ в локальном иммунном ответе. В самом деле, содержание $IFN\gamma$ в ЦСЖ детей с БГМ было не меньше, чем в крови и превышало установленный предел (< 10 пг/мл) в нормальном ЦСЖ у детей [21].

Особый интерес вызывает накопление в крови и ЦСЖ пациентов В-клеток, гораздо более выраженное в остром периоде БГМ, чем ВМ. Это единственная субпопуляция лимфоцитов, которая в крови пациентов растет в относительном и абсолютном выражении, вероятно, по-

полняясь за счет депо В-клеток в лимфоидных органах. Интерес к В-лимфоцитам резко возрос после того, как были обнаружены скопления этих клеток в мозговых оболочках пациентов с рассеянным склерозом (РС). Считают, что роль В-клеток в ЦНС обусловлена их влиянием на Т-лимфоциты в качестве антиген-представляющих клеток, продуцирующих про- и противовоспалительные цитокины [31]. Но В-клетки могут быть также источником интратекального синтеза полиспецифических Ig, обнаруживаемых в ЦСЖ больных РС [23].

В представленном нами материале прослеживается связь между мобилизацией в кровь В-лимфоцитов и увеличением концентрации IgG в ЦСЖ пациентов. Оба параметра в гораздо большей степени выражены в остром периоде БГМ, чем ВМ. Нам не удалось верифицировать у пациентов интратекальный синтез IgG по соотношению IgG/альбумин, из чего можно заключить, что накопление IgG в ЦСЖ обусловлено их проникновением из крови из-за увеличения проницаемости ГЭБ при менингитах, особенно бактериальной этиологии [13]. Вероятно, при генерализованной бактериальной инфекции В-клетки еще в циркуляции подвергаются массивной поликлональной стимуляции липополисахаридами бактерий. По-видимому, с этим связан гуморальный профиль системного иммунного ответа при БГМ с накоплением В-клеток и IgG в ЦСЖ пациентов.

Небольшое число наблюдений не позволило в полной мере оценить клеточные и гуморальные факторы иммунной защиты в ЦСЖ пациентов с БГМ, что диктует необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

Заключение

Таким образом, фенотипирование лимфоцитов и определение цитокинов и иммуноглобулинов одновременно в двух средах позволяет прояснить патогенетическое значение иммунологических сдвигов в крови и ЦСЖ пациентов в аспекте взаимодействия клеточных и гуморальных факторов системного и локального иммунного ответа при нейроинфекциях различной этиологии.

Благодарности

Авторы выражают благодарность руководителям отдела вирусологических и молекулярно-биологических методов исследования и отдела молекулярной микробиологии и эпидемиологии ФГБУ НИИДИ ФМБА России д.б.н. Е.А. Муриной и д.м.н., проф. С.В. Сидоренко за предоставление данных по этиологической диагностике менингитов.

Список литературы/References

1. Алексеева Л.А., Мазаева Е.М., Скрипченко Н.В., Монахова Н.Е., Бессонова Т.В. Цитокины в цереброспинальной жидкости при менингитах у детей // Журнал инфектологии. 2014. Т. 6, № 1. С. 54–59. [Alekseyeva L.A., Mazayeva E.M., Skripchenko N.V., Monakhova N.E., Bessonova T.V. Cytokines in cerebrospinal fluid in the case of meningitis in children. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2014, vol. 6, no. 1, pp. 54–59. (In Russ.)]
2. Железникова Г.Ф. Роль гамма-интерферона в иммунопатогенезе инфекций (обзор) // Клиническая лабораторная диагностика. 2008. № 4. С. 3–8. [Zheleznikova G.F. The role of gamma-interferon in immunopathogenesis of infections. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*, 2008, no. 4, pp. 3–8. (In Russ.)]
3. Железникова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций (обзор) // Цитокины и воспаление. 2009. Т. 8, № 1. С. 10–17. [Zheleznikova G.F. Cytokines as predictors of infection course and outcome. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2009, vol. 8, no. 1, pp. 10–17. (In Russ.)]
4. Железникова Г.Ф., Скрипченко Н.В. Иммунопатогенез инфекционно-воспалительных заболеваний ЦНС (обзор) // Журнал инфектологии. 2011. Т. 3, № 2. С. 28–32. [Zheleznikova G.F., Skripchenko N.V. Immunopathogenesis of infectious-inflammatory diseases of central nervous system. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2011, vol. 3, no. 2, pp. 28–32. (In Russ.)]
5. Железникова Г.Ф., Скрипченко Н.В., Моргацкий Н.В., Монахова Н.Е., Керимова Л.В. Иммунопатогенетические особенности клещевого энцефалита у детей и эффект терапии // Нейроиммунология. 2008. Т. 6, № 1–2. С. 13–22. [Zheleznikova G.F., Skripchenko N.V., Morgatsky N.V., Monakhova N.E., Kerimova L.V. Immunopathogenesis of tick-borne encephalitis (ТВЕ) in children and effects of therapy. *Neuroimmunologiya = Neuroimmunology*, 2008, vol. 6, no. 1–2, pp. 13–22. (In Russ.)]
6. Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Васякина Л.И., Монахова Н.Е., Бехтерева М.К. Иммуноответ при остром псевдотуберкулезе у детей // Медицинская иммунология. 2002. Т. 4, № 1. С. 45–58. [Zheleznikova G.F., Ivanova V.V., Vasjakina L.I., Monakhova N.E., Bechtereva M.K. Immune response in children with acute pseudotuberculosis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2002, vol. 4, no. 1, pp. 45–58. (In Russ.)]
7. Железникова Г.Ф., Скрипченко Н.В. Факторы иммунной защиты в цереброспинальной жидкости при вирусных инфекциях ЦНС (обзор) // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2012. № 4. С. 61–66. [Geleznikova G.F., Skripchenko N.V. Factors of immune defense in the cerebrospinal fluid in viral infections of the central nervous system. *Zhurnal neurologii i psichiatrii im. S.S.Korsakova = Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakov*, 2012, no. 4, pp. 61–66. (In Russ.)]
8. Иванова В.В., Железникова Г.Ф., Аксенов О.А., Насыров Р.А., Александрова Н.В., Левина А.С., Монахова Н.Е. Инфекционный мононуклеоз: клиника, патогенез, новое в диагностике и терапии // Инфекционные болезни. 2004. Т. 2, № 4. С. 5–12. [Ivanova V.V., Zheleznikova G.F., Aksenov O.A., Nasyrov R.A., Aleksandrova N.V., Levina A.S., Monakhova N.E. Infectious mononucleosis: clinical course, pathogenesis, novel in diagnostics and therapy. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2004, vol. 2, no. 4, pp. 5–12. (In Russ.)]
9. Краснова Е.И., Васюнин А.В. Особенности иммунного ответа при инфекционном мононуклеозе у детей и подходы к иммуномодулирующей терапии циклофероном // Профилактическая и клиническая медицина. 2005. Т. 6, № 1. С. 76–82. [Krasnova E.I., Vasyunin A.V. Special features of immune responses in children with infectious mononucleosis and the approaches to immunomodulating therapy by cyclopheronum. *Profilakticheskaya i klinicheskaya medicina = Preventive and Clinical Medicine*, 2005, vol. 6, no. 1, pp. 76–82. (In Russ.)]
10. Крылова Н.В., Леонова Г.Н., Павленко Е.В., Запорожец Т.С., Смолина Т.П., Гажа А.К., Новиков Д.В., Ченцова И.В. Комплексная оценка состояния иммунной системы при различных формах клещевого энцефалита в остром периоде // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, № 4–5. С. 313–320. [Krylova N.V., Leonova G.N., Pavlenko E.V., Zaporozhets T.S., Smolina T.P., Gazha A.K., Novikov D.V., Chenzova I.V. Comprehensive assessment of immune system in various forms of tick-borne encephalitis in acute phase. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, vol. 14, no. 4–5, pp. 313–320. doi: 10.15789/1563-0625-2012-4-5-313-320 (In Russ.)]
11. Лагерева Ю.Г., Меньшиков С.В., Савинова Т.Л., Бейкин Я.Б., Черешнев В.А. Оценка содержания различных Т-эффекторных субпопуляций у детей и взрослых методом внутриклеточного окрашивания цитокинов // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, № 4–5. С. 295–304. [Lagereva Yu.G., Menshikov S.V., Savinova T.L., Beykin J.B., Chereshevnev V.A. Evaluation of T-cell effector subpopulations distribution in children and adults by means of intracellular staining of cytokines. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, vol. 14, no. 4–5, pp. 295–304. doi: 10.15789/1563-0625-2012-4-5-295-304 (In Russ.)]
12. Литвинова Л.С., Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Кофанова К.А., Хазиахматова О.Г., Шуплецова В.В., Кайгородова Е.В., Гончаров А.Г. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов (обзор) // Медицинская иммунология. 2014. Т. 16, № 1. С. 7–26. [Litvinova L.S., Gutsol A.A., Sokhonevich N.A., Kofanova K.A., Khaziakhmatova O.G., Shupletsova V.V., Kaigorodova E.V., Goncharov A.G. Basic surface markers of functional activity T-lymphocytes. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, vol. 16, no. 1, pp. 7–26. doi: 10.15789/1563-0625-2014-1-7-26 (In Russ.)]
13. Нейроинфекции у детей / Под ред. Н.В. Скрипченко. СПб.: Тактик-Студио, 2015. 856 с. [Nejroinfekcii u detej [Nervous system infections in children] / Ed. by Skripchenko N.V. St. Petersburg: Taktik-Studio, 2015. 856 p. (In Russ.)]
14. De Graaf M., Smitt P., Luitwieler R., van Vetzen Z., van den Broek P.D., Kraan J., Gratama J.W. Central memory CD4⁺ T cells dominate the normal cerebrospinal fluid. *Cytometry Part B*, 2011, vol. 80B, Iss. 1, pp. 43–50. doi: 10.1002/cyto.b.20542
15. Han S., Lin Y., Wu T., Salgado A., Mexhitaj I., Wuest S., Romm E., Ohayon J., Goldbach-Mansky R., Vanderver A., Marques A., Toro C., Williamson P., Cortese I., Bielekova B. Comprehensive immunophenotyping of cerebrospinal fluid cells in patients with neuroimmunological diseases. *J. Immunol.*, 2014, vol. 192, no. 6, pp. 2551–2563. doi: 10.4049/jimmunol.1302884
16. Ichiyama T., Maeba S., Suenaga N., Saito K., Matsubara T., Furukawa S. Analysis of cytokine levels in cerebrospinal fluid in mumps meningitis: comparison with echovirus type 30 meningitis. *Cytokine*, 2005, vol. 30, no. 5, pp. 243–247.

17. Ichiyama T., Kajimoto M., Matsushige T., Shiraishi M., Suzuki Y., Furukawa S. Mononuclear cell subpopulations in CSF and blood of children with bacterial meningitis. *J. Infect.*, 2009, vol. 58, no. 1, pp. 28–31. doi: 10.1016/j.jinf.2008.10.012
18. Kivisäkk P., Mahad D., Callahan M., Trebst C., Tucky B., Wei T., Wu L., Baekkevold E., Lassmann H., Staugaitis S., Campbell J., Ransohoff R. Human cerebrospinal fluid central memory CD4⁺ T cells: evidence for trafficking through choroid plexus and meninges via P-selectin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, vol. 100, no. 14, pp. 8389–8394.
19. Kowarik M., Grummel V., Vemlinger S., Buck D., Weber M., Berthele A., Hemmer B. Immune cell subtyping in the cerebrospinal fluid of patients with neurological diseases. *J. Neurol.*, 2014, vol. 261, no. 1, pp. 130–143. doi: 10.1007/s00415-013-7145-2
20. Lepej S., Tesovic G., Sternak S., Jeren T. Naive and memory CD4⁺ T-cells in the cerebrospinal fluid of children with aseptic meningitis following measles-mumps-rubella vaccination and enteroviral meningitis. *Immunol. Invest.*, 2007, vol. 36, no. 3, pp. 321–335. doi: 10.1080/08820130601069855
21. Matsubara T., Matsuoaka T., Katayama K., Yoshitomi T., Nishikawa M., Ichiyama T., Furukawa S. Mononuclear cells and cytokines in the cerebrospinal fluid of echovirus 30 meningitis patients. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2000, vol. 32, no. 5, pp. 471–474.
22. Maxeiner H., Rojewski M., Schmitt A., Tumani H., Bechter K., Schmitt M. Flow cytometric analysis of T cell subsets in paired samples of cerebrospinal fluid and peripheral blood from patients with neurological and psychiatric disorders. *Brain Behav. Immun.*, 2009, vol. 23, no. 1, pp. 134–142. doi: 10.1016/j.bbi.2008.08.003
23. Reindl M., Kuenz B., Berger T. B cells and antibodies in MS. In: *Molecular Basis of Multiple Sclerosis*. Springer, 2009, pp. 99–113. (Series: Results Probl. Cell Differ., vol. 51). doi: 10.1007/400_2008_16
24. Sakatoku H., Inoue M., Kojima M., Azuma E., Komada Y., Zhou Y., Zhang S., Sakurai M. 2',5'-oligoadenylate synthetase activity and T cell subset in the cerebrospinal fluid and peripheral blood of aseptic meningitis. *Acta Paediatr. Jpn.*, 1997, vol. 39, no. 1, pp. 48–53.
25. Schatorjé E., Gemen E., Driessen G., Leuvenink J., van Hout R., de Vries E. Paediatric reference values for the peripheral T cell compartment. *Scand. J. Immunol.*, 2012, vol. 75, no. 4, pp. 436–444. doi: 10.1111/j.1365-3083.2012.02671.x
26. Sulik A., Krotan A., Wojtkowska M., Oldak E. Increased levels of cytokines in cerebrospinal fluid of children with aseptic meningitis caused by mumps virus and echovirus 30. *Scand. J. Immunol.*, 2014, vol. 79, no. 1, pp. 68–72. doi: 10.1111/sji.12131
27. Svenningsson A., Andersen O., Edsbacke M., Stemme S. Lymphocyte phenotype and subset distribution in normal cerebrospinal fluid. *J. Neuroimmunol.*, 1995, vol. 63, pp. 39–46.
28. Svenningsson A., Hansson G., Andersen O., Andersson R., Patarroyo M., Stemme S. Adhesion molecule expression on cerebrospinal fluid T lymphocytes: evidence for common recruitment mechanisms in multiple sclerosis, aseptic meningitis, and normal controls. *Ann. Neurol.*, 1993, vol. 34, no. 2, pp. 155–161.
29. Tabata N., Oitani K., Morita K., Shogo Y., Sakurai N., Zhang Y., Komada Y. T cell subsets in peripheral blood and cerebrospinal fluid from children with aseptic meningitis. *Acta Paediatr. Jpn.*, 1994, vol. 36, no. 6, pp. 632–636.
30. Vrethem M., Dahle C., Ekerfelt C., Forsberg P., Danielsson O., Ernerudh J. CD4 and CD8 lymphocyte subsets in cerebrospinal fluid and peripheral blood from patients with multiple sclerosis, meningitis and normal controls. *Acta Neurol. Scand.*, 1998, vol. 97, no. 4, pp. 215–220.
31. Weber M., Hemmer B. Cooperation of B cells and T cells in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Results Probl. Cell Differ.*, 2010, vol. 51, pp. 115–126. doi: 10.1007/400_2009_21

Авторы:

Алексеева Л.А., д.б.н., руководитель и ведущий научный сотрудник отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Железникова Г.Ф., д.м.н., профессор, старший научный сотрудник отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Жирков А.А., младший научный сотрудник отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Скрипченко Н.В., д.м.н., профессор, зам. директора по научной работе ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Вильниц А.А., к.м.н., старший научный сотрудник отдела нейроинфекций и органической патологии нервной системы ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Монахова Н.Е., научный сотрудник отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Бессонова Т.В., научный сотрудник отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Alekseeva L.A., PhD, MD (Biology), Head and Leading Researcher, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Scientific Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg, Russian Federation; **Zheleznikova G.F.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Senior Researcher, Department of Clinical Laboratory Diagnostic, Scientific Research Institute of Children's Infection, St. Petersburg, Russian Federation;

Zhirkov A.A., Junior Researcher, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Scientific Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg, Russian Federation;

Skripchenko N.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director of Science, Scientific Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg, Russian Federation;

Vilnits A.A., PhD, Senior Researcher, Department of Neuroinfections and Organic Pathology of Nervous System, Scientific Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg, Russian Federation;

Monakhova N.E., Researcher, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Scientific Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg, Russian Federation;

Bessonova T.V., Researcher, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Scientific Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg, Russian Federation.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА ИНТЕРЛЕЙКИНА 1 И ИНТЕРЛЕЙКИНА 4 ПРИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ДЕТЕЙ РАННЕГО И ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА К *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

А.В. Шабалдин¹, Е.В. Шабалдина², С.В. Рязанцев³, А.С. Симбирцев⁴

¹ ФГБНУ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово, Россия

² ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия МЗ РФ, г. Кемерово, Россия

³ ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ уха, горла, носа и речи МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГУП ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Введение. Инфицирование *Streptococcus pyogenes* и сенсибилизация к его антигенам является неблагоприятным фактором в отношении индукции ревматической патологии. Поиск генетических предикторов ревматической патологии в целом и сенсибилизации к *S. pyogenes* в частности является актуальной проблемой современной медицины. **Цель:** изучение ассоциативных связей между полиморфизмами генов семейства интерлейкина 1 и интерлейкина 4 и развитием сенсибилизации к антигенам *S. pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста. **Материалы и методы.** Проведено обследование 771 ребенка, в возрастном интервале 2–6 лет, проходивших лечение по поводу рецидивирующих острых респираторных инфекций у врачей аллерголога-иммунолога и оториноларинголога. Всем детям проводили исследование антител к *S. pyogenes* с помощью твердофазного иммуноферментного анализа на коммерческих наборах ООО «Иммунотекс» (г. Ставрополь, Россия). Детей, имеющих иммунный ответ по IgG типу к *S. pyogenes*, относили к основной группе (n = 306), а не имеющих его — к контрольной группе (n = 465). В обеих группах проведено генетическое типирование полиморфизмов *IL1B* (+3953, C→T, rs 114634), *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp) и *IL4* (VNTR intron 3, 70 bp) в лаборатории фармакогеномики ИХБФМ СО РАН. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью стандартных генетико-статистических методов, используя пакет прикладных программ «Statistica for WINDOWS 6.0». Для всех исследуемых локусов показано соблюдение равновесия Харди–Вайнберга, что указывало на правомочность исследований ассоциативных связей для отдельных и сочетанных генотипов с сенсибилизацией к антигенам *S. pyogenes*. **Результаты.** Выявили положительные ассоциации с сенсибилизацией к антигенам *S. pyogenes* для отдельных генотипов: *IL1B* (+3953, C→T)*C,T (52,6% в опытной группе против 39,8% в группе сравнения, p = 0,001; OR = 2,02; CI(99%) 0,47–5,93), *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,5r (7,19% в опытной группе, против 1,29% в контроле, p = 0,001; OR = 5,59; CI(99%) 1,58–19,77), *IL4* (VNTR intron 3, 70 bp)*2r,2r (6,86% в опытной группе, против 3,01% в контроле, p = 0,05; OR = 2,34; CI(99%) 0,66–8,29); а также для сочетанных генотипов: *IL1B* (+3953, C→T)*C,C/*IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,4r/*IL4* (VNTR intron 3, 70 bp)*2r,2r (OR = 46,15); *IL1B* (+3953, C→T)*T,T/*IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp)*4r,4r/*IL4* (VNTR

Адрес для переписки:

Шабалдин Андрей Владимирович
650002, Россия, Кемерово, Сосновый бульвар, 6,
ФГБНУ НИИ комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний.
Тел.: (3842) 39-64-29 (служебн.); 8 951 163-90-11 (моб.).
E-mail: weit2007@ya.ru

Contacts:

Andrey V. Shabaldin
650002, Russian Federation, Kemerovo, Sosnovy blvd., 6,
Scientific Research Institute for Complex Issues
of Cardiovascular Diseases.
Phone: +7 (3842) 39-64-29 (office); +7 951 163-90-11 (mobile).
E-mail: weit2007@ya.ru

Библиографическое описание:

Шабалдин А.В., Шабалдина Е.В., Рязанцев С.В., Симбирцев А.С.
Полиморфизм генов семейства интерлейкина 1 и интерлейкина 4 при
сенсибилизации детей раннего и дошкольного возраста к *Streptococcus*
pyogenes // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 45–54.
doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-45-54

Citation:

Shabaldin A.V., Shabaldina E.V., Ryazantsev S.V., Simbirtsev A.S. Interleukin 1
and interleukin 4 genes polymorphism associated with early and preschool
age children sensitization to *Streptococcus pyogenes* // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 1,
pp. 45–54. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-45-54

*intron 3, 70 bp)*2r,3r (OR = 8,82) и IL1B (+3953, C→T)*C,T/IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,2r/IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*3r,3r (OR = 7,23). Выводы.* Принимая во внимание высокое отношение шансов (OR = 46,15) для *IL1B (+3953, C→T)*C,C/IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,4r/IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*2r,2r*, расценили, что данный сочетанный генотип является основным маркером чувствительности и нарушения иммунной толерантности к *S. pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста. Таким образом, в данном исследовании доказана ассоциативная связь между полиморфизмами генов провоспалительных и проаллергических цитокинов и аутоиммунной, и аллергической патологией.

Ключевые слова: сенсibilизация к *Streptococcus pyogenes*, полиморфизм *IL1B (+3953, C→T, rs 114634)*, полиморфизм *IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*, полиморфизм *IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*.

INTERLEUKIN 1 AND INTERLEUKIN 4 GENES POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH EARLY AND PRESCHOOL AGE CHILDREN SENSITIZATION TO *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

Shabaldin A.V.^a, Shabaldina E.V.^b, Ryazantsev S.V.^{c,d}, Simbirtsev A.S.^d

^a Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

^b Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russian Federation

^c St. Petersburg Research Institute of Ear, Throat, Nose and Speech, St. Petersburg, Russian Federation

^d Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. *Background.* *Streptococcus pyogenes* infection and sensitization to its antigens is considered to be an unfavorable factor for the induction of rheumatic pathology. The search for genetic predictors of rheumatic diseases in general, and sensitization to *S. pyogenes*, in particular, is of high relevance in modern medicine. *Objective.* To study the associations between interleukin 1 and interleukin 4 gene polymorphisms and the development of sensitization to antigens of *S. pyogenes* in toddlers and preschool children. *Materials and methods.* 771 children aged 2–6 years with recurrent acute respiratory tract infections treated by allergist-immunologist and otorhinolaryngologist were included in the study. Antibodies against *S. pyogenes* were determined by ELISA using commercial kits “Immunoteks” (Stavropol, Russia) in all children. Children with IgG immune response to *S. pyogenes* were assigned to the study group (n = 306), whereas children without this response were assigned to the control group (n = 465). Both groups underwent gene typing of *IL1B (+3953, C→T, rs 114634)*, *IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)* and *IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)* gene polymorphisms in the Laboratory for Pharmacogenomics, ICBFM SB RAS. The data were processed using routine statistical methods for genetic analysis and the statistical software package Statistica 6.0. There were no deviations from Hardy–Weinberg equilibrium across all loci, suggesting validity of association studies between individual and combined genotypes and sensitization to antigens of *S. pyogenes*. *Results.* Positive association between sensitization to antigens of *S. pyogenes* and individual genotypes have been found: *IL1B (+3953, C→T)*C,T* (52.6% in the study group vs. 39.8% in the control group, p = 0.001; OR = 2.02; CI(99%) 0.47–5.93), *IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,5r* (7.19% in the study group vs. 1.29% in the control group, p = 0.001; OR = 5.59; CI(99%) 1.58–19.77), *IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*2r,2r* (6.86% in the study group vs 3.01% in the control group, p = 0.05; OR = 2.34; CI(99%) 0.66–8.29); as well as for combined genotypes: *IL1B (+3953, C→T)*C,C / IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,4r / IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*2r,2r* (OR = 46.15); *IL1B (+3953, C→T)*T,T / IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*4r,4r / IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*2r,3r* (OR = 8.82) and *IL1B (+3953, C→T)*C,T / IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,2r / IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*3r,3r* (OR = 7.23). *Conclusion.* High odds ratio (OR = 46.15) for *IL1B (+3953, C→T)*C,C / IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,4r / IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*2r,2r* suggests that combined genotype is a main marker of sensitivity and impaired immune tolerance to *S. pyogenes* in toddlers and preschool children. Thus, this study has confirmed the association between gene polymorphisms, and pro-inflammatory and proallergic cytokines, and autoimmune and allergic diseases.

Key words: *Streptococcus pyogenes* sensitization, polymorphism *IL1B (+3953, C→T, rs 114 634)*, polymorphism *IL1Ra (VNTR, intron 2, 89 bp)*, polymorphism *IL4 (VNTR intron 3, 70 bp)*.

Введение

Известно, что *Streptococcus pyogenes* относится к видам стрептококков, которые могут самостоятельно вызвать инфекционный процесс, а также являются причиной постинфекционных осложнений, таких как ревматическая болезнь и постстрептококковый гломерулонефрит [16, 19]. В то же время встречается бессимптомное носительство данного

микроорганизма [20]. Ранее проведенные исследования показали, что у детей дошкольного возраста с острыми рецидивирующими респираторными инфекциями и с сенсibilизацией к *S. pyogenes* имеют место выраженные иммунопатологические реакции, которые могут определять развитие иммунокомплексного заболевания [6]. Тем самым было показано, что наличие сенсibilизации к данному микроорганизму является предиктором ревматических

заболеваний [6, 14]. Исходя из того, что иммунные нарушения носят конституциональный характер, необходимо определиться с возможными иммуногенетическими маркерами этой предрасположенности. Широко исследуемые полиморфизмы *IL1B*(+3953, C→T), *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp) и *IL4* (VNTR intron 3, 70 bp) показали положительные ассоциативные связи с аутоиммунными, инфекционными заболеваниями, а также с приобретенными пороками митрального клапана после ревматической болезни [3, 17, 24]; поэтому они могли быть и маркерами нарушения иммунной толерантности к *S. pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста.

Исходя из этого, целью настоящего исследования было изучение полиморфизмов генов семейства интерлейкина 1 (IL-1) и интерлейкина 4 (IL-4) у детей с сенсibilизацией к *S. pyogenes*.

Материалы и методы

Для выполнения поставленной задачи было проведено обследование 771 ребенка в возрастном интервале 2–6 лет, проходивших лечение на клинических базах Кемеровской государственной медицинской академии Минздрава РФ у врачей аллерголога-иммунолога и оториноларинголога. Все дети были обследованы по поводу рецидивирующих острых респираторных инфекций, и, по рекомендации В.Ю. Альбицкого (1986), они относились к группе часто и длительно болеющих детей.

Основным критерием, по которому из общей выборки были сформированы две группы детей, был иммунный ответ по IgG типу к антигенам *S. pyogenes*. Считали, что этот иммунный критерий отражает не только носительство *S. pyogenes*, но и срыв иммунной толерантности на его антигены. Данное исследование проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на коммерческих наборах ООО «Иммунотекс» (г. Ставрополь, Россия). Детей, имеющих иммунный ответ по IgG типу к *S. pyogenes*, относили к основной группе (n = 306), а не имеющих его — к контрольной группе (n = 465).

В обеих группах проведено генетическое типирование полиморфизмов *IL1B* (+3953, C→T, rs 114634), *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp) и *IL4* (VNTR intron 3, 70 bp) в лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН г. Новосибирска (ИХБФМ СО РАН). Исследование полиморфизмов *IL* проводили из аутосомной ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, фланкирующими искомым полиморфным регионом для *IL1Ra* и *IL4*: макросателлитный полиморфизм в пределах второго и третьего интрона соответственно [9].

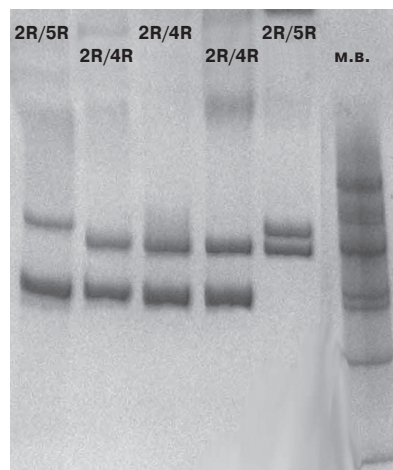


Рисунок 1. Электрофореграмма продуктов амплификации VNTR *IL1Ra* в 6% полиакриламидном геле

Примечание. Дорожки обозначены полученными генотипами (вверху обозначены аллели и маркер молекулярного веса (м.в.) ДНК плазмиды pBluscriptSKII, гидролизованной эндонуклеазой рестрикции MspI).

Для SNP *IL1B* (+3953, C→T) первично проводили амплификацию участка гена, содержащего данную мутацию. Для этого использовали фланкирующие праймеры. Далее использовали топическую рестрикцию рестриктазой TaqI. Электрофорезы продуктов амплификации различных аллелей исследуемых генов представлены на рисунках 1–3. Все тест-системы разработаны и адаптированы в ИХБФМ СО РАН. Все этапы генотипирования выполнялись согласно инструкциям, прилагаемым к наборам. Документацию полученных результатов проводили с помощью электрофореза продуктов амплификации в 6% полиакриламидном геле.

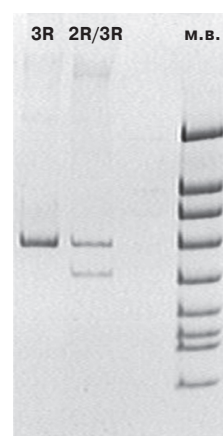


Рисунок 2. Электрофореграмма продуктов амплификации VNTR *IL4* в 6% полиакриламидном геле

Примечание то же, что и к рис. 1.

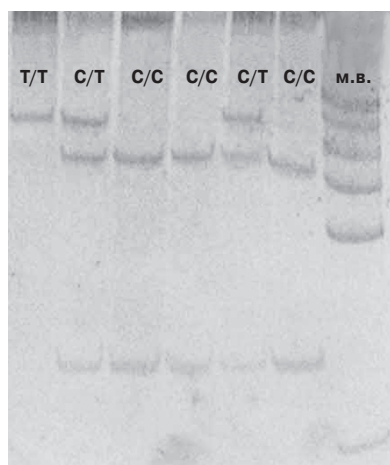


Рисунок 3. Электрофореграмма продуктов рестрикции *IL1B* (+3953) в 6% полиакриламидном геле

Примечание то же, что и к рис. 1.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью стандартных генетико-статистических методов, используя пакет прикладных программ «Statistica for Windows 6.0» [4]. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга с помощью точного теста Фишера [1] и G-модифицированного критерия, используемого для низкополиморфных локусов [1]. Ожидаемую гетерозиготность рассчитывали по П. Неи [26]. Для сравнения частот генотипов между различными группами использовали критерий хи-квадрат с поправкой Йетса на непрерывность. Об ассоциации разных генотипов, их комбинаций с заболеваниями судили по ве-

личине отношения шансов (odds ratio, OR) [27]. Рассчитывали его доверительный интервал (CI) при 95% уровне значимости. Считали ассоциацию положительной, если OR был больше 2. Результаты считали достоверными при ошибке менее 5%, что соответствует медико-биологическим исследованиям [2].

Результаты

Проведенное исследование показало, что у детей раннего и дошкольного возраста Кемеровской области мажорным генотипом полиморфизма *IL1B* (+3953, C→T) был гетерозиготный генотип *IL1B* (+3953, C→T)*C,T, который встречался у 44,9% обследуемых. Гомозиготный генотип *IL1B* (+3953, C→T)*C,T выявлялся у 41,5% детей. Минорным генотипом для этой когорты был *IL1B* (+3953, C→T)*T,T, встречающийся в выборке с частотой 13,6%. Изучение соответствия распределения генотипов *IL1B* (+3953, C→T) ожидаемым при равновесии Харди–Вайнберга показало отсутствие достоверно значимых различий ($p > 0,05$).

Для полиморфизма *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp) доминантным генотипом был *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,4r, который в группе детей раннего и дошкольного возраста Кемеровской области был представлен частотой 44,7%. Вторым по значимости был гомозиготный генотип *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp)*4r,4r; его частота равнялась 36,3%. Далее представлены генотипы в порядке убывания их частот: *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,2r (13,1%), *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp)*2r,5r (3,6%), *IL1Ra* (VNTR, intron 2, 89 bp)*3r,4r (2,2%). Изучение соответствия распределения генотипов *IL1Ra* (VNTR,

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМОВ *IL1B* (+3953, C→T), *IL1Ra* (VNTR, Intron 2, 89 bp) И *IL4* (VNTR Intron 3, 70 bp) У ДЕТЕЙ СЕРОПОЗИТИВНЫХ (STR+) И СЕРОНЕГАТИВНЫХ (STR-) К АНТИГЕНАМ *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

Генотипы	Пациенты Str+, n = 306		Пациенты Str-, n = 465		p	OR	CI(99%)
	абс.	%	абс.	%			
<i>IL1B</i> (+3953, C→T)							
C,C	112	36,61	208	44,73	0,05	0,71	0,202–2,561
C,T	161	52,61	185	39,78	0,001	2,19	0,475–5,935
T,T	33	10,78	72	15,48	> 0,05		
<i>IL1Ra</i> (VNTR, intron 2, 89 bp)							
2r,2r	36	11,76	65	13,97	> 0,05		
2r,4r	135	44,11	210	45,16	> 0,05		
2r,5r	22	7,18	6	1,29	0,001	5,59	1,581–19,77
3r,4r	3	0,98	14	3,01	> 0,05		
4r,4r	110	35,95	170	36,56	> 0,05		
<i>IL4</i> (VNTR intron 3, 70 bp)							
2r,2r	21	6,86	14	3,01	< 0,05	2,34	0,66–8,29
2r,3r	82	26,79	171	36,77	< 0,05	0,63	0,178–2,232
3r,3r	203	66,34	280	60,22	> 0,05		

intron 2, 89 bp) ожидаемым при равновесии Харди–Вайнберга показало отсутствие достоверно значимых различий ($p > 0,05$).

Анализ распределения частот генотипов *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*) в выборке детей раннего и дошкольного возраста Кемеровской области показал, что основным генотипом в выборке был *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*3r,3r (62,6%). Генотип *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,2r встречался с частотой 4,5%, а генотип *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,3r — с частотой 32,8%. Сравнение частот наблюдаемых генотипов с ожидаемыми, с учетом равновесия Харди–Вайнберга, показало отсутствие между ними достоверно значимых различий ($p > 0,05$). Тем самым для всех исследуемых локусов показано соблюдение равновесия Харди–Вайнберга, что указывает на правомочность исследований ассоциаций отдельных и сочетанных генотипов с сенсibilизацией к антигенам *S. pyogenes*. Принимая во внимание, что полиморфные варианты исследуемых генов кодоминантно детерминируют функцию и синтез соответствующих цитокинов, провели сравнение частоты встречаемости этих генотипов (в опытной и контрольной группах) с позиции кодоминантного наследования.

Сравнение распределения частот генотипов *IL1B* (+3953, C→T) в группе детей, имеющих сенсibilизацию к антигенам *S. pyogenes*, с частотами генотипов этого полиморфизма у детей серонегативных по отношению к антигенам *S. pyogenes*, показало ряд достоверно значимых различий (табл. 1). У детей с сенсibilизацией к *S. pyogenes* достоверно чаще, чем у детей без этой сенсibilизации, встречались: генотип *IL1B* (+3953, C→T)*C,T (52,6% в опытной группе против 39,8% в группе сравнения, $p = 0,001$; OR = 2,02; CI(99%) 0,47–5,93). В то же время, гомозиготный генотип *IL1B* (+3953, C→T)*C,C достоверно реже встречался в основной груп-

пе по отношению к группе сравнения (36,6% в опытной группе против 44,7% в группе сравнения, $p < 0,05$; OR = 0,71; CI(99%) 0,20–2,56).

Сравнение распределения частот генотипов *IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*) в группе детей, имеющих сенсibilизацию к антигенам *S. pyogenes*, с частотами генотипов этого полиморфизма у детей, серонегативных по отношению к антигенам *S. pyogenes*, показало одно достоверно значимое различие (табл. 1). Так, генотип *IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*2r,5r достоверно чаще встречался в опытной группе по сравнению с группой сравнения (7,19% в опытной группе против 1,29% в контроле, $p = 0,001$; OR = 5,59; CI(99%) 1,58–19,77). Других достоверных различий по распределению частот генотипов между опытной и контрольной группами не получено.

Как видно из таблицы 1, генотип *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,2r достоверно чаще встречался у детей опытной группы, чем у обследованных группы сравнения (6,86% в опытной группе, против 3,01% в контроле, $p = 0,05$; OR = 2,34; CI(99%) 0,66–8,29). В опытной группе выявлен достоверно значимый дефицит (по отношению к группе сравнения) генотипа *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,3r (26,79% в опытной группе, против 36,77% в контроле, $p = 0,05$; OR = 0,63; CI(99%) 0,17–2,23).

На следующем этапе было проведено сравнение частот встречаемости сочетанных генотипов полиморфизмов *IL1B* (+3953, C→T), *IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*) и *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*). Полученные данные представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, три сочетанных генотипа имеют достоверно значимые положительные ассоциации с серопозитивностью к антигенам *S. pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста. Так, генотип *IL1B* (+3953, C→T)*C,C/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*2r,4r/*IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,2r встречался у 14 де-

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ СОЧЕТАННЫХ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМОВ *IL-1B* (+3953, C→T), *IL-1RA* (*VNTR, Intron 2, 89 bp*) И *IL-4* (*VNTR Intron 3, 70 bp*) У ДЕТЕЙ СЕРОПОЗИТИВНЫХ (STR+) И СЕРОНЕГАТИВНЫХ (STR-) К АНТИГЕНАМ *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

<i>IL1B</i> (+3953, C→T)/ <i>IL1Ra</i> (<i>VNTR, intron 2, 89 bp</i>)/ <i>IL4</i> (<i>VNTR intron 3, 70 bp</i>)	Пациенты Str+, n = 306		Пациенты Str–, n = 465		p	OR	CI(99%)
	абс.	%	абс.	%			
C,C/2r,2r/2r,3r	0	0,00	21	4,52	$p = 0,001$	0,03	0,01–0,12
C,C/2r,4r/2r,3r	6	1,96	32	6,88	$p = 0,01$	0,29	0,082–1,02
C,C/2r,4r/2r,2r	14	4,58	0	0,00	$p = 0,001$	46,15	13,05–163,15
C,C/4r,4r/3r,3r	21	6,86	63	13,55	$p = 0,01$	0,48	0,14–1,69
T,T/2r,4r/2r,3r	0	0,00	14	3,01	$p = 0,01$	0,05	0,01–0,18
T,T/4r,4r/2r,3r	8	2,61	1	0,22	$p = 0,01$	8,82	2,49–31,18
C,T/2r,2r/3r,3r	28	9,15	6	1,29	$p = 0,001$	7,23	2,05–25,58
C,T/2r,2r/2r,3r	0	0,00	13	2,79	$p = 0,01$	0,05	0,02–0,19
C,T/2r,4r/2r,3r	0	0,00	27	5,81	$p = 0,001$	0,03	0,01–0,09

Примечание. Представлены данные о достоверно значимых различиях.

тей с сероконверсией к антигенам *S. pyogenes*, в то время как у детей без сенсибилизации к антигенам *S. pyogenes* этот генотип не встречался (4,58% в опытной группе против 0,00% в контроле, $p = 0,001$; $OR = 46,15$; $CI(99\%) 13,05-163,15$). Для данного генотипа получено максимальное по величине соотношение шансов ($OR = 46,15$). Положительная ассоциация с сенсибилизацией к антигенам *S. pyogenes* была достигнута для генотипов *IL1B* (+3953, C→T)*T,T/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, 89 bp)*4r,4r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, 70 bp)*2r,3r (2,61% в опытной группе против 0,22% в контроле, $p = 0,01$; $OR = 8,82$; $CI(99\%) 2,49-31,18$) и для *IL1B* (+3953, C→T)*C,T/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, 89 bp)*2r,2r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, 70 bp)*3r,3r (9,15% в опытной группе против 1,29% в контроле, $p = 0,001$; $OR = 7,23$; $CI(99\%) 2,05-25,58$).

Отрицательные ассоциации были выявлены для ряда сочетанных генотипов, указанных в таблице 2. Наиболее низкие отношения шансов (выраженная отрицательная ассоциация) имели сочетанные генотипы *IL1B* (+3953, C→T)*C,C/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, 89 bp)*2r,2r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, 70 bp)*3r,3r (0,00% в опытной группе против 4,52% в контроле, $p = 0,001$; $OR = 0,03$; $CI(99\%) 0,01-0,12$), *IL1B* (+3953, C→T)*C,T/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, 89 bp)*2r,4r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, 70 bp)*2r,3r (0,00% в опытной группе против 5,81% в контроле, $p = 0,001$; $OR = 0,03$; $CI(99\%) 0,01-0,09$), *IL1B* (+3953, C→T)*T,T/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, 89 bp)*2r,4r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, 70 bp)*2r,3r (0,00% в опытной группе против 3,01% в контроле, $p = 0,01$; $OR = 0,05$; $CI(99\%) 0,01-0,18$), *IL1B* (+3953, C→T)*C,T/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, 89 bp)*2r,2r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, 70 bp)*2r,3r (0,00% в опытной группе против 2,79% в контроле, $p = 0,01$; $OR = 0,05$; $CI(99\%) 0,02-0,19$), *IL1B* (+3953, C→T)*C,C/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, 89 bp)*2r,4r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, 70 bp)*2r,3r (1,96% в опытной группе против 6,88% в контроле, $p = 0,01$; $OR = 0,29$; $CI(99\%) 0,082-1,02$) и *IL1B* (+3953, C→T)*C,C/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, 89 bp)*4r,4r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, 70 bp)*3r,3r (6,86% в опытной группе против 13,55% в контроле, $p = 0,01$; $OR = 0,48$; $CI(99\%) 0,14-1,69$).

Проведенное исследование показало, что именно для сочетанных генотипов получены максимально выраженные как положительные, так и отрицательные ассоциации с сенсибилизацией *S. pyogenes*.

Обсуждение

Доказано, что в инфицировании детей *S. pyogenes* существенное значение имеет материнское микроокружение. Матери могут быть первичным источником этого микроорганизма для их детей в перинатальном и грудничковом периодах

[23, 33]. В то же время чувствительность и устойчивость к инфицированию ребенка *S. pyogenes* из микро- и макроэкологии связана с функциональной активностью врожденного иммунитета, регулируемой системой интерлейкинов [15]. Активация гуморального иммунного ответа на антигены *S. pyogenes* связана с интерлейкинами Т-хелперов второго типа [15]. Ведущее значение в этой регуляции отводят семейству IL-1 и IL-4 [5]. Показано, что в этом семействе за взаимодействие с рецептором IL-1 конкурируют две молекулы IL-1β и его рецепторный антагонист IL-1Ra. Эти две молекулы функционально взаимосвязаны. IL-1β позиционируется как главный лиганд в семействе IL-1 [10, 18]. Он синтезируется макрофагами и другими антиген-представляющими клетками при индукции последних липолисахаридами, пептидогликанами и другими паттернами, а также при процессинге и презентации антигена лимфоцитам. Именно IL-1β проявляет все основные иммунные функции, так как является главной формой секреторного IL-1, в отличие от IL-1a, преимущественно находящегося в мембранной форме [5]. Недостаток IL-1β может быть причиной развития депрессии врожденного иммунитета.

Arend W. (1998) показал, что IL-1Ra в семействе IL-1 является основным конкурентным лигандом IL-1β и имеет с ним 26% гомологию в аминокислотной последовательности [7]. Синтез IL-1Ra связан с теми же факторами индукции, что и IL-1β, и конкурирует с ним за одни и те же рецепторы. Изменения в строении IL-1Ra, по сравнению с молекулами IL-1a и IL-1β, привели к утрате способности к проведению сигнала, но сохранили возможность высокоаффинного связывания с рецепторами [9]. Именно это свойство и обуславливает уникальную для биологии цитокинов ситуацию существования рецепторного антагониста IL-1 как естественно-го специфичного ингибитора активности IL-1. Мао Х. и соавт. (2000) показали, что концентрации IL-1β и IL-1Ra отрицательно коррелируют: чем ниже уровень в периферической крови IL-1β, тем выше IL-1Ra [22]. Более того, Konwar R. (2008) показал, что IL-1Ra оказывает не только прямое негативное влияние на синтез IL-1β, но и опосредовано положительно влияет на индукцию IL-4 [21]. Тем самым высокий уровень IL-1Ra ограничивает функциональную активность IL-1β и вызывает иммунопарез.

Рассматривая с этих позиций исследуемые полиморфизмы генов *IL1B* и *IL-1Ra*, необходимо определить их влияние на синтез и функциональную активность кодируемых ими молекул. Показано, что макросателлитные повторы в интронной части гена оказывают влияние на транскрипцию гена и, тем самым, на активность синтеза интерлейкина;

точковые замены в экзоне определяют функциональную активность сигнальной молекулы, а замены в промоторе определяют быстроту реагирования [29].

Полиморфизм *IL1B**(+3953, C→T) связан с нуклеотидной заменой цитозина на тимин в 5 экзоне гена. Показано, что гомозиготность и гетерозиготность индивидуумов по T-аллелю *IL1B**(+3953, C→T) связана с увеличенной продукцией белка IL-1β моноцитами крови в сравнении с индивидуумами, гомозиготными по C-аллелю [8, 12, 13, 24]. Генотипы *IL1B**(+3953, C→T)*T,T и C,T относят к высокопродуктивным вариантам гена *IL1B*. Обнаружено, что пациенты с ранним возрастом атаки ревматоидного артрита чаще экспрессировали гетерозиготный по высокопродуктивному аллелю T-генотип (C,T), в то время как пациенты с поздним возрастом атаки ревматоидного артрита чаще экспрессировали C,C-генотип [17].

Рассматривая интронный макросателлитный полиморфизм, в частности для 2 интрона гена *IL1Ra*, необходимо отметить, что регуляторная активность интронного участка гена проявляется в транскрипционной активности и стабильности матричной РНК [25]. Аллель с меньшим числом tandemных повторов определяет более высокий уровень транскрипционной активности, сплайсинга и стабильность матричной РНК (мРНК), по сравнению с аллелями с большим числом tandemных повторов. В соответствии с этой теорией, уровень экспрессии IL-1Ra напрямую связан с количеством tandemных повторов в интронной области гена. Индивидуумы с генотипом *IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, *86 bp*)*2r,2r имеют всегда более высокий уровень выработки данного рецепторного антагониста по отношению к другим генотипам. Соответственно, аллели с четырьмя tandemными повторами будут способствовать ограничению выработки IL-1Ra. Было показано, что высокая концентрация вагинального белка IL-1Ra наблюдалась у беременных женщин с генотипом *IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, *86 bp*)*2r,2r, а низкая — у беременных женщин с генотипом *IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, *86 bp*)*4r,4r [18]. Кроме того, гомозиготность по *IL1Ra**2R аллелю является неблагоприятным фактором, так как доказана роль этого генотипа в детерминировании аутоиммунной патологии: инсулинзависимого сахарного диабета, рассеянного склероза, системной красной волчанки, миастении гравис [32].

Учитывая вышеприведенные данные об отрицательной корреляции уровней в периферической крови IL-1β и IL-1Ra, можно говорить о том, что высокопродуктивные варианты гена *IL1Ra* влияют не только на синтез этой молекулы, но и на синтез IL-1β. Santtila S. с соавт. (1998) отмечают, что аллели полиморфизма

IL1Ra (*VNTR*, *intron 2*, *86 bp VNTR*) неравновесно сцеплены с аллелями *IL1B* и через это влияют на уровень этого цитокина в периферической крови [30]. По мнению Witkin S.S. с соавт., низкая концентрация IL-1β обусловлена конкурентным IL-1Ra, активно синтезируемым индивидуумами с генотипом *IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, *86 bp*)*2r,2r [32]. Рассматривая взаимодействие *IL1Ra* и *IL1B*, авторы отмечают, что избыток IL-1Ra и недостаток IL-1β могут быть важными факторами в развитии частичного иммунопареза. В то же время генотип *IL1Ra**4r,4r, связанный с низкой выработкой антагониста и высокой выработкой агониста, будет ассоциирован с пролонгированным воспалением за счет провоспалительных свойств самого IL-1β [12, 28].

Значимость макросателлитного полиморфизма в третьем интроне гена *IL4* в его активации до сих пор не ясна. Предполагается, что определенное число копий этого макросателлитного повтора связаны с функциональным вариантом гена *IL4*, детерминирующим различные уровни биологической активности этого цитокина (по аналогии с интронным полиморфизмом гена *IL1Ra*). Аллель с меньшим числом tandemных повторов, в частности *IL4**2r, определяет более высокий уровень транскрипционной активности, сплайсинга и стабильность матричной РНК (мРНК) по сравнению с аллелями с большим числом tandemных повторов (*IL4**3r). Это подтверждается ассоциациями аллеля *IL4**2r с рядом аутоиммунных заболеваний, среди которых высокая гуморальная активность является ведущим патогенетическим звеном [25]. Кроме того, отдельными исследователями сообщается об относительно существующей неравновесной связи между аллелем *IL4**2r 2-го интрона и T-аллелем в позиции (-590) промоторного региона гена *IL4*. Этот гаплотип чаще встречался при аутоиммунной патологии (ревматоидном артрите и системной красной волчанке) [11, 25].

Рассматривая полученные ассоциации между полиморфными локусами генов *IL1B*, *IL1Ra* и *IL4* и сероконверсией к антигенам *S. pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста Кемеровской области, выявили, что значимые ассоциации (с высоким OR) были получены для сочетанных генотипов. Это доказывает роль межгенных взаимодействий в детерминировании инфицирования детей *S. pyogenes* и срыва у них иммунной толерантности к его антигенам. Для сочетанного генотипа *IL1B* (+3953, C→T)*C,C/*IL1Ra* (*VNTR*, *intron 2*, *89 bp*)*2r,4r/*IL4* (*VNTR* *intron 3*, *70 bp*)*2r,2r было получено самое высокое отношение шансов (OR = 46,15). Но с позиции детерминирования полиморфными локусами синтеза и функциональной активности цитокинов, можно выделить лишь гомозиготный генотип

IL4 (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,2r, входящий в состав этого сочетанного генотипа. Как уже говорилось выше, генотип с двумя тандемными повторами в интроне способствует активному синтезу IL-4. Кроме того, аллель 2г неравновесно сцеплена с Т-аллелем в позиции (-590) промоторного региона гена *IL4*, который также способствует активному синтезу этой молекулы. В целом высокая активность IL-4 способствует срыву иммунной толерантности на антигены *S. pyogenes*. Также и отдельно для этого генотипа *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,2r показана положительная ассоциация с сенсибилизацией на антигены *S. pyogenes* (OR = 2,34). Сочетанный генотип *IL1B* (+3953, C→T)*T,T/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*4r,4r/*IL4*(*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,3r детерминировал чувствительность к *S. pyogenes* за счет генетически обусловленного высокого синтеза IL-1β (генотип *IL1B* (+3953, C→T)*T,T и генотип *IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*4r,4r), который определяет пролонгацию воспалительного процесса. Другой сочетанный генотип *IL1B* (+3953, C→T)*C,T/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*2r,2r/*IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*3r,3r через кодоминантное влияние на синтез IL-1β аллелями С и Т полиморфизма *IL1B* (+3953, C→T), а также через детерминирования активного синтеза IL-1Ra гомозиготным генотипом *IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*2r,2r определял дискоординацию синтеза IL-1β, что могло быть звеном патогенеза развития сенсибилизации к антигенам *S. pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста. Надо отметить, что для изолированного генотипа *IL1B* (+3953, C→T)*C,T получена положительная достоверная ассоциация с серопозитивностью к антигенам *S. pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста (OR = 2,19). Анализ изолированных генотипов *IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*) показал значимость гетерозиготного генотипа с аллелем 2г и 5г (OR = 5,59). Как уже говорилось выше, аллель 2г ассоциирован с высоким синтезом IL-1Ra, а аллель 5г, — напротив — с низкой экспрессией этого цитокина (ниже популяционного, определяющего аллелем 4r). Учитывая кодоминантное влияние на синтез IL-1Ra аллелей 2г и 5г, можно постулировать, что чувствительность этих детей к *S. pyogenes* связана с дискоординацией синтеза IL-1Ra — ведущей регуляторной молекулы семейства IL-1.

Проведенные исследования показали, что протективными (в отношении сенсибилизации к антигенам *S. pyogenes*) изолированными генотипами были доминантный гомозиготный генотип *IL1B* (+3953, C→T)*C,C, определяющий популяционный синтез IL-1β, и гетерозиготный генотип *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,3r, детерминирующий высокую и низкую экспрессию IL-4. Эти же генотипы входили в состав сочетанных протективных генотипов в отношении сенсибилизации к антигенам *S. pyogenes*.

Заключение

В целом проведенное исследование показало, что предрасположенность детей к сенсибилизации к антигенам *S. pyogenes* связана с полиморфизмом генов семейства интерлейкина 1 и интерлейкина 4, детерминирующих активный синтез этих цитокинов и их высокую функциональную активность. Можно считать, что срыв толерантности у детей раннего и дошкольного возраста к условно-патогенной микрофлоре и, в частности, к *S. pyogenes*, определен генами семейства интерлейкина 1 и 4. Учитывая ранее полученные данные о том, что в группе детей с иммунным ответом к *S. pyogenes* были высокими антитела к стрептолизину, к стрептогиалуронидазе, ЦИК, СРБ и ревматоидный фактор [6], можно говорить, что у них разворачивается индуцированное *S. pyogenes* системное иммунокомплексное воспаление. Соответственно, иммуногенетическими маркерами этого состояния будут сочетанные генотипы: *IL1B* (+3953, C→T)*C,C/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*2r,4r/*IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,2r (OR = 46,15); *IL1B* (+3953, C→T)*T,T/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*4r,4r/*IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,3r (OR = 8,82) и *IL1B* (+3953, C→T)*C,T/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*2r,2r/*IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*3r,3r (OR = 7,23).

Выводы

1. Развитие чувствительности и нарушения иммунной толерантности к *S. pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста ассоциировано с полиморфными вариантами генов семейства интерлейкина 1 и интерлейкина 4.
2. Полиморфизмы *IL1B* (+3953, C→T), *IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*) и *IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*) ассоциированы с развитием сенсибилизации к антигенам *S. pyogenes*, а также с системным иммунокомплексным воспалением.
3. Выявленные сочетанные генотипы: *IL1B* (+3953, C→T)*C,C/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*2r,4r/*IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,2r (OR = 46,15); *IL1B* (+3953, C→T)*T,T/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*4r,4r/*IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*2r,3r (OR = 8,82) и *IL1B* (+3953, C→T)*C,T/*IL1Ra* (*VNTR, intron 2, 89 bp*)*2r,2r/*IL4* (*VNTR intron 3, 70 bp*)*3r,3r (OR = 7,23), предрасполагающие к развитию сенсибилизации на антигены *S. pyogenes*, можно использовать для прогнозирования риска формирования ревматической патологии у детей.

Список литературы/References

1. Вейр Б. Анализ генетических данных: дискретные генетические признаки. М.: Мир, 1995. 213 с. [Veir B. Analiz geneticheskikh dannykh: diskretnye geneticheskie priznaki [Analysis of genetic data: discrete genetic traits]. Moscow: Mir, 1995, 215 p.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometriya [Biometrics]. Moscow: Vysshaya shkola, 1990, 352 p.
3. Понасенко А.В., Головкин А.С., Шабалдин А.В., Цепочкина А.В. Особенности распределения частот интронных полиморфизмов IL-1RaVNTR и IL-4VNTR при ревматических пороках митрального клапана сердца у европеоидов Сибири // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 2. С. 151–158. [Ponassenko A.V., Golovkin A.S., Shabaldin A.V., Tsepokina A.V. Frequency distribution of intronic polymorphisms of IL-1raVNTR and IL-4VNTR in rheumatic mitral valve disease in caucasian population of Siberia. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, vol. 17, no. 2, pp. 151–158. doi: 10.15789/1563-0625-2015-2-151-158 (In Russ.)]
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера, 2002. 304 с. [Rebrova O.Yu. Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh: primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data: the use of the application package STATISTICA]. Moscow: Media Sfera, 2002, 304 p.
5. Симбирцев А.С. Роль цитокинов в регуляции эмбрионального развития и формировании первичных иммунодефицитов // Российский иммунологический журнал. 2005. Т. 9, № 2. С. 12–14. [Simbirtsev A.S. The role of cytokines in the regulation of embryonic development and the formation of primary immunodeficiencies. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal = Russian Immunological Journal*, 2005, vol. 9, no. 2, pp. 12–14. (In Russ.)]
6. Шабалдина Е.В., Шабалдин А.В., Тюменев А.В., Рязанцев С.В., Симбирцев А.С. Сенсibilизация к *Streptococcus pyogenes* у детей раннего и дошкольного возраста с рецидивирующими острыми респираторными инфекциями – предиктор ревматической патологии // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 2. С. 157–164. [Shabaldina E.V., Shabaldin A.V., Tyumenev A.V., Ryazantsev S.V., Simbirtsev A.S. Sensitization to *Streptococcus pyogenes* at children of early and preschool age with recurrent respiratory infections – predictors of rheumatic pathology. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 157–164. doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-157-164 (In Russ.)]
7. Arend W.P., Malyak M., Guthridge C.J. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu. Rev. Immunol.*, 1998, vol. 16, pp. 27–55.
8. Asensi V., Rego C., Montes A.H., Collazos J., Carton J.A., Castro M.G., Alvarez V., Fernández C., Maradona J.A., Valle-Garay E. IL-1beta (+3954C/T) polymorphism could protect human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients on highly active antiretroviral treatment (HAART) against lipodystrophic syndrome. *Genet. Med.*, 2008, vol. 10, no. 3, pp. 215–223. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181632713
9. Auron P.E. The interleukin 1 receptor: ligand interactions and signal transduction. *Cytokine Growth Factor. Rev.*, 1998, vol. 9, no. 3–4, pp. 221–237.
10. Bellamy R., Ruwende C., Corrah T., McAdam K.P., Whittle H.C., Hill A.V. Assessment of the interleukin 1 gene cluster and other candidate gene polymorphisms in host susceptibility to tuberculosis. *Tuber. Lung Dis.*, 1998, vol. 79, no. 2, pp. 83–89.
11. Breit S., Steinhoff M., Blaser K., Heusser C.H., Sebald W., Levine A.D., Röcken M. A strict requirement of interleukin-4 for interleukin-4 induction in antigen-stimulated human memory T cells. *Eur. J. Immunol.*, 1996, vol. 26, no. 8, pp. 1860–1865.
12. Chakravorty M., Ghosh A., Choudhury A., Santra A., Hembrum J., Roychoudhury S. Ethnic differences in allele distribution for the IL8 and IL1B genes in populations from eastern India. *Hum. Biol.*, 2004, vol. 76, no. 1, pp. 153–159.
13. Chakravorty M., Ghosh A., Choudhury A., Santra A., Hembrum J., Roychoudhury S. Interaction between IL1B gene promoter polymorphisms in determining susceptibility to *Helicobacter pylori* associated duodenal ulcer. *Hum. Mutat.*, 2006, vol. 27, no. 5, pp. 411–419.
14. Dale J.B., Niedermeyer Sh.E., Agbaosi T., Hysmith N.D., Penfound Th.A., Hohn Cl.M., Pullen M., Bright M.I., Murrell D.S., Shenep L.E., Courtney H.S. Protective immunogenicity of group A streptococcal M-related proteins. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2015, vol. 22, no. 3, pp. 344–355. doi: 10.1128/CVI.00795-14
15. Daniel C., Repa A., Wild C., Pollak A., Pot B., Breiteneder H., Wiedermann U., Mercenier A. Modulation of allergic immune responses by mucosal application of recombinant lactic acid bacteria producing the major birch pollen allergen Bet v 1. *Allergy*, 2006, vol. 61, no. 7, pp. 812–819.
16. Dinkla K., Rohde M., Jansen W.T.M., Kaplan E.L., Chhatwal G.S., Talay S.R. Rheumatic fever-associated *Streptococcus pyogenes* isolates aggregate collagen. *J. Clin. Invest.*, 2003, vol. 111, no. 12, pp. 1905–1912.
17. Genevay S., Di Giovine F.S., Perneger T.V., Silvestri T., Stingelin S., Duff G., Guerne P.A. Association of interleukin-4 and interleukin-1B gene variants with Larsen score progression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2002, vol. 47, no. 3, pp. 303–309.
18. Hurme M., Santilla S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes. *Eur. J. Immunol.*, 1998, vol. 28, no. 8, pp. 2598–2602.
19. Lamagni Th. L., Neal Sh., Keshishian C., Alhaddad N., George R., Duckworth G., Vuopio-Varkila J., Efstratiou A. Severe *Streptococcus pyogenes* infections, United Kingdom, 2003–2004. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, vol. 14, no. 2, pp. 201–209. doi: 10.3201/eid1402.070888.
20. Luca-Harari B., Darenberg J., Neal Sh., Siljander T., Strakova L., Tanna A., Creti R., Ekelund K., Koliou M., Tassios P.T., Van der Linden M., Straut M., Vuopio-Varkila J., Bouvet A., Efstratiou A., Schalén C., Henriques-Normark B., Strep-EURO Study Group, Jasir A. Clinical and microbiological characteristics of severe *Streptococcus pyogenes* disease in Europe. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, vol. 47, no. 4, pp. 1155–1165. doi: 10.1128/JCM.02155-08
21. Luckey T.D. Overview of gastrointestinal microecology. *Nahrung*, 1987, vol. 31, no. 5–6, pp. 359–364.
22. Mao X.Q., Kawai M., Yamashita T., Enomoto T., Dake Y., Sasaki S., Kataoka Y., Fukuzumi T., Endo K., Sano H., Aoki T., Kurimoto F., Adra C.N., Shirakawa T., Hopkin J.M. Imbalance production between interleukin-1beta (IL-1beta) and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) in bronchial asthma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000, vol. 276, no. 2, pp. 607–612.

23. Mead Ph.B. Vaginal-rectal colonization with group A streptococci in late pregnancy. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, 2000, vol. 8, no. 5–6, pp. 217–219.
24. Moravej A., Rasouli M., Kalani M., Asaei S., Kiany S., Najafipour S., Koohpayeh A., Abdollahi A. IL-1b (–511T/C) gene polymorphism not IL-1b (+3953T/C) and LT-a (+252A/G) gene variants confers susceptibility to visceral leishmaniasis. *Mol. Biol. Rep.*, 2012, vol. 39, no. 6, pp. 6907–6914. doi: 10.1007/s11033-012-1517-z
25. Mout R., Willemze R., Landegent J.E. Repeat polymorphisms in the interleukin-4 gene (IL4). *Nucleic Acids Res.*, 1991, vol. 19, no. 13:3763.
26. Nei M. Genetic distance between populations. *Amer. Nat.*, 1972, vol. 106, pp. 283–292.
27. Pearce N. What does the odds ratio estimate in a case-control study? *Int. J. Epidemiol.*, 1993, vol. 22, no. 6, pp. 1189–1192.
28. Pociot F., Mølviq J., Wogensen L., Worsaae H., Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1992, vol. 22, no. 6, pp. 396–402.
29. Rasouli M., Kiany S. Association of interferon-gamma and interleukin-4 gene polymorphisms with susceptibility to brucellosis in Iranian patients. *Cytokine*, 2007, vol. 38, no. 1, pp. 49–53.
30. Santtila S., Savinainen K., Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scand. J. Immunol.*, 1998, vol. 47, no. 3, pp. 195–198.
31. Vamvakopoulos J.E. The interleukin-1 receptor antagonist gene: a single-copy variant of the intron 2 variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism. *Eur. J. Immunogenet.*, 2002, vol. 29, no. 4, pp. 337–340.
32. Witkin S.S., Gerber W.J. Ledger influence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on disease. *Clin. Infect. Dis.*, 2002, vol. 34, no. 2, pp. 204–209.
33. Yagupsky P., Landau D., Beck A., Dagan R. Carriage of *Streptococcus pyogenes* among infants and toddlers attending day-care facilities in closed communities in southern Israel. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1995, vol. 14, no. 1, pp. 54–58.

Авторы:

Шабалдин А.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела экспериментальной и клинической кардиологии ФГБНУ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово, Россия;

Шабалдина Е.В., к.м.н., доцент, зав. кафедрой оториноларингологии и клинической иммунологии Кемеровской государственной медицинской академии, г. Кемерово, Россия;

Рязанцев С.В., д.м.н., профессор, зам. директора по научной работе Санкт-Петербургского НИИ уха, горла, носа и речи, Санкт-Петербург, Россия;

Симбирцев А.С., д.м.н., профессор, директор ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Shabaldin A.V., PhD, MD (Medicine), Lead Research of Laboratory of Cellular Technologies, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation;

Shabaldina E.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Otorhinolaryngology and Clinical Immunology Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russian Federation;

Ryazantsev S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Scientific Work St. Petersburg Research Institute of Ear, Throat, Nose and Speech, St. Petersburg, Russian Federation;

Simbirtsev A.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Director of the Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 20.10.2015
Отправлена на доработку 15.01.2016
Принята к печати 05.02.2016

Received 20.10.2015
Revision received 15.01.2016
Accepted 05.02.2016

ИЗОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВИРУССПЕЦИФИЧЕСКОГО СИСТЕМНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ, ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ С ГРИППОМ А

В.З. Кривицкая¹, А.А. Васильева¹, Е.М. Войцеховская¹, Е.Р. Петрова¹,
М.М. Писарева¹, Ж.В. Бузицкая¹, Е.А. Елпаева¹, А.А. Го¹, Л.В. Волощук¹,
Н.И. Львов², Т.Д. Смирнова¹, А.А. Соминина¹

¹ ФГБУ НИИ группа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБВОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью работы являлся сравнительный анализ изотипической структуры специфического противовирусного системного гуморального иммунного ответа у госпитализированных пациентов с гриппом, вызванным вирусами А(Н3N2) или А(Н1N1), включая А(Н1N1)pdm09. Методом ИФА были проанализированы парные сыворотки крови, полученные в острый и реконвалесцентный периоды заболевания от 109 взрослых пациентов в возрасте от 18 до 67 лет, перенесших лабораторно установленный грипп А. В качестве антигенов для сенсibilизации твердой фазы в ИФА использовали очищенные фракции поверхностных гликопротеинов вирусов гриппа А различных субтипов, содержащие гемагглютинин и нейраминидазу. Отсутствие консервативных типоспецифичных внутренних белков в антигенном материале позволило проводить в ИФА субтипологическую дифференцировку грипп-специфичных антител. Независимо от субтипа вируса гриппа А, вызвавшего заболевание, наиболее выраженный ответ наблюдали со стороны субтипоспецифичных IgG1 (70–90% сероконверсий). Впервые было показано, что характерной чертой иммунного ответа на вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 как при первичном, так и при повторном заболеваниях, является низкая активность вирусиндуцированных IgG2 (6–9% сероконверсий). В группах пациентов, неоднократно перенесших «сезонный» грипп в 2007–2008 гг. или грипп А(Н3N2) в 2012–2014 гг., частота сероконверсий IgG2 составила 40–59% ($p < 0,05$). Реакция вирусспецифичных IgG3 также была выражена слабее у пациентов с гриппом А(Н1N1)pdm09 (29–44% сероконверсий), чем у пациентов, перенесших грипп А(Н1N1) или А(Н3N2) (65 и 56% сероконверсий соответственно). При гриппе А(Н1N1)pdm09 в реакции микронейтрализации были выявлены значимо более низкие показатели среднегеометрических титров вируснейтрализующих антител в фазе реконвалесценции (1/28 и 1/103 при первичном и повторном заболеваниях), чем у пациентов, переболевших гриппом А(Н1N1) или гриппом А(Н3N2) (СГТ составили 1/594 и 1/378 соответственно). Показано, что поверхностные глико-

Адрес для переписки:

Кривицкая Вера Зорьевна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 15/17,
ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ.
Тел./факс: (812) 499-15-72 (служебн.); 8 (921) 886-37-95 (моб.).
E-mail: vera.kriv@influenza.spb.ru

Contacts:

Vera Z. Krivitskaya
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professor Popov str.,
15/17, Research Institute of Influenza.
Phone/fax: (812) 499-15-72 (office); +7 (921) 886-37-95 (mobile).
E-mail: vera.kriv@influenza.spb.ru

Библиографическое описание:

Кривицкая В.З., Васильева А.А., Войцеховская Е.М., Петрова Е.Р.,
Писарева М.М., Бузицкая Ж.В., Елпаева Е.А., Го А.А., Волощук Л.В.,
Львов Н.И., Смирнова Т.Д., Соминина А.А. Изотипическая структура
вируспецифического системного гуморального иммунного ответа
у взрослых пациентов, госпитализированных с гриппом А // Инфекция
и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 55–66. doi: 10.15789/2220-7619-
2016-1-55-66

Citation:

Krivitskaya V.Z., Vasilieva A.A., Voytsekhovskaya E.M., Petrova E.R.,
Pisareva M.M., Buzitskaya Zh.V., Elpaeva E.A., Go A.A., Voloshchuk L.V.,
Lvov N.I., Smirnova T.D., Sominina A.A. Virus-specific humoral immune
response isotypic structure in adult patients hospitalized with influenza A //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016,
vol. 6, no. 1, pp. 55–66. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-55-66

протеины вирусов гриппа А могут выступать в качестве аллергенов. Частоты сероконверсий вирусспецифических IgE была сопоставима во всех группах пациентов, достигая 25–45%. Выявлена высокая активность вирусспецифических сывороточных IgA в группах пациентов, перенесших грипп А(H3N2) или А(H1N1)pdm09 (60–79% сероконверсий). Таким образом, изучение активности вирусспецифических иммуноглобулинов различных изотипов позволяет получить важную информацию о формировании адаптивного противовирусного иммунного ответа при гриппе А, оценить вклад его протективной и иммунопатогенной составляющих в патогенез заболевания.

Ключевые слова: иммуноферментный анализ, грипп А(H3N2), грипп А(H1N1)pdm09, гуморальный противовирусный иммунитет, изотипы субтипоспецифических иммуноглобулинов, нейтрализующие антитела, взрослые пациенты.

VIRUS-SPECIFIC HUMORAL IMMUNE RESPONSE ISOTYPIC STRUCTURE IN ADULT PATIENTS HOSPITALIZED WITH INFLUENZA A

Krivitskaya V.Z.^a, Vasilieva A.A.^a, Voytsekhovskaya E.M.^a, Petrova E.R.^a, Pisareva M.M.^a, Buzitskaya Zh.V.^a, Elpaeva E.A.^a, Go A.A.^a, Voloshchuk L.V.^a, Lvov N.I.^b, Smirnova T.D.^a, Sominina A.A.^a

^a Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

^b Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of this investigation was a comparative analysis of isotypic structure of specific antiviral systemic humoral immune response in hospitalized patients with influenza caused by virus A(H3N2) or A(H1N1), including the A(H1N1)pdm09. Paired acute and convalescent phase sera from 109 adult patients aged 18 to 67 years with laboratory-confirmed influenza A were analyzed by ELISA. Purified surface glycoproteins of influenza A viruses of different subtypes containing the hemagglutinin and neuraminidase were used as antigen for sensitization of plates in ELISA. The absence of type-specific conserved internal proteins in antigenic material allowed to carry out a subtype-specific differentiation of antibodies against influenza viruses in ELISA. Regardless of the subtype of influenza A viruses caused the disease, the most pronounced response was observed by subtype-specific IgG1 (70–90% of seroconversions). It has been shown for the first time that low activity of virus-induced IgG2 (6–9% of seroconversions) is a peculiarity of the immune response both to primary or recurrent infections with A(H1N1)pdm09. In patients repeatedly suffered by «seasonal» influenza A(H1N1) in 2007/2008 or influenza A(H3N2) in 2012–2014 IgG2 seroconversion's rates were 40–59% ($p < 0,05$). Reaction virus-specific IgG3 was also weaker in patients with influenza A(H1N1)pdm09 (29–44% of seroconversions) than in subjects with influenza A(H1N1) or A(H3N2) (65% and 56% of seroconversions, respectively). Geometric mean titers of virus neutralizing antibodies identified during recovery phase in patients with primary and secondary influenza A(H1N1)pdm09 (1/28 and 1/103, respectively) were significantly lower than in patients recovered from influenza A(H1N1) or A(H3N2) (GMT were 1/594 and 1/378, respectively). It was shown that the surface glycoproteins of influenza A viruses may be an allergens. Virus-specific IgE seroconversion rates were comparable in all groups reaching 25–45%. The high activity of virus-induced serum IgA was detected in patients with influenza A(H3N2) or A(H1N1)pdm09 (60–79% of seroconversions). Thus, study of virus-specific activity of various immunoglobulin isotypes provides important information about the formation of adaptive antiviral immune response to influenza A viruses, and also estimate the contribution of its protective and immunopathogenic components to pathogenesis of the disease.

Key words: ELISA, influenza A(H3N2), influenza A(H1N1)pdm09, humoral antiviral immunity, isotypes of subtype-specific immunoglobulins, virus neutralizing antibody, adult patients.

Известно, что течение инфекции и характер иммунного ответа на нее во многом определяется типом цитокинной регуляции. Поскольку синтез иммуноглобулинов (Ig) различных изотипов регулируется определенными факторами, по характеру реагирования вирусспецифических антител (АТ) можно до определенной степени судить об особенностях регуляторных механизмов, определяющих патогенез заболевания. Так, у человека ключевым регулятором активности антиген-специфических IgG1, IgG2 и IgG3 является интерферон-гамма (IFN γ), синтез которого обеспечивают

главным образом Th1-клетки [5, 27]. Th2-опосредованные медиаторы регулируют образование IgE (IL-4, IL-13), IgG4 (IL-4, IL-10, IL-13) [7] и IgA (TGF- β , IL-4, IL-5) [23].

Помимо отличий в регуляции синтеза, Ig различных изотипов функционально неоднородны. Вирусспецифические IgG1, IgG2, IgG3 человека оказывают выраженное нейтрализующее действие. IgG1 и IgG3 обычно синтезируются в ответ на белковую составляющую антигена. IgG2 помимо белковой части антигена взаимодействуют также с его полисахаридной составляющей. Аффинность связи с комплементом

распределяется следующим образом: IgG3 > IgG1 > IgG2. IgG4 практически не связывается с комплементом [26]. Синтез АГ-специфичных IgG4 и IgE четко ассоциирован у людей с аллергией на определенный антиген [8].

До недавнего времени считалось, что наиболее важные характеристики АТ, к которым относятся специфичность и аффинность, зависят исключительно от свойств переменного (V) региона молекулы Ig, в то время как структура константного (С) региона определяет изотип АТ и такие их эффекторные функции, как способность активировать комплемент и Fc-зависимую клеточную цитотоксичность. Тем не менее, в последнее десятилетие появились данные о том, что тонкая специфичность АТ (различия во взаимодействии АТ, обладающих идентичным V-регионом, с антигеном) зависит от изотипа Ig. Показано, что различия в структуре СН-домена могут обуславливать вариации в конформации паратопа антител вследствие изменений в микроокружении связующего сайта (электростатические и гидрофобные связи, ионная сила и рН). Эти изменения, в свою очередь, могут оказывать влияние на характер взаимодействия между антигеном (АГ) и АТ. Следовательно, характер и эффективность иммунного ответа на воздействие АГ, включая вирусы, может зависеть не только от специфичности и авидности АТ, определяемой структурой Fab-фрагмента, но и от их изотипа [25].

Вместе с тем, роль Ig различных изотипов при вирусных инфекциях изучена недостаточно. Информация о реакции АТ различных изотипов у больных гриппом ограничивается немногочисленными исследованиями.

В этой связи целью настоящей работы являлся сравнительный анализ изотипической структуры специфического противовирусного системного гуморального иммунного ответа у пациентов, перенесших грипп, вызванный вирусами А(Н3N2) и А(Н1N1), включая А(Н1N1)pdm09.

Материалы и методы

Клинические материалы. Были проанализированы парные сыворотки крови, полученные в острый (2–4 день) и реконвалесцентный (7–15 день) периоды заболевания от 109 взрослых пациентов в возрасте от 18 до 67 лет с лабораторно установленным гриппом легкой и средней тяжести, проходивших лечение на отделении респираторных вирусных инфекций у взрослых ФГБУ НИИ гриппа, а также в Военно-медицинской академии имени С.М. Ки-

рова. Группы сравнения составили 20 человек с гриппом А(Н1N1), обследованные в 2007–2008 гг.; 50 пациентов, болевшие гриппом А(Н1N1)pdm09 с ноября 2009 г. по март 2014 г., а также 39 человек, перенесшие грипп А(Н3N2) в 2012–2014 гг. Средний возраст в группах составлял 20,2; 31,6 и 25,1 лет соответственно.

Диагноз гриппа А, а также субтип вируса, вызвавшего заболевание, были установлены на основании данных ПЦР при анализе назальных мазков с использованием наборов «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL», «АмплиСенс® Influenza virus A type FL» и «АмплиСенс® Influenza virus A/H1-swine-FL» («Интерлабсервис», Москва), по выявлению сероконверсий противогриппозных АТ в РТГА и/или прироста субтипоспецифичных IgG (без разделения на изотипы) при использовании ИФА-тест-систем производства ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов» (Санкт-Петербург).

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) была проведена в соответствии с методическими указаниями [3] с использованием диагностикомов производства ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов» (Санкт-Петербург). Во избежание неспецифических реакций, сыворотки крови предварительно подвергали обработке рецептор-разрушающим энзимом (Receptor Destroying Enzyme, RDE) производства Denka Seiken Co., LTD (Токио, Япония).

ИФА для детекции грипп-специфичных иммуноглобулинов различных изотипов в сыворотках крови. В качестве антигенов (АГ) для сенсбилизации твердой фазы использовали очищенные в сахарозном градиенте фракции поверхностных гликопротеинов (ГП) вирусов гриппа А, содержащие гемагглютинин и нейраминидазу. Отсутствие консервативных типоспецифичных внутренних белков в полученном антигенном материале позволило проводить в ИФА субтипovou дифференцировку грипп-специфичных АТ.

Культивирование вирусов гриппа А [штаммы А/Brisbane/59/2007 (Н1N1), А/California/07/2009 (Н1N1)pdm09, А/Texas/50/2012 (Н3N2)] в аллантоисной полости куриных эмбрионов, их очистка и концентрация, а также получение ГП-фракций из цельновирионных суспензий с использованием неионного детергента Octyl-β-D-glucopyranoside (ОГ) («Sigma», США) проводили согласно описанному ранее [1].

Очищенными ГП (2 мкг/мл), разведенными карбонатно-бикарбонатным буфером, рН 9,5, сенсбилизировали планшеты (ОАО «Фирма Медполимер», Санкт-Петербург) в течение

18 ч при 4°C, после чего вносили анализируемые сыворотки, разведенные 0,01М фосфатно-солевым буфером (ФСБ), рН 7,2, с добавлением 5% обезжиренного молока (ФСБ-М). Планшеты инкубировали 18 ч при 4°C. Сыворотки исследовали в одном разведении, предварительно определенном как оптимальное: 1/200 (IgG1 и IgA), 1/20 (IgG2, IgG4, IgE), 1/40 (IgG3). Связавшиеся с антигеном АТ детектировали с помощью пероксидазных конъюгатов моноклональных АТ (МКА), специфичных к соответствующим изотипам Ig человека (НПО «Полигност», Санкт-Петербург), разведенных до рабочих концентраций ФСБ-М. После инкубации в течение 1 ч при 37°C пероксидазную реакцию проявляли добавлением субстратной смеси, содержащей 0,1 мг/мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) и 0,02% H₂O₂ в ацетат-цитратном буфере, рН 5,0. После остановки реакции 2N H₂SO₄ измеряли оптическую плотность на фотометре Labsystems Multiskan (Thermo Electron Corp., США) при длине волны 450 нм (OD₄₅₀).

Сероконверсии в парных сыворотках считали доказанными, если показатель OD₄₅₀ для пробы, полученной в реконвалесцентный период заболевания, превышал OD₄₅₀ для сыворотки, взятой в острой фазе гриппа, не менее чем на 0,25. В предварительных экспериментах с титрованием антигриппозных сывороток в ИФА было установлено, что этому показателю соответствуют 4-кратные и более приросты титров АТ в РТГА.

Оценка нейтрализующей активности антител в реакции микронейтрализации (МН) была проведена в соответствии с предложенной ранее модификацией метода [1]. Для анализа использовали сыворотки крови, обработанные RDE и прогретые при 56°C в течение 30 мин. Ингибирование синтеза внутриклеточных вирусных белков в присутствии АТ учитывали в микрокультуральном ИФА с использованием пероксидазного конъюгата МКА, взаимодействующих с NP-белком вирусов гриппа типа А (независимо от субтипа). МКА были получены в лаборатории биотехнологии диагностических препаратов НИИ гриппа.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием компьютерных программ «StatstDirect» и «Statistica 10». Графически уровни АТ (OD₄₅₀) представлены в виде квантилей. При множественных попарных сравнениях независимых выборок на одном массиве данных (уровень Ig различных изотипов в сравниваемых группах) использовали критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони на множественность сравнения после

проведения рангового дисперсионного анализа с применением Н-критерия Крускала–Уоллиса. При сравнении выборочных долей (частоты выявления сероконверсий) применяли точный критерий Фишера. Мерой связи между двумя качественными признаками служил коэффициент ассоциации Пирсона (r_A). Проверяемые критериями нулевые гипотезы отвергались при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Известно, что механизмы противовирусной защиты, так же как и иммунопатологии, в том числе обусловленные действием АТ, различны при первичном инфицировании и повторных эпизодах заболевания, что определяется особенностью формирования иммунного ответа на новый для организма патоген, а также наличием (или отсутствием) иммунологической памяти по отношению к данному агенту. В этой связи обследованные пациенты были разделены на группы в зависимости от того, являлась ли гриппозная инфекция первичной или уже повторной.

Включение пациентов в ту или иную группу производилось с учетом данных, представленных в литературе. Так, исследование динамики синтеза АТ у взрослых волонтеров, привитых вакциной против нового патогена А(H1N1)pdm09, показало, что после первой инъекции вирусспецифичные АТ появлялись в крови не ранее, чем через 3–5 дней. У большинства испытуемых сероконверсии наблюдались лишь к 10–14 дню поствакцинации [24]. В противоположность этому, у взрослых больных гриппом А(H3N2), которые в течение жизни встречались с данным патогеном не единожды, содержание в крови H3-специфичных IgG различных изотипов, выявленное в ИФА уже в первые дни заболевания, было достаточно велико. Вследствие ежегодных эпидемий, в сыворотках здоровых взрослых людей уровни всех 4-х изотипов H3-специфичных IgG также значительно превышали отрицательные значения [11, 13]. При этом даже после первичного заболевания гриппом у большинства взрослых людей АТ, взаимодействующие с поверхностными гликопротеинами вируса, детектировали в крови на достаточно высоком уровне в течение длительного времени (до 3 лет) [21].

С учетом вышеприведенных данных, первично инфицированными с большой степенью вероятности можно считать пациентов, в крови которых в первые 3 дня заболевания методом ИФА не было обнаружено IgG, взаимодей-

ствующих с поверхностными белками вируса гриппа анализируемого субтипа. Показателем повторного инфицирования служило выявление в сыворотках, полученных в первые дни заболевания, хотя бы одного из изотипов субтипоспецифичных IgG.

С целью выявления сывороток, положительных по содержанию вирусспецифичных АТ, были определены пороговые значения. В условиях нашей постановки ИФА сыворотки крови, для которых показатели OD_{450} варьировали в пределах 0,15–0,22 в зависимо-

сти от изотипа АТ, были охарактеризованы как негативные. Такие показатели, принятые за отрицательный контроль ($OD_{450} K^-$), были получены нами ранее при анализе содержания грипп-специфичных АТ в сыворотках крови детей возрастной группы 1–2 года, еще не болевших гриппом. Положительными по содержанию вирусспецифических АТ считали сыворотки, в которых значения OD_{450} при рабочем разведении проб превышали рассчитанное для каждого изотипа пороговое значение ($2 \times OD_{450} K^-$), что соответствовало «правилу трех сигм».

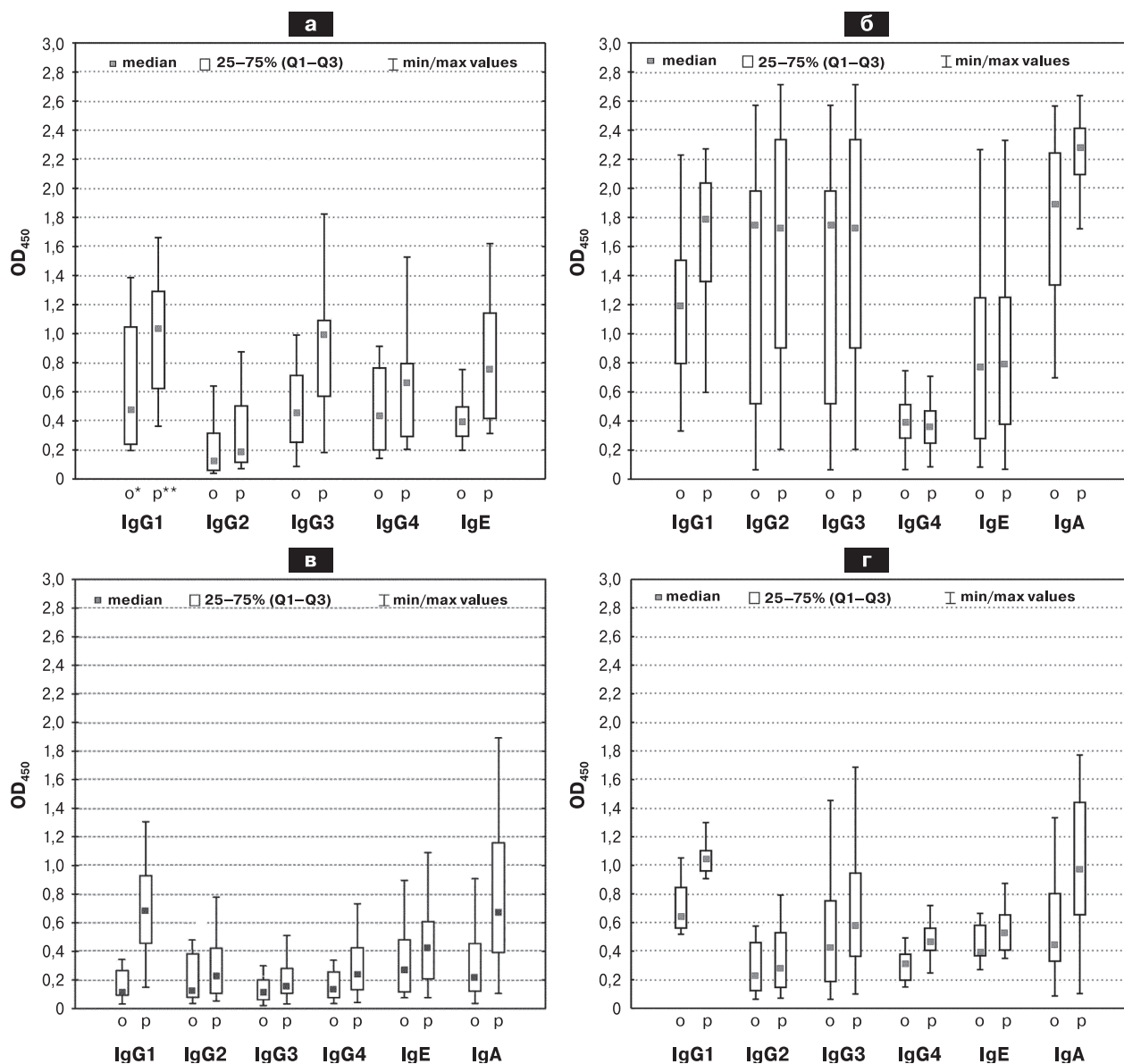


Рисунок 1. Изменение содержания иммуноглобулинов различных изотипов, специфичных к поверхностным гликопротеинам вируса гриппа А, в сыворотках взрослых пациентов, переболевших гриппом А

Примечания. 1) Лица, переболевшие гриппом, вызванным вирусами гриппа А(Н1N1), циркулировавшими до 2009 г. (а) или А(Н3N2) (б). 2) Пациенты, первично (в) и повторно (г) инфицированные вирусом гриппа А(Н1N1)рdм09.

3) * «о» — пробы, полученные в острый период заболевания; ** «р» — пробы, полученные в фазе реконвалесценции.

ТАБЛИЦА 1. ИЗОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА СИСТЕМНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ВИРУСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ ГРИППОМ А

Группа обследованных	Характер заболевания	Время проведения обследования	Численность группы	Частота конверсий грипп-специфических антител (%) (по данным ИФА)*					
				IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgE	IgA
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)	повторное	2007–2008 гг.	20	70	40	65	40	45	н/а
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н3N2)	повторное	2012–2014 гг.	39	90	59	56	13	44	79
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)pdm09	первичное	2009–2013 гг.	34	83	9	29	15	35	68
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)pdm09	повторное	2011–2014 гг.	16	75	6	44	50	25	60

Примечание. * — учитывали сероконверсии антител, специфичных к вирусу гриппа, являющегося этиологическим фактором заболевания; н/а — не анализировано.

Исходя из предложенных критериев, все переболевшие «эпидемическим» гриппом А(Н1N1) или А(Н3N2) были отнесены к повторно инфицированным, поскольку у них содержание хотя бы одного из изотипов грипп-специфических IgG, выявленное в крови в ранний период заболевания, превышало пороговое значение (рис. 1а и 1б). Пациенты с гриппом А(Н1N1)pdm09 были разделены на 2 группы: первично и повторно инфицированные (рис. 1в и 1г).

В ходе исследований прежде всего было проанализировано образование Th1-регулируемых АТ (IgG1, IgG2 и IgG3), специфичных к поверхностным ГП вирусов гриппа А, поскольку в модельных экспериментах на мышах, инфицированных вирусом гриппа [19], а также в результате клинических испытаний гриппозных

вакцин [20] было показано, что протективное противовирусное, в том числе нейтрализующее, действие сывороточных АТ обусловлено, главным образом, этими изотипами.

Было установлено, что наиболее выраженный ответ у пациентов всех групп наблюдался со стороны IgG1: частота сероконверсий варьировала в пределах 70–90%. Частота приростов субтипоспецифичных IgG2 и IgG3 уступала этим показателям. При этом, в отличие от IgG1, наблюдались выраженные межгрупповые отличия. У переболевших гриппом, вызванным вирусами А(Н1N1), циркулировавшими до 2009 г., а также А(Н3N2), частота сероконверсий превышала показатели, полученные в группе больных гриппом А(Н1N1)pdm09 как при первичном ($p < 0,01$ для IgG2 и $p < 0,025$ для IgG3), так и при повторном забо-

ТАБЛИЦА 2. ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АНТИТЕЛ КРОВИ У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ ГРИППОМ А (ПО ДАННЫМ РЕАКЦИИ МИКРОНЕЙТРАЛИЗАЦИИ)

Группа обследованных	Характер заболевания	Время проведения обследования	Численность группы	Вируснейтрализующая активность антител	
				Частота конверсий	Средние геометрические титры (СГТ) антител*
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)	повторное	2007–2008 гг.	17	88	83/594
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н3N2)	повторное	2012–2014 гг.	24	83	24/378
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)pdm09	первичное	2009–2013 гг.	17	53	7/28
Пациенты, переболевшие гриппом А(Н1N1)pdm09	повторное	2011–2014 гг.	16	88	10/103

Примечание. * Представлены обратные величины СГТ.

леваниях (в данном случае значимые отличия получены только для IgG2 — $p < 0,025$) (табл. 1).

Следует подчеркнуть, что при гриппе А(Н1N1)pdm09 реакция IgG2 при повторном заболевании оставалась столь же слабой, как и в случае первичного инфицирования (одинаково низкие показатели частоты конверсий и содержания Ig в крови в стадии реконвалесценции (табл. 1, рис. 1в и 1г). В отличие от этого, активность IgG3 при этом заболевании была выше у повторно инфицированных: среднegrupповое содержание превышало ($p = 0,03$) показатели, полученные для группы лиц с первичным гриппом А(Н1N1)pdm09 (рис. 1в и 1г). Частота сероконверсий также была выше, хотя и недостоверно (44 против 29%), у лиц, повторно переболевших пандемическим гриппом (табл. 1).

Таким образом, при гриппе А(Н1N1)pdm09 реакция вирусспецифических IgG3 и, особенно IgG2, выражена значительно слабее, чем у пациентов, перенесших грипп А(Н1N1) или А(Н3N2).

Оценка нейтрализующей активности АТ крови (табл. 2) показала, что при повторных эпизодах гриппа, вызванных вирусами А(Н1N1), циркулирующими до 2009 г., или А(Н3N2), частота сероконверсий вируснейтрализующих АТ была сопоставимо высока (83–88%). Для значений среднегеометрических титров (СГТ) нейтрализующих антител в этих группах также не было выявлено статистически значимых отличий. С учетом этих данных сопоставимые показатели частоты сероконверсий IgG1, IgG2 и IgG3 позволяют предположить, что вируснейтрализующая активность в этих двух группах пациентов реализуется за счет функционирования всех трех данных субтипов IgG.

Для больных гриппом А(Н1N1)pdm09 наблюдалась принципиально иная картина. В группе повторно переболевших частота конверсий нейтрализующих АТ была столь же высока, как и у больных гриппом А(Н1N1) или А(Н3N2). Однако СГТ нейтрализующих АТ при этом были значительно ниже ($p < 0,01$).

При первичном заболевании гриппом А(Н1N1)pdm09 частота конверсий, также как и СГТ нейтрализующих АТ, были ниже показателей, полученных для пациентов других групп ($p < 0,01$), включая повторно переболевших пандемическим гриппом. Следует подчеркнуть, что у первично заболевших содержание нейтрализующих АТ в крови в период реконвалесценции было почти в 2 раза ниже показателя СГТ 1:40, принятого в качестве протективного.

Наряду с Th1-регулируемым гуморальным иммунным ответом, у больных была проведена оценка активности грипп-специфических IgE и IgG4, синтез которых регулируется Th2-зависимыми факторами. Роль Ig данных изотипов в патогенезе вирусных заболеваний, включая грипп, изучена крайне слабо. Основные представления об их функции получены в результате исследования причин возникновения атопических состояний, поскольку синтез аллерген-специфических IgE и IgG4 связан с иммунопатологическими механизмами, наблюдаемыми при аллергических заболеваниях. Известно, что IgE является причиной гиперчувствительности немедленного типа [8]. IgG4, по некоторым данным, — наоборот, играют антисенсибилизирующую, блокирующую по отношению к действию IgE роль [12].

В настоящей работе впервые была проведена сравнительная оценка ответа вирусспецифических IgE и IgG4 у пациентов с гриппом различной этиологии. При этом мы попробовали применить подход, предложенный некоторыми исследователями для понимания АТ-зависимых иммунопатологических механизмов, наблюдаемых при аллергических заболеваниях. Так, показано, что при атопических состояниях, в зависимости от структуры и нагрузки антигена, состава цитокиновой среды в месте воспаления, индивидуальных особенностей иммунной системы пациента соотношение синтезируемых аллерген-специфических IgE и IgG4 может существенно меняться, что отражается на клинической картине заболевания. В этой связи сопоставление активности IgE и IgG4 (соотношение содержания IgE/IgG4 в сыворотках крови) было предложено рассматривать как показатель возможного сенсибилизирующего или антисенсибилизирующего воздействия антигена на иммунную систему хозяина [16].

В представленной работе природы грипп-специфических IgE и IgG4 наблюдали с различной частотой среди пациентов всех рассмотренных групп (табл. 1), что свидетельствует о том, что поверхностные ГП вирусов гриппа А могут являться аллергенами. Для частоты сероконверсий IgE (25–45%) не было показано статистически значимых межгрупповых отличий. В отличие от этого, интенсивность реагирования IgG4 у пациентов, перенесших грипп А(Н3N2) или первично инфицированных вирусом А(Н1N1)pdm09, была значимо ниже (13–15% конверсий), чем у больных, повторно переболевших сезонным или пандемическим гриппом А(Н1N1) (40–50% сероконверсий, $p = 0,02$).

Показатели соотношения частоты конверсий IgE/IgG4 внутри субтипа A(H1) составили 2,4 и 0,5 в группе больных с первичным и повторным гриппом A(H1N1)pdm09 и 1,1 у пациентов с заболеванием, вызванным циркулирующими ранее «сезонными» вирусами A(H1N1). При гриппе A(H3N2) этот показатель был существенно выше, составляя 3,4. Так, в группе переболевших гриппом A(H3N2) была показана достаточно высокая частота сероконверсий IgE (44%) при незначительном показателе приростов IgG4 (13%) (табл. 1).

Таким образом, при условии принятия положения об антисенсибилизирующей роли вирусспецифических IgG4, аллергизирующее действие грипп-специфических IgE на иммунную систему пациентов, не скомпенсированное синтезом блокирующих аллергию IgG4, достаточно высоко при первичном заболевании гриппом A(H1N1)pdm09, но снижается при последующих эпизодах заражения этим вирусом. При гриппе A(H3N2) аллергическая вирусиндуцированная составляющая гуморального иммунного ответа наиболее выражена. Показателем этого, в дополнение к высокому соотношению активности IgE/IgG4, является также чрезвычайно высокое содержание IgE в сыворотках, полученных как в острый, так и в реконвалесцентный период заболевания (рис. 1б).

Ранее, при обследовании нами детей с респираторно-синцитиальной вирусной (РСВ) инфекцией, между возникновением у пациентов аллергических проявлений (стеноза гортани или бронхообструкции) и высоким содержанием сывороточного анти-РСВ IgE была выявлена прямая связь. В противоположность этому, связь с активностью РСВ-специфических IgG4 носила обратный характер [2], что согласуется с концепцией об антиаллергенной роли вирусспецифических IgG4.

В отличие от этого, у взрослых больных гриппом нам не удалось установить значимых связей между содержанием в крови IgE или IgG4 и аллергическими проявлениями, такими, например, как обструкция дыхательных путей. Значения r_A Пирсона ($r_A < 0,1$) свидетельствуют об отсутствии сопряженности между анализируемыми признаками.

Помимо IgE и IgG4, синтез IgA также регулируется Th2-опосредованными факторами. В отличие от секреторного IgA, противовирусные функции которого хорошо изучены, роль сывороточных АТ этого класса при вирусных заболеваниях во многом неясна. Проведенное нами исследование показало высокую активность вирусспецифических сывороточных IgA

у пациентов с гриппом А. Частота сероконверсий Ig данного изотипа, взаимодействующих с поверхностными вирусными ГП, была сопоставима в группах пациентов, перенесших грипп A(H3N2) или A(H1N1)pdm09 (как при первичном, так и при повторном заболевании), варьируя в пределах 60–79% (табл. 1). Однако при сравнимых показателях конверсий, уровень этих АТ в сыворотках, полученных как в острой, так и реконвалесцентной фазах, был значительно выше ($p < 0,001$) у пациентов, переболевших гриппом A(H3N2), по сравнению с больными, инфицированными вирусом A(H1N1)pdm09 как первично, так и повторно (рис. 1б, в, г).

Обсуждение

Представленные данные дополняют результаты немногочисленных работ, посвященных изотипической структуре противогриппозного иммунного ответа. Так, полученные нами данные о том, что у взрослых пациентов, переболевших гриппом А, наиболее выражен ответ со стороны вирусспецифических IgG1, согласуются с результатами других исследователей [6, 13]. Тем не менее в исследованиях, посвященных роли АТ в патогенезе гриппа, особо подчеркивается важная роль IgG2. Например показано, что тяжелые случаи гриппа A(H1N1)pdm09 у детей и взрослых ассоциированы со сниженным уровнем IgG2 в крови как в острый, так и в реконвалесцентный периоды заболевания [10, 28]. Следует, однако, подчеркнуть, что в этих работах анализировали содержание в крови общего, а не вирусспецифического IgG2.

Таким образом, проведенное нами исследование впервые показало, что, по сравнению с реакцией, наблюдаемой у больных гриппом A(H1N1) или A(H3N2), характерной чертой иммунного ответа на вирус гриппа A(H1N1)pdm09 является низкая активность вирусиндуцированных субтипоспецифических IgG2 как при первичном, так и при повторном заболевании. В дополнение к этому, при первичном гриппе A(H1N1)pdm09 снижена также реакция вирусспецифических IgG3, которая, однако, усиливается при повторных воздействиях патогена.

Предполагаемая причина чрезвычайно низкой активности только одного из Th1-регулируемых изотипов иммуноглобулинов (IgG2) у пациентов с гриппом A(H1N1)pdm09 может заключаться в искаженной вирусиндуцированной цитокиновой регуляции. Известно, что образование IgG1, IgG2 и IgG3 проис-

ходит в определенной степени независимо друг от друга. Так, действие некоторых регуляторных факторов, например, IL-6 и IL-21, на синтез антиген-специфических IgG2 значительно отличается от наблюдаемого при образовании других изотипов IgG [14, 17].

Полученные нами данные позволяют предположить, что, несмотря на интенсивный ответ со стороны вирусспецифических IgG1 (75–83% сероконверсий), сниженная активность IgG3 (29–44% приростов) и почти полное отсутствие реакции со стороны IgG2 (6–9% сероконверсий) может быть одной из причин низкой нейтрализующей активности АТ, наблюдаемой у больных гриппом А(Н1N1)рdm09.

В результате проделанной работы впервые была проведена сравнительная оценка реагирования на гриппозную инфекцию Th2-зависимых вирусспецифических IgE и IgG4, роль которых в патогенезе вирусных заболеваний изучена крайне слабо.

Известно, что IgE является причиной гиперчувствительности немедленного типа. При контакте с иммунной системой чувствительных индивидуумов аллергены способны индуцировать синтез АГ-специфических IgG4 и IgE. Взаимодействие мультивалентного аллергена с Fab-фрагментами двух молекул IgE, связанных с высокоаффинными специфическими рецепторами (FcεR1) на поверхности тучной клетки или базофила, приводит к дегрануляции этих клеток и выбросу ряда вазоактивных молекул, таких как гистамин, серотонин, простагландины, лейкотриены. Эти медиаторы увеличивают локальную проницаемость кровеносных сосудов, вызывают сжатие гладкой мускулатуры дыхательных путей, бронхоконстрикцию и создают очаг воспаления. Тучные клетки, активированные IgE-содержащими иммунными комплексами, продуцируют целый ряд хемокинов (RANTES, eotaxin, MIP-1a) и цитокинов (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, TNFα и GM-CSF), которые обеспечивают приток клеток-эффекторов, ассоциированных с аллергией (Т-клеток, базофилов, эозинофилов, моноцитов, а также В-клеток, продуцирующих IgE) [8].

В то время как роль IgE при аллергическом воспалении четко определена, информация о функциях IgG4 неоднозначна. С одной стороны показано, что эти АТ играют блокирующую толерогенную роль: успешная иммунотерапия аллергических заболеваний приводит к интенсификации синтеза аллерген-специфических IgG4 и снижению уровня специфических IgE в крови из-за конкуренции Ig данных двух изотипов за связь с одними и теми же эпитопа-

ми аллергена. Следствием является отсутствие IgE-опосредованной активации клеток аллергического воспаления (базофилов и тучных клеток). По данным других авторов, развитие атопии не всегда сопровождается синтезом аллерген-специфических IgG4, или же его наличие в крови не ассоциировано с антиаллергическим эффектом [12].

Оценке Th2-опосредованного вирусспецифического гуморального иммунного ответа при гриппе посвящены лишь единичные исследования.

Так, показано, что иммунизация инактивированной или живой вакциной против пандемического гриппа А(Н1N1)рdm09 индуцировала у детей и взрослых синтез вирусспецифических IgE [22]. У пациентов, инфицированных вирусом гриппа А(Н1N1)рdm09, не регистрировали формирования специфических IgG4 вне зависимости от клинической тяжести заболевания [6]. Тем не менее, у больных гриппом А(Н3N2) наблюдали активный ответ вирусспецифических IgG4 (до 80% сероконверсий) [11, 13].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что поверхностные ГП вирусов гриппа А(Н3N2) и А(Н1N1), в том числе А(Н1N1)рdm09, могут являться аллергенами и индуцировать синтез вирусспецифических IgE и/или IgG4. При этом аллергенная вирусиндуцированная составляющая гуморального иммунного ответа наиболее выражена в группе пациентов, неоднократно инфицированных вирусом гриппа А(Н3N2). Дальнейшего изучения требует вопрос, является ли такая картина следствием особенностей патогенеза гриппа А(Н3N2), или активность вирусиндуцированного IgE увеличивается при многократных воздействиях на иммунную систему патогена, ежегодно вызывающего эпидемии.

Одним из объяснений отсутствия связи между аллергическими проявлениями (такими, как обструкция дыхательных путей), у пациентов с гриппом А, в отличие от того, что мы наблюдали ранее при РСВ-инфекции, могут быть различия в схеме лечения. Так, в 40–60% случаев взрослым пациентам, больных гриппом и имеющим в анамнезе хронические обструктивные респираторные или аллергические заболевания, во избежание вирусиндуцированных обострений вводили глюкокортикостероиды, которые, как известно, отрицательно влияют на синтез АГ-специфических IgE и/или IgG4 [4]. В то же время терапия обследованных ранее детей с обструктивными осложнениями РСВ-инфекции не включала гормонотерапию. Таким образом, вопрос

о роли вирусспецифических IgE и IgG4 в патогенезе гриппозной инфекции остается открытым и требует дальнейших исследований.

В отличие от секреторного IgA, защитная противовирусная роль которого хорошо изучена, функции антигенспецифических сывороточных АТ этого класса при инфекционных процессах во многом неясны.

Тем не менее, сывороточные IgA играют важную противовоспалительную роль в регуляции иммунного ответа: ингибирует FcR-зависимые воспалительные реакции (IgG-опосредованный фагоцитоз моноцитов/макрофагов, хемотаксис макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов в очаг поражения, секрецию цитокинов). С другой стороны, отмечена связь между высоким содержанием аллергенспецифических IgA в крови и развитием у пациентов аллергического воспаления, а также обострением атопической бронхиальной астмы. У лиц, подверженных аллергии, повышена экспрессия специфических рецепторов для IgA (FcαRI) на поверхности эозинофилов. Иммунные комплексы, содержащие молекулы сывороточного мономерного IgA, могут индуцировать активацию провоспалительных сигнальных путей в клетках-эффекторах. Остается нерешенным вопрос, в каких случаях системный IgA играет противовоспалительную роль, а в каких — провоспалительную, патогенную [18].

Показано, что иммунизация волонтеров различными вариантами гриппозных вакцин приводила к значительному повышению содержания в крови не только вирусспецифических IgG, но и IgA [9]. У пациентов, переболевших гриппом A(H3N2) или A(H1N1)pdm09, в ИФА выявляли 60–67% сероконверсий вирусспецифических IgA [13, 15]. Полученные нами результаты согласуются с этими данными.

Высокая активность сывороточных IgA, взаимодействующих с поверхностными ГП вирусов гриппа А, свидетельствует о том, что выявление приростов АТ данного класса в ИФА может служить информативным диагностическим серологическим критерием для

ретроспективного подтверждения наличия гриппозной инфекции. Каково значение высокой активности системного IgA для патогенеза гриппозной инфекции может быть определено в процессе будущих исследований.

Таким образом, изучение активности вирусспецифических иммуноглобулинов различных изотипов позволяет получить интересную информацию об особенностях формирования адаптивного противовирусного иммунного ответа при гриппе А, оценить вклад его протективной и иммунопатогенной составляющих в патогенез заболевания.

Выводы

1. У взрослых пациентов, переболевших гриппом А, наиболее выраженный ответ наблюдали со стороны субтипоспецифических IgG1: частота сероконверсий варьировалась в пределах 70–90%. Реакцию IgG2 и IgG3 наблюдали значительно реже.
2. Впервые показано, что характерной чертой иммунного ответа на вирус гриппа A(H1N1)pdm09 как при первичном инфицировании, так и при повторном заболевании является чрезвычайно низкая активность субтипоспецифических IgG2, а также сниженные показатели СГТ вируснейтрализующих антител.
3. Поверхностные гликопротеины вирусов гриппа А могут служить аллергенами. Частота сероконверсий вирусспецифических IgE была сопоставима во всех группах, достигая 25–45%. Интенсивность реагирования IgG4 у пациентов, перенесших грипп A(H3N2) или первично инфицированных вирусом A(H1N1)pdm09, была значительно ниже (13–15% конверсий), чем у больных, повторно переболевших сезонным или пандемическим гриппом A(H1N1) (40–50% сероконверсий).
4. Показана высокая активность вирусспецифических сывороточных IgA в группах пациентов, перенесших грипп A(H3N2) или A(H1N1)pdm09.

Список литературы/References

1. Кривицкая В.З., Соминина А.А., Суховецкая В.Ф., Милькинт К.К., Сверлова М.В. Иммунопатологический аллергический Th2-тип противовирусного гуморального иммунного ответа у детей с респираторно-синцитиальной вирусной инфекцией // Цитокины и воспаление. 2004. Т. 3, № 3. С. 34–41. [Krivitskaya V.Z., Sominina A.A., Sukhovetskaya V.F., Milkint K.K., Sverlova M.V. Immunopathological allergic Th2-type anti-viral humoral immune response in infants with respiratory syncytial viral infection. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and inflammation*, 2004, vol. 3, no. 3, pp. 34–41. (In Russ.)]
2. Кривицкая В.З., Соминина А.А., Сорокин Е.В., Войцеховская Е.М., Милькинт К.К., Сироткин А.К. Разработка и изучение диагностических свойств ИФА-тест-систем для субтипоспецифической детекции антител к вирусам гриппа А (H1N1) и А (H3N2) // Вопросы вирусологии. 2002. Т. 47, № 3. С. 40–44. [Krivitskaya V.Z., Sominina A.A.,

- Sorokin E.V., Voytsekhovskaia E.M., Milkint K.K., Sirotkin A.K. Development of immunoenzyme assay for subtype-specific detection of antibodies to influenza viruses A (H1N1) and A (H3N2). *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2002, vol. 47, no. 3, pp. 40–44. (In Russ.)
3. Соминина А.А., Кривицкая В.З., Войцеховская Е.М., Медведева Н.А., Липина Н.В., Потапенко Л.Б. Практические рекомендации по диагностике вирусных инфекций. СПб., 2005. 21 с. [Sominina A.A., Krivitskaya V.Z., Voytsekhovskaia E.M., Medvedeva N.A., Lipina N.V., Potapenko L.B. *Prakticheskie rekomendacii po diagnostike virusnyh infekcij* [Practical guidelines for the diagnosis of viral infections]. St. Petersburg, 2005, 21 p. (In Russ.)]
 4. Akdis C.A., Blesken T., Akdis M., Alkan S.S., Heusser C.H., Blaser K. Glucocorticoids inhibit human antigen-specific and enhance total IgE and IgG4 production due to differential effects on T and B cells in vitro. *Eur. J. Immunol.*, 1997, vol. 27, no. 9, pp. 2351–2357.
 5. Al-Darmaki S., Knightshead K., Ishihara Y., Best A., Schenkein H., Tew J., Barbour S. Delineation of the role of platelet-activating factor in the immunoglobulin G2 antibody response. *Clin. Diagnos. Labor. Immunol.*, 2004, vol. 11, no. 4, pp. 720–728.
 6. Arankalle V.A., Lole K.S., Arya R.P., Tripathy A.S., Ramdasi A.Y., Chadha M.S., Sangle S.A., Kadam D.B. Role of host immune response and viral load in the differential outcome of pandemic H1N1 (2009) influenza virus infection in Indian patients. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 10, e13099. doi: 10.1371/journal.pone.0013099
 7. Braza F., Chesne J., Castagnet S., Magnan A., Brouard S. Regulatory functions of B cells in allergic diseases. *Allergy*, 2014, vol. 69, no. 11, pp. 1454–1463.
 8. Burton O.T., Oettgen H.C. Beyond immediate hypersensitivity: evolving roles for IgE antibodies in immune homeostasis and allergic diseases. *Immunol. Rev.*, 2011, vol. 242, no. 1, pp. 128–143. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01024.x
 9. El-Madhun A.S., Cox R.J., Haaheim L.R. The effect of age and natural priming on the IgG and IgA subclass responses after parenteral influenza vaccination. *J. Infect. Dis.*, 1999, vol. 180, no. 4, pp. 1356–1360.
 10. Gordon C.L., Johnson P.D., Permezel M., Holmes N.E., Gutteridge G., McDonald C.F., Eisen D.P., Stewardson A.J., Edington J., Charles P.G., Crinis N., Black M.J., Torresi J., Grayson M.L. Association between severe pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection and immunoglobulin G(2) subclass deficiency. *Clin. Infect. Dis.*, 2010, vol. 50, no. 5, pp. 672–678. doi: 10.1086/650462
 11. Hocart M.J., Mackenzie J.S., Stewart G.A. Serum IgG subclass responses of humans to inactivated and live influenza A vaccines compared to natural infections with influenza A. *J. Med. Virol.*, 1990, vol. 30, no. 2, pp. 92–96.
 12. Hofmaier S., Comberiat P., Matricardi P.M. Immunoglobulin G in IgE-mediated allergy and allergen-specific immunotherapy. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, vol. 46, no. 1, pp. 6–11.
 13. Julkunen I., Hovi T., Seppälä I., Mäkelä O. Immunoglobulin G subclass antibody responses in influenza A and parainfluenza type 1 virus infections. *Clin. Exp. Immunol.*, 1985, vol. 60, no. 1, pp. 130–138.
 14. Kawano Y., Noma T., Yata J. Regulation of human IgG subclass production by cytokines. IFN-gamma and IL-6 act antagonistically in the induction of human IgG1 but additively in the induction of IgG2. *J. Immunol.*, 1994, vol. 153, no. 11, pp. 4948–4958.
 15. Li Z.N., Lin S.C., Carney P.J., Li J., Liu F., Lu X., Liu M., Stevens J., Levine M., Katz J.M., Hancock K. IgM, IgG, and IgA antibody responses to influenza A(H1N1)pdm09 hemagglutinin in infected persons during the first wave of the 2009 pandemic in the United States. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2014, vol. 21, no. 8, pp. 1054–1060. doi: 10.1128/CVI.00129-14
 16. Lima M.T., Wilson D., Pitkin L., Roberts A., Nouri-Aria K., Jacobson M., Walker S., Durham S. Grass pollen sublingual immunotherapy for seasonal rhinoconjunctivitis: a randomized controlled trial. *Clin. Exp. Allergy*, 2002, vol. 32, no. 4, pp. 507–514.
 17. Monteiro R.C. Role of IgA and IgA fc receptors in inflammation. *J. Clin. Immunol.*, 2010, vol. 30, no. 1, pp. 1–9. doi: 10.1007/s10875-009-9338-0
 18. Mewono L., Matondo Maya D.W., Matsiegui P.B., Agnandji S.T., Kendjo E., Barondi F., Issifou S., Kremsner P.G., Mavoungou E. Interleukin-21 is associated with IgG1 and IgG3 antibodies to erythrocyte-binding antigen-175 peptide 4 of Plasmodium falciparum in Gabonese children with acute falciparum malaria. *Eur. Cytokine Netw.*, 2008, vol. 19, no. 1, pp. 30–36. doi: 10.1684/ecn.2008.0114
 19. Palladino G., Mozdzanowska K., Washko G., Gerhard W. Virus-neutralizing antibodies of immunoglobulin G (IgG) but not of IgM or IgA isotypes can cure influenza virus pneumonia in SCID mice. *J. Virol.*, 1995, vol. 69, no. 4, pp. 2075–2081.
 20. Pedersen G.K., Höschler K., Øie Solbak S.M., Bredholt G., Pathirana R.D., Afsar A., Breakwell L., Nøstbakken J.K., Raae A.J., Brokstad K.A., Sjursen H., Zambon M., Cox R.J. Serum IgG titres, but not avidity, correlates with neutralizing antibody response after H5N1 vaccination. *Vaccine*, 2014, vol. 32, no. 35, pp. 4550–4557. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.06.009
 21. Schild G.C., Newman R.W., McGregor I.A., Williams K. The use of transportable single-radial-diffusion immunoplates in sero-epidemiological studies of influenza in the Gambia. The occurrence and persistence of antibody to influenza A/Hong Kong/68 (H3N2) virus in selected inhabitants of two rural villages. *Bull. World Health Organ.*, 1977, vol. 55, no. 1, pp. 3–13.
 22. Smith-Norowitz T.A., Kusonruksa M., Wong D., Norowitz M.M., Joks R., Durkin H.G., Bluth M.H. Long-term persistence of IgE anti-influenza A H1N1 virus antibodies in serum of children and adults following influenza A vaccination with subsequent H1N1 infection: a case study. *J. Inflamm. Res.*, 2012, vol. 5, pp. 111–116. doi: 10.2147/JIR.S34152
 23. Stavnezer J., Kang J. The surprising discovery that TGF beta specifically induces the IgA class switch. *J. Immunol.*, 2009, vol. 182, no. 1, pp. 5–7.
 24. Sun Y., Bian C., Xu K., Hu W., Wang T., Cui J., Wu H., Ling Z., Ji Y., Lin G., Tian L., Zhou Y., Li B., Hu G., Yu N., An W., Pan R., Zhou P., Leng Q., Huang Z., Ma X., Sun B. Immune protection induced on day 10 following administration of the 2009 A/H1N1pandemic influenza vaccine. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 12, e14270. doi: 10.1371/journal.pone.0014270
 25. Torres M., Casadevall A. The immunoglobulin constant region contributes to affinity and specificity. *Trends Immunol.*, 2008, vol. 29, no. 2, pp. 91–97. doi: 10.1016/j.it.2007.11.004
 26. Vidarsson G., Dekkers G., Rispen T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol.*, 2014, vol. 5:520. doi: 10.3389/fimmu.2014.00520

27. Widhe M., Ekerfelt C., Forsberg P., Bergström S., Ernerudh J. IgG subclasses in Lyme borreliosis: a study of specific IgG subclass distribution in an interferon-gamma-predominated disease. *Scand. J. Immunol.*, 1998, vol. 47, no. 6, pp. 575–581.
28. Yamamoto T., Mizoguchi Y., Kaneno H., Yamamoto K., Inoue Y., Kawashima H., Kase T., Shimotsuji T. Serum immunoglobulin G subclass levels and estimated clinical severity caused by possible influenza A (H1N1) pdm 2009 infection. *J. Infect. Chemother.*, 2013, vol. 19, no. 5, pp. 833–842. doi: 10.1007/s10156-013-0570-4

Авторы:

Кривицкая В.З., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Васильева А.А., научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Войцеховская Е.М., старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Петрова Е.Р., младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Писарева М.М., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геной инженерии ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Бузицкая Ж.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геной инженерии ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Елпаева Е.А., научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и геной инженерии ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Го А.А., к.м.н., зав. отделением респираторных вирусных инфекций у взрослых ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Волощук Л.В., к.м.н., старший научный сотрудник отделения респираторных вирусных инфекций у взрослых ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Львов Н.И., к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Смирнова Т.Д., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных культур ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Соминина А.А., д.б.н., профессор, зав. лабораторией биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Krivitskaya V.Z., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Vasilieva A.A., Researcher, Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Voytsekhovskaya E.M., Senior Researcher, Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Petrova E.R., Junior Researcher, Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Pisareva M.M., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Virology and Genetic Engineering, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Buzitskaya J.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Virology and Genetic Engineering, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Elpaeva E.A., Researcher, Laboratory of Molecular Virology and Genetic Engineering, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Go A.A., PhD (Medicine), Head of the Department of Respiratory Viral Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Voloshchuk L.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Department of Respiratory Viral Infections in Adults, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Lvov A.I., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation;

Smirnova T.D., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Cell Cultures, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Sominina A.A., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Laboratory Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation.

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE*, У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

А.В. Тарасов¹, Л.Б. Куляшова², И.Р. Желтакова², В.Н. Хирманов¹, Л.Б. Дрыгина¹

¹ ФГБУ Всероссийский центр экстремальной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

² ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Бактерия *Chlamydomphila pneumoniae* тропна к эндотелиальным, гладкомышечным клеткам сосудов. Доказана способность данного возбудителя инициировать атеросклероз и обострять его течение. Согласно данным литературы, частота острой инфекции *C. pneumoniae* выше у больных острым коронарным синдромом, нежели у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца. Целью работы стала диагностика инфекции *C. pneumoniae* у больных острым коронарным синдромом двумя методами, основанными на разных принципах. Обследованы 20 пациентов, госпитализированных в стационар с предварительным диагнозом «острый коронарный синдром». В первые часы нахождения в стационаре на основании жалоб, анамнеза, объективного осмотра, результатов лабораторных и инструментальных обследований пациентам были установлены диагнозы «нестабильная стенокардия» (n = 10) и «нетрансмуральный инфаркт миокарда» (n = 10). По стандартным показаниям всем указанным больным выполнялись коронарография и ангиопластика. Кроме того, у этих пациентов выполнялся забор клинического материала и приготовление на предметных стеклах препаратов соскобов слизистой носовых ходов, задней стенки ротоглотки. Также готовились препараты мазков артериальной крови, полученной из проводников, установленных в местах пунктированных с целью выполнения коронарографии и ангиопластики артерий. На данных препаратах выполняли постановку реакции непрямой иммунофлюоресценции с видоспецифическими моноклональными антителами против главного белка внешней мембраны клеточной стенки бактерии *C. pneumoniae*. Сыворотку крови использовали для иммуноферментного анализа с целью количественного определения иммуноглобулинов классов А и G к бактерии *C. pneumoniae*. При сопоставлении результатов двух основанных на разных принципах методов диагностики хроническая инфекция *C. pneumoniae* была диагностирована у 5 из 20 обследованных пациентов. Из них 1 пациент с нестабильной стенокардией и 4 — с нетрансмуральным инфарктом миокарда. Наличие острой инфекции *C. pneumoniae* было доказано у 9 из 20 пациентов, из них 4 пациента с нестабильной стенокардией и 5 — с нетрансмуральным инфарктом миокарда. Также установлено, что при остром коронарном синдроме эта инфекция может протекать как по серопозитивному, так и серонегативному типам. Таким образом, острый коронарный синдром может быть ассоциирован с хронической либо острой инфекцией *C. pneumoniae*. Актуальность дальнейшего изучения этой инфекции у пациентов с атеросклерозом подтверждена в очередной раз.

Ключевые слова: нестабильная стенокардия, нетрансмуральный инфаркт миокарда, инфекция *Chlamydomphila pneumoniae*, диагностика, непрямая иммунофлюоресценция, иммуноферментный анализ.

Адрес для переписки:

Тарасов Антон Викторович
191144, Россия, Санкт-Петербург, Заячий пер., 3, кв. 22.
Тел.: 8 950 003-81-56 (моб.).
E-mail: tarasovmed@gmail.com

Contacts:

Anton V. Tarasov
191144, Russian Federation, St. Petersburg, Zayachiy per., 3, 22.
Phone: +7 950 003-81-56 (mobile).
E-mail: tarasovmed@gmail.com

Библиографическое описание:

Тарасов А.В., Куляшова Л.Б., Желтакова И.Р., Хирманов В.Н., Дрыгина Л.Б. Особенности диагностики инфекции, вызванной *Chlamydomphila pneumoniae*, у больных острым коронарным синдромом // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 67–72. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-67-72

Citation:

Tarasov A.V., Kuliashova L.B., Zheltakova I.R., Khirmanov V.N., Drygina L.B. Diagnostics issues of *Chlamydomphila pneumoniae* infection in patients with acute coronary syndrome // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 67–72. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-67-72

DIAGNOSTICS ISSUES OF *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* INFECTION IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

Tarasov A.V.^a, Kuliashova L.B.^b, Zheltakova I.R.^a, Khirmanov V.N.^a, Drygina L.B.^a

^a Nikiiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, St. Petersburg, Russian Federation

^b St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. *Chlamydomphila pneumoniae* is nadotropic to endothelial, smooth muscle cells of blood vessels. Proven ability of the pathogen to initiate atherosclerosis and exacerbate it. The incidence of acute *C. pneumoniae* infection is higher in patients with acute coronary syndrome than in patients with chronic ischemic heart disease according to the published papers. The aim of the research was the diagnostics of *C. pneumoniae* infection in patients with acute coronary syndrome by two methods based on different principles. A total of 20 patients admitted to hospital with a preliminary acute coronary syndrome diagnosis. During the first hospital hours of stay based on complaints, medical history, physical examination, results of laboratory and instrumental examination those patients were diagnosed as unstable angina (n = 10) or nontransmural myocardial infarction (n = 10). According to treatment standart all patients underwent coronary angiography and angioplasty. Furthermore, these patients fulfilled fence of the clinical material as mucosal scrapings nasal passages and posterior wall of the oropharynx applied on glass slides. Also, there were samples of arterial blood smears, obtained from the conductors installed in the locations pointed to implement the coronary arteries and angioplasty. These samples were examined by indirect immunofluorescence with the form of specific monoclonal antibodies against the cell wall major outer membrane protein of *C. pneumoniae*. Serum was used for immunoassay to quantify classes A and G immunoglobulins against *C. pneumoniae*. When comparing the results of two diagnostics methods of *C. pneumoniae* chronic infection, it was diagnosed in 5 of the 20 patients studied. One patient was with unstable angina and 4 were with nontransmural myocardial infarction. The presence of acute infection *C. pneumoniae* has been proven in 9 of 20 patients, including 4 patients with unstable angina and 5 with nontransmural myocardial infarction. Also found that patients with acute coronary syndrome, the infection can occur both by seropositive and seronegative types. Thus, acute coronary syndrome may be associated with chronic or acute infection of *C. pneumoniae*. The relevance of further study of the infection in patients with atherosclerosis was confirmed once again.

Key words: *unstable angina, nontransmural myocardial infarction, Chlamydomphila pneumoniae infection, diagnostic, indirect immunofluorescence, enzyme immunoassay.*

Введение

Острый коронарный синдром (ОКС) — совокупность симптомов и клинических признаков, позволяющих подозревать инфаркт миокарда (ИМ) или нестабильную стенокардию (НС) [1], субстратами для развития которых служат тромбоз или хроническая гемодинамически значимая субокклюзия коронарной артерии. Тромбоз коронарной артерий может развиваться, в том числе, как вследствие разрыва фиброзной капсулы нестабильной атеросклеротической бляшки (АБ) и попадания атероматозной массы в просвет артерии [7], так и по причине массивного локального инфицирования эндотелиоцитов бактерией *Chlamydomphila pneumoniae*, следующими за этим усилением местного протромботического статуса и адгезией тромбоцитов к клеткам эндотелия [5]. Постепенный рост АБ приводит к гемодинамически значимой субокклюзии коронарной артерии, что проявляется манифестацией и последующим прогрессированием ишемической болезни сердца (ИБС).

С точки зрения хламидофильной гипотезы атеросклероза, АБ является ничем иным, как вторичным сосудистым очагом инфекции *C. pneumoniae*, который развивается вследствие гематогенной диссеминации возбудителя

из локализованных на слизистых оболочках дыхательных путей первичных очагов [7].

Диагностика инфекции *C. pneumoniae* у пациентов с ИБС обычно основывается на применении одной лабораторной методики (определение титра специфических иммуноглобулинов в крови, обнаружение антигенов, ДНК либо непосредственно бактерии *C. pneumoniae* в лейкоцитах или в аутопсийном материале АБ) [8].

Исходя из вышесказанного, целями нашего исследования стали:

- диагностика *C. pneumoniae*-инфекции двумя основанными на разных принципах способами;
- трактовка возможных клинико-диагностических ситуации указанной инфекции у пациентов с ОКС.

Материалы и методы

Обследованы пациенты, находившиеся на стационарном лечении в 2014 г. в клинике № 2 ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России (ВЦЭРМ), поступившие с предварительным диагнозом «острый коронарный синдром».

В первые часы нахождения в стационаре на основании жалоб, анамнеза, результатов ин-

струментальных и лабораторных обследований были установлены диагнозы НС ($n = 10$) и не-трансмуральный инфаркт миокарда (НИМ) ($n = 10$). По стандартным показаниям всем указанным больным выполнялись коронароангиография, баллонная ангиопластика и стентирование коронарных артерий.

Протокол обследования данной категории больных был одобрен этическим комитетом ВЦЭРМа. Каждый пациент был проинформирован о целях обследования и дал свое письменное согласие на участие в нем.

У обследованных пациентов выполнялся забор следующего клинического материала: соскоб из слизистой носа, соскоб из задней стенки ротоглотки, артериальная кровь из проводника, установленного в месте пунктированной с целью выполнения коронароангиографии, ангиопластики и стентирования артерии. Из артериальной крови готовили мазки на предметных стеклах, сыворотку крови использовали для иммуноферментного анализа (ИФА).

Диагностика *S. pneumoniae*-инфекции выполнялась в лаборатории иммунологии ФБУН Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера двумя способами, основанными на разных принципах: иммуноферментный анализ для количественного определения титра антител IgG, IgA к *S. pneumoniae* с применением тест-системы фирмы Medac (Германия), а также реакция непрямой иммунофлуоресценции для детекции антигенов клеточной стенки *S. pneumoniae* с применением первых монокло-

нальных антител к *S. pneumoniae* и вторых — меченых флуоресцеин-изотиоцианатом антител IgG фирмы Santa Cruz Biotechnology (США). Постановка реакций выполнялась согласно инструкциям фирм-производителей.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета прикладных программ Statistica [3]. Для случаев, когда признаки имели приближенно нормальное распределение, результаты были представлены в формате $M (s)$, где M — средняя величина изучаемого параметра, s — среднее квадратическое отклонение. Для случаев, когда центральные тенденции и дисперсии количественных признаков не имели приближенно нормального распределения, результаты представлялись в виде $Me (НК; ВК)$, где Me — медиана, НК — нижний квартиль, ВК — верхний квартиль. Оценка различий в выборках осуществлялась при помощи парного критерия Вилкоксона (T) и критерия Фишера (Fisher exact p), которые считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Представлены результаты обследования 20 пациентов: 10 — с НС и 10 — с НИМ.

Краткая клиническая характеристика обследованных пациентов, их анамнеза, некоторых результатов лабораторных и инструментальных обследований указаны в таблице 1.

Как видно из таблицы, пациенты в обеих группах были сопоставимы по полу ($p = 1$) и возрасту ($p = 0,919$).

ТАБЛИЦА 1. КРАТКАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ, ИХ АНАМНЕЗА, НЕКОТОРЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛАБОРАТОРНЫХ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследуемый параметр	Острый коронарный синдром			P
	Все пациенты (n = 20)	Нестабильная стенокардия (n = 10)	Инфаркт миокарда (n = 10)	
Пол (м/ж)		5/5	5/5	1
Возраст (лет)		60,5 (49;75)	59,5 (42;65,5)	0,919
Жалобы, послужившие поводом к госпитализации				
Боль	18/2	9/1	9/1	1
Анамнез				
ИБС	8/12	7/3	1/9	0,02
Выполнявшаяся ранее КАГ	3/17	3/7	0/0	0,44
ГБ	14/6	6/2	8/2	1
СД	6/14	4/6	2/8	0,39
Курение	2/20	0/0	2/8	0,24
Результаты некоторых лабораторных и инструментальных исследований				
Лейкоциты крови ($\times 10^9/л$)		7,76 (3,13)	9,88 (3,17)	0,26
Тропонин I (нг/мл)		0,02 (0,02;0,04)	1,67 (0,65;4,53)	0,007
Общий холестерин (моль/л)		4,81 (0,92)	6,04 (2,4)	0,173
Изменения реполяризации по ЭКГ		7/3	9/3	0,33
Дискинезия миокарда по ЭхоКГ		2/5	7/2	0,13
Фракция выброса ЛЖ по Тейхольцу (%)		65,5 (56;67)	63 (45;67)	0,592

Послужившей поводом к госпитализации жалобой большинства пациентов с НС и НИМ стала ангинозная боль. На подробной характеристике ангинозного болевого синдрома (локализация, иррадиация боли, ее связь с физической нагрузкой, психоэмоциональным напряжением, повышением артериального давления, интенсивность ангинозной боли, частота болевых приступов, продолжительность болевого приступа, толерантность к физической нагрузке, эффект от применения нитратов, наркотических и ненаркотических анальгетиков, вегетативные проявления) мы позволили себе не останавливаться.

Также на основании жалоб, результатов объективного обследования и рентгенограмм органов грудной клетки данных в пользу клинически выраженных проявлений острых или обострения имеющихся хронических заболеваний верхних либо нижних дыхательных путей, которые бы потребовали назначения специфической противовирусной или антибактериальной терапии, получено не было.

Установлено, что до момента настоящей госпитализации ИБС ранее была диагностирована у 7 пациентов с НС и только у 1 пациента с НИМ ($p = 0,02$). Не все пациенты имели так называемые «традиционные» факторы риска развития атеросклероза, а именно: гипертонической болезнью страдали 14, сахарным диабетом — 6, активными курильщиками были лишь 2 из 20 обследованных. Значимых различий в анамнестических указаниях о выполнявшейся ранее коронароангиографии (КАГ) ($p = 0,44$), частотах встречаемости гипертонической болезни ($p = 1$), сахарного диабета ($p = 0,39$), об активном курении ($p = 0,24$) между обследованными пациентами с НС и НИМ выявлено не было.

Анализ результатов некоторых лабораторных и инструментальных методов обследования показал, что значимые различия закономерно были выявлены лишь при сравнении уровней тропонина I сыворотки крови ($p = 0,007$), забранной в первые сутки поступления, что позволило дифференцировать НС от НИМ. Содержание лейкоцитов и общего холестерина в крови было несколько выше у пациентов с НИМ, но значимо не отличалось от таковых у пациентов с НС ($p = 0,26$ и $p = 0,173$ соответственно). Значимых различий в сравненных параметрах электрокардиограмм ($p = 0,33$), дискинезии миокарда ($p = 0,13$) и фракции выброса ЛЖ (0,592) по данным эхокардиографии также получено не было.

Анализ результатов некоторых лабораторных и инструментальных методов обследования показал, что значимые различия закономерно были выявлены лишь при сравнении уровней тропонина I сыворотки крови ($p = 0,007$), забранной в первые сутки поступления, что позволило дифференцировать НС от НИМ. Содержание лейкоцитов и общего холестерина в крови было несколько выше у пациентов с НИМ, но значимо не отличалось от таковых у пациентов с НС ($p = 0,26$ и $p = 0,173$ соответственно). Значимых различий в сравненных параметрах электрокардиограмм ($p = 0,33$), дискинезии миокарда ($p = 0,13$) и фракции выброса ЛЖ (0,592) по данным эхокардиографии также получено не было.

ТАБЛИЦА 2. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ, РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ИХ НА *S. PNEUMONIAE*-ИНФЕКЦИЮ

Изучаемый параметр	Острый коронарный синдром			p
	Все пациенты (n = 20)	Нестабильная стенокардия (n = 10)	Инфаркт миокарда (n = 10)	
Характеристика атеросклеротического поражения коронарных артерий				
Хронические субокклюзия/окклюзия	17/3	9/1	8/2	1
Тромбоз	10/10	3/7	7/3	0,18
Гемодинамически значимое поражение 1 артерии	5/15	3/7	2/8	0,65
Гемодинамически значимое поражение 2 и более артерий	14/6	6/4	8/2	0,38
Результаты количественного определения титров антител к <i>S. pneumoniae</i>				
IgG (Ед/мл)		112,4 (93,8)	200 (140)	0,214
Диагностически значимый титр IgG	15/5	7/2	8/2	1
IgA (Ед/мл)		58,2 (60,3)	72,4 (55,3)	0,813
Диагностически значимый титр IgA	11/9	4/5	7/3	0,37
Результаты реакции НПИФ				
Верхние дыхательные пути	11/9	5/5	6/4	0,68
Лейкоциты крови	13/7	6/4	7/3	0,67
Инфекция <i>S. pneumoniae</i>, диагностированная только на основании реакции ИФА				
		0	2/8	0,24
Инфекция <i>S. pneumoniae</i>, диагностированная только на основании реакции НПИФ				
		0	2/8	0,24
Инфекция <i>S. pneumoniae</i>, диагностированная двумя методами				
Хроническая	5/14	4/5	1/9	0,14
Острая	9/10	4/5	5/5	1

Краткая характеристика атеросклеротического поражения коронарных артерий пациентов, результаты обследования их на *S. pneumoniae*-инфекцию представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, у пациентов с ОКС имел место преимущественно смешанный характер атеросклеротического поражения коронарного русла с преобладанием гемодинамически значимых субокклюзий и/или окклюзий 2 и более артерий, характеризовавшийся одновременно наличием как гемодинамически значимых хронических субокклюзий и/или окклюзий, так и острых тромбозов. Явления острого тромбоза без сопутствующих гемодинамически значимых хронических субокклюзий и/или окклюзий были выявлены только у 3 пациентов. В роли субстрата для развития ОКС тромбоз преобладал у пациентов с ИМ, однако значимых различий в сравнении с пациентами с НС получено не было ($p = 0,18$).

Результаты иммуноферментного анализа показали наличие диагностически значимых титров IgG к *S. pneumoniae* у 15 из 20 обследованных пациентов, из них 7 пациентов с НС и 8 — с НИМ ($p = 1$). Наличие острой фазы *S. pneumoniae*-инфекции было доказано на основании диагностически значимых титров IgA у 11 из 20 пациентов, из них 4 пациента с НС и 7 — с НИМ ($p = 0,37$).

Реакция непрямой иммунофлюоресценции (рис., III обложка) выявила внутриклеточные хламидофильные включения в клетках эпителия верхних дыхательных путей у 11 из 20 обследованных пациентов, из них 5 пациентов были с НС и 6 — с НИМ ($p = 0,68$). Лейкоциты с внутриклеточными хламидофильными включениями были выявлены у 13 из 20 обследованных пациентов, из них 6 пациентов были с НС и 7 — с НИМ ($p = 0,67$).

Только на основании результатов ИФА *S. pneumoniae*-инфекция была диагностирована у 2 пациентов с НИМ. Также у 2 пациентов с НИМ *S. pneumoniae*-инфекция была диагностирована по результатам только реакции непрямой иммунофлюоресценции.

В целом, на основании двух указанных способов, основанных на разных принципах, хроническая *S. pneumoniae*-инфекция была диагностирована у 5 из 20 обследованных пациентов, из них 1 пациент с НС и 4 — с НИМ ($p = 0,14$). Наличие острой *S. pneumoniae*-инфекции было доказано у 9 из 20 пациентов, из них 4 пациента с НС и 5 — с НИМ ($p = 1$).

Обсуждение

Сопоставимые по полу и возрасту обследованные больные нестабильной стенокардией и нетрансмуральным инфарктом миокарда представляют собой однородную группу. Суб-

стратами для развития послужившей поводом к госпитализации ангинозной боли у них служат как локализованный в коронарном русле и сочетающийся с острыми тромбозами хронический атеросклеротический процесс на разных стадиях, так и только острые тромбозы коронарных артерий. Зачастую дебютом ишемической болезни сердца у обследованных больных становился инфаркт миокарда.

Далеко не у всех указанных пациентов имеются такие традиционные факторы риска развития атеросклероза, как гипертоническая болезнь, сахарный диабет, курение, что уже было показано ранее [6].

На момент поступления пациентов убедительных данных в пользу клинически выраженных проявлений острых или обострения имеющихся хронических заболеваний верхних либо нижних дыхательных путей получено не было, что согласуется с известными литературными данными: у 70% инфицированных лиц инфекционный процесс протекает бессимптомно, либо с минимальными катаральными проявлениями, которые в большинстве случаев не требуют обращения за медицинской помощью. Только в 20% случаев инфицирования *S. pneumoniae* развиваются значимые клинические проявления заболеваний верхних дыхательных путей и/или ЛОР-органов, а в 10% случаев — заболеваний нижних дыхательных путей [2, 4].

Тем не менее, результаты обследования на *S. pneumoniae*-инфекцию методами иммуноферментного анализа и непрямой иммунофлюоресценции доказали наличие острой фазы данного заболевания у 9, а хронической инфекции — у 5 представленных пациентов, что не исключает наличие очагов инфекции как в дыхательных путях, так и в атеросклеротической бляшке.

Гематогенная диссеминация возбудителя, которая свидетельствует о генерализации инфекционного процесса, была доказана у 13 обследованных. Преимущественное выявление лейкоцитов с хламидофильными включениями, нежели пораженных клеток цилиндрического эпителия слизистых носовых ходов, может свидетельствовать в пользу диссеминации *S. pneumoniae* из нестабильных атеросклеротических бляшек.

На основании результатов реакции иммуноферментного анализа *S. pneumoniae*-инфекция была диагностирована только у 2 пациентов с НИМ. Это может быть объяснено неинформативностью полученного от пациентов биологического материала. Также у 2 пациентов с НИМ *S. pneumoniae*-инфекция была диагностирована по результатам только реакции непрямой иммунофлюоресценции, что не исключает серонегативный вариант течения инфекционного процесса.

Выводы

По результатам собственных исследований ясно, что острый коронарный синдром может быть ассоциирован с хронической либо острой инфекцией *C. pneumoniae*, протекающей как по серопозитивному, так и серонегативному типам. Таким образом, инфекция

C. pneumoniae может являться не менее актуальным фактором риска начала развития, прогрессирования, нестабильного течения атеросклероза, нежели гипертоническая болезнь, сахарный диабет либо курение, что в очередной раз подтверждает актуальность дальнейшего изучения данной инфекции у пациентов с атеросклерозом.

Список литературы/References

1. Болезни сердца по Браунвальду: руководство по сердечно-сосудистой медицине / Под ред. Лобби П., Боноу Р.О., Манна Д.Л., Зайпса Д.П.; пер. с англ. Оганова Р.Г. М.: Логосфера, 2010. 624 с. [Bolezni serdtsa po Braunval'du: rukovodstvo po serdechno-sosudistoi meditsine / Pod red. Lobbi P., Bonou R.O., Manna D.L., Zaipsa D.P.; per. s angl. Oganova R.G. [Heart disease by Braunwald: manual of cardiovascular medicine / Eds. Lobbi P., Bonou R.O., Mann D.L., Zaips D.P.; transl. from eng. Oganov R.G.]. Moscow: Logosfera, 2010, 624 p.]
2. Лобзин Ю.В., Позняк А.Л., Сидорчук С.Н. Хламидийные инфекции. Диагностика, клиника, лечение, реабилитация: руководство для врачей. СПб.: ООО «Издательство ФОЛИАНТ». 2010. 488 с. [Lobzin Yu.V., Poznyak A.L., Sidorchuk S.N. Khlamidiinye infektsii. Diagnostika, klinika, lechenie, reabilitatsiya: rukovodstvo dlya vrachei [Chlamydial infections. Diagnostics, clinic, treatment, rehabilitation: a guide for physicians]. St. Petersburg: FOLIANT, 2010, 488 p.]
3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. М.: Медиа Сфера, 2006. 312 с. [Rebrova O.Yu. Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh: primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA. 3-e izd. [Statistical analysis of medical data: application of the STATISTICA software package. 3rd ed.]. Moscow: Media Sfera, 2006, 312 p.]
4. Choroszky-Krol E., Frej-Madrzak M., Hober M., Sarowska J., Jama-Kmiecik A. Infections caused by Chlamydia pneumoniae. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2014, vol. 23, no. 1, pp. 123–126.
5. Fryer R.H., Schwobe E.P., Woods M.L., Rodgers G.M. Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induce procoagulant activity. *J. Investig. Med.*, 1997, vol. 45, no. 4, pp. 168–174.
6. Futterman L.G., Lemberg L. Fifty percent of patients with coronary artery disease do not have any of the conventional risk factors. *Am. J. Crit. Care*, 1998, vol. 7, no. 3, pp. 240–244.
7. Shor A. Chlamydia atherosclerosis lesion: discovery, diagnosis and treatment. London: Springer-Verlag London Limited, 2007, 170 p.
8. Watson C., Alp N.J. Role of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis. *Clin. Sci. (London)*, 2008, vol. 114, no. 8, pp. 509–531. doi: 10.1042/CS20070298

Авторы:

Тарасов А.В., аспирант, врач-кардиолог отдела патологии сердца и сосудов ФГБУ Всероссийский центр экстремальной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;
Куляшова Л.Б., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Желтакова И.Р., научный сотрудник лаборатории иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Хирманов В.Н., д.м.н., профессор, зав. отделом патологии сердца и сосудов ФГБУ Всероссийский центр экстремальной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;
Дрыгина Л.Б., д.б.н., профессор, зав. клинико-диагностической лабораторией, ведущий научный сотрудник ФГБУ Всероссийский центр экстремальной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Tarasov A.V., PhD Candidate, Cardiologist, Department of Pathology of the Heart and Blood Vessels; Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, St. Petersburg, Russian Federation;
Kuliashova L.B., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Zheltakova I.R., Researcher, Laboratory of Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Khirmanov V.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Pathology of Heart and Blood Vessels, Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, St. Petersburg, Russian Federation;
Drygina L.B., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, Leading Researcher, Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.10.2015
 Отправлена на доработку 15.01.2016
 Принята к печати 01.03.2016

Received 06.10.2015
 Revision received 15.01.2016
 Accepted 01.03.2016

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРИХОМОНОЗА У ЖЕНЩИН

К.С. Акышбаева, С.М. Нурушева, Л.Т. Альменова

Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Республика Казахстан

Резюме. Проблема урогенитального трихомоноза (УГТ) является актуальной вследствие не только широкой распространенности возбудителя данного заболевания и вызываемых им полиорганных поражений, но и его способностью негативно влиять на репродуктивное здоровье. В Республике Казахстан УГТ занимает одно из ведущих мест в структуре инфекций, передаваемых половым путем: в 2011 г. — 51,5%; 2012 г. — 43,5%; 2013 г. — 42,0% с преобладанием сочетанной инфекции с другими ИППП, при которых частота осложнений возрастает в 2 раза и носит более глубокий характер: с вовлечением в воспалительный процесс верхнего отдела урогенитального тракта. Регистрируемая заболеваемость трихомонозом по РК характеризуется ежегодным снижением (с 2011 г. — снижение в 1,5 раза) на фоне небольших колебаний заболеваемости сифилисом, гонореей, хламидиозом, что указывает на большой скрытый резервуар инфекции и низкий уровень диагностики. Наиболее ярко демонстрирует данную ситуацию заболеваемость по 2 городам-мегаполисам: так в г. Астане в 2013 г. регистрируемая заболеваемость снизилась в 2,8 раза по сравнению с 2011 г., в г. Алматы — в 6 раз в 2012 г. и в 4,3 раза в 2013 г. Проведенный клинико-эпидемиологический анализ заболеваемости УГТ у женщин позволил установить следующее: в последние годы наблюдается тенденция к росту урогенитального трихомоноза со значительным удельным весом латентных бессимптомных форм (более одной четверти больших УГТ); УГТ наиболее часто встречается у лиц молодого возраста (средний возраст — 30,5±2,5 лет); в половине случаев регистрируется микст-трихомонадная инфекция (в основном в сочетании с хламидийной), что обуславливает высокую частоту осложнений со стороны внутренних половых органов; наблюдается высокая частота сочетания трихомонадной инфекции с инфекциями, обусловленными дрожжеподобными грибами рода *Candida*, микоплазмами, что определяет перспективность комбинированной терапии УГТ в сочетании с препаратами, корригирующими иммунодефицитное состояние; наблюдается достаточно высокая частота гинекологической патологии, частота выраженности которой зависит от спектра возбудителей, находящихся в ассоциации с *T. vaginalis*. На основании полученных данных целесообразно выделить женщин с трихомонадной инфекцией урогенитального тракта в группу риска по развитию осложнений, влияющих на репродуктивную функцию. При УГТ развивается выраженный дисбактериоз урогенитального тракта с преобладанием в микрофлоре представителей рода *Staphylococcus*, обладающих адгезивной, лизоцимогенной, гемолитической активностью, что необходимо учитывать при проведении комбинированной терапии с включением препаратов, корригирующих микрофлору. Частота различных осложнений

Адрес для переписки:

Акышбаева Кульбаршин Сабировна
050000, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Толе би, 88,
Казахский национальный медицинский университет
им. С.Д. Асфендиярова.
Тел.: +7 (727) 388-70-80 (служебн.); +7 701 707-96-45 (моб.).
E-mail: azuritIO@mail.ru

Contacts:

Kulbarshin S. Akyshbayeva
050000, Republic of Kazakhstan, Almaty, Tole bi str., 88,
Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov.
Phone: +7 (727) 388-70-80 (office); + 7 701 707-96-45 (mobile).
E-mail: azuritIO@mail.ru

Библиографическое описание:

Акышбаева К.С., Нурушева С.М., Альменова Л.Т. Клинико-эпидемиологические факторы, определяющие распространенность и клиническое течение урогенитального трихомоноза у женщин // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 73–80. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-73-80

Citation:

Akyshbayeva K.S., Nurusheva S.M., Almenova L.T. Clinical and epidemiological factors determining propagation and clinic of urogenital trichomoniasis in women // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 73–80. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-73-80

была достоверно выше у больных с микст-инфекцией. Особое внимание обращает на себя высокая частота аднексита и миомы матки: она была равнозначной и превышала аналогичные показатели в 1,9 раза и 5 раз соответственно (38,0 против 20,0 и 7,8%, $p < 0,05$) при моноинфекции. В этой группе киста яичников регистрировалась в 10,1% случаев. В основном вышеуказанные заболевания отмечены у больных трихомонадно-хламидийной инфекцией. Аднексит и миома матки во всех 30 случаях регистрировались у больных с данной сочетанной инфекцией, что составило $75,0 \pm 6,8\%$. Наши данные согласуются с результатами исследования о высоком риске воспалительных заболеваний органов таза у женщин с трихомонозом. Другие исследования сообщили о возрастании в 1,9 раза риска трубного бесплодия у женщин с трихомонозом. Трихомоноз может также играть роль в неоплазии шейки матки и послеоперационных инфекциях.

Ключевые слова: урогенитальный трихомоноз, эпидемиологическая ситуация в Казахстане, моноинфекция, микст-инфекция, дисбактериоз урогенитального тракта.

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FACTORS DETERMINING PROPAGATION AND CLINIC OF UROGENITAL TRICHOMONIASIS IN WOMEN

Akyshbayeva K.S., Nurusheva S.M., Almenova L.T.

Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, Almaty, Republic of Kazakhstan

Abstract. The problem of urogenital trichomoniasis (UGT) is relevant not only due to its high prevalence and multiple organ lesions, but also to the ability to have a negative impact on reproductive health. In Kazakhstan, UGT is one of the leading infections in the structure of sexually transmitted infections: in 2011 51.5%; 2012 — 43.5%; 2013 — 42.0% with the prevalence of co-infection with other STIs, in which the rate of complications is increased by 2 times and are more profound with the involvement of inflammation in the upper urogenital tract. The recorded incidence of trichomoniasis in the RK is characterized by annual rate decrease (since 2011 a 1.5 times decrease) due to small fluctuations of syphilis, gonorrhoea, chlamydia morbidity which indicates a large reservoir of latent infection, and low level of diagnostics. Most clearly demonstrates this situation an incidence of UGT in 2 cities: so in Astana in 2013, the recorded incidence decreased by 2.8 times compared to 2011; in Almaty — 6 times in 2012 and 4.3 times in 2013. Conducted clinical and epidemiological analysis of UGT morbidity in women allowed to identify the following: in recent years the tendency of UGT to growth with a significant proportion of latent asymptomatic forms (for more than one quarter of patients with UGT, UGT is most common in young adults, average age 30.5 ± 2.5 years); in half of the cases recorded, mixed trichomonas infection, mostly in combination with *Chlamydia*, which causes a high incidence of complications of the upper urogenital tract; there is a high frequency of trichomonas infection combination with infections caused by *Candida*, mycoplasma, which determines the prospects of the combination therapy UGT in combination with drugs, correcting immunodeficiency. There is quite a high incidence of gynecological pathology, the severity of which depends on the frequency of the spectrum of pathogens that are associated with *T. vaginalis*. The data obtained allows to select women with trichomonas infection of the urogenital tract with the complication risk that affect the reproductive function; UGT develops together with urogenital tract dysbacteriosis with a predominance of Staphylococcus species, having adhesive, lysosimogenic, hemolytic activity that must be considered when conducting a combined therapy with drugs, correcting microflora. The frequency of various complications was significantly higher in patients with mixed infection. Particular attention is drawn to the attention of the high frequency of adnexitis, uterine fibroids, their rate was equivalent to and higher than the corresponding figures of 1.9 times and 5 times, respectively (38.0% versus 20.0% and 7.8%, $p < 0,05$) at mono-infection. In this group of ovarian cyst recorded in 10.1% of cases. Basically, the above-mentioned diseases were observed in patients with trichomonas, chlamydial infection. Adnexitis and uterine fibroids in all 30 cases were recorded in patients co-infected with this that has made $75,0 \pm 6,8\%$. Our findings are consistent with studies of high risk of pelvic inflammatory disease in women with trichomoniasis. Other studies have reported increases of 1.9 times the risk of tubal infertility in women with trichomoniasis. Trichomoniasis can also play a role in cervical neoplasia and postoperative infections.

Key words: urogenital trichomoniasis, the epidemiological situation in Kazakhstan, mono-infection, mixt-infection, urogenital tract dysbiosis.

Введение

Проблема урогенитального трихомоноза (УГТ) является актуальной вследствие не только широкой распространенности возбудителя данного заболевания и вызываемых им полиорганных поражений, но и способностью негативно влиять на репродуктивное здоровье [7,

9, 19]. В Республике Казахстан (РК) УГТ занимает одно из ведущих мест в структуре инфекций, передаваемых половым путем (ИППП): в 2011 г. — 51,5%; 2012 г. — 43,5%; 2013 г. — 42,0%, с преобладанием сочетанной инфекции с другими ИППП, при которых частота осложнений возрастает в 2 раза и носит более глубокий характер с вовлечением в воспалительный про-

цесс верхнего отдела урогенитального тракта. Регистрируемая заболеваемость трихомонозом по РК характеризуется ежегодным снижением (с 2011 г. снижение в 1,5 раза) на фоне небольших колебаний заболеваемости сифилисом, гонореей, хламидиозом, что указывает на большой скрытый резервуар инфекции и низкий уровень диагностики. Наиболее ярко демонстрирует данную ситуацию заболеваемость по 2 городам-мегаполисам: так, в г. Астане в 2013 г. регистрируемая заболеваемость снизилась в 2,8 раза по сравнению с 2011 г.; в г. Алматы — в 6 раз в 2012 г. и 4,3 раза в 2013 г.

Трихомоноз характеризуется достаточно широким распространением бессимптомной и недиагностированной формами заболевания [2, 14] с высоким риском половой трансмиссии ВИЧ-инфекции [10, 16]. Эту взаимосвязь ряд авторов объясняют двумя обстоятельствами: разрушением эпителиального монослоя с последующим увеличением проникновения ВИЧ, а также индуцированной *T. vaginalis* иммунной активацией, в частности, лимфоцитов с продукцией цитокинов, приводящей к увеличению репликации ВИЧ в инфицированных клетках. Трихомонадная инфекция также повышает восприимчивость к другим вирусам, в том числе к вирусу герпеса и вирусу папилломы человека (ВПЧ) [32]. *T. vaginalis* может увеличить скорость инфекции или реактивацию ВПЧ [30, 34]. Риск ВИЧ-инфекции у больных с трихомонозом возрастает в 2 раза [18]. Частота трихомонадной инфекции среди ВИЧ-положительных варьируется от 6,1 до 52,5% [17, 20, 23, 28, 35] против 32–34% среди ВИЧ-негативных пациентов [7, 14]. Распространенность УГТ в клиниках ИППП колеблется от 15 до 54% [2]. Среди лиц, обращающихся в акушерско-гинекологические учреждения, трихомонадные поражения выявляются у 20–40%, кожно-венерологические — до 60% [27, 36]. Более высокие показатели распространенности УГТ авторы приводят среди женщин-заключенных в тюрьмах (31,2–46,9%) [32]. Наблюдается рост резистентности *T. vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола, являющихся единственным классом препаратов, рекомендованных для лечения, не оставляя альтернативы при рецидивах и неудачах терапии [5, 10, 19, 31, 37]. Трихомонадная инфекция, вызванная резистентными штаммами, характеризуется длительным течением, чаще требует госпитализации с увеличением продолжительности пребывания больных в стационарах, что отражается на росте экономических потерь, ухудшает прогноз в связи с развитием серьезных осложнений со стороны репродуктивной системы.

В связи с вышеизложенным, наиболее актуальным вопросом является выявление основ-

ных факторов, определяющих распространенность, клиническое течение УГТ у женщин, что и определило цель настоящего исследования.

Материалы и методы

Ретроспективный анализ клинико-лабораторных данных был проведен у 169 женщин с диагнозом УГТ, находившихся на амбулаторном и стационарном лечении в дерматовенерологических учреждениях г. Алматы. Лабораторные исследования базировались на комплексе диагностических методов выявления гонореи, хламидиоза, гарднереллеза, микоплазмоза, уреаплазмоза, кандидоза (микроскопические, культуральные, ИФА, ПЦР). Диагностику трихомонадной инфекции проводили бактериоскопическим (нативный препарат, окраска по Романовскому–Гимзе, Граму) и бактериологическим методами (среда СКДС, Джонсона–Трасселя). Для микробиологического исследования использовали материал из очагов поражения (уретра, влагалище). Полученные результаты исследований обработаны стандартным методом вариационной статистики с оценкой достоверности по t-критерию Стьюдента. Приводятся средние арифметические значения и их отклонения ($M \pm m$). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В исследование были включены женщины в возрасте от 16 до 44 лет, средний возраст — $30,6 \pm 2,5$ года. В зависимости от характера инфицирования, больные были разделены на 2 группы: I группа — больные с монотрихомонадной инфекцией ($n = 90$), удельный вес которых составил 53,3%, II группа — с микст-трихомонадной инфекцией ($n = 79$) — 46,7%. Преобладание микст-инфекций в настоящем исследовании отражает сложившуюся ситуацию по трихомонадной инфекции [11].

Значимых различий по показателю среднего возраста не выявлено: 31,2 и 29,7 лет соответственно. Средний возраст пациенток обеих групп показывает, что в основном УГТ наблюдается у лиц наиболее репродуктивного возраста. В отличие от других ИППП, УГТ, как правило, более распространен среди лиц старше 25 лет [21]. Результаты исследования [29] показали, что распространенность УГТ среди лиц в возрасте 18–24 года — 2,3%, и 4% среди лиц 25 лет и старше. Настораживают данные авторов о более высокой частоте УГТ по сравнению с гонореей среди девочек-подростков, что особенно важно, если учесть, что *Trichomonas vaginalis* увеличивает восприимчивость к другим инфекциям [11]

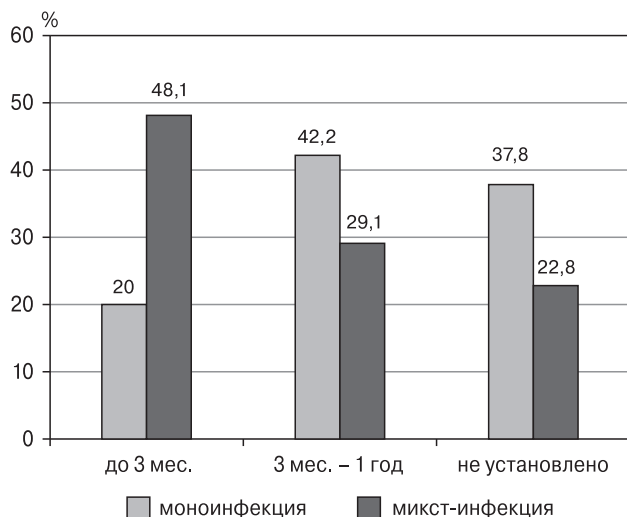


Рисунок 1. Распределение больных по давности заболевания в зависимости от моно- и микст-инфекции

Основная часть больных женщин была замужем: $74,0 \pm 3,4\%$; по группам — 71,0 и 77,2% соответственно. Установлена зависимость давности заболевания от моно- и микст-инфекции. Так, давность заболевания до 3 мес. в 2,4 раза чаще установлена в группе с микст-инфекцией (48,1 против 20,0%), что можно объяснить более яркой манифестацией клинических симптомов (рис. 1). На этом же рисунке продемонстрирована зависимость клинического течения УГТ от присоединения сопутствующих инфекций: монотрихомонадная инфекция в 1,5 раза чаще имеет более длительное течение, с хронизацией процесса (42,2 против 29,1% при микст-инфекции). Частота бессимптомного течения УГТ в 1,7 раз превышает показатель при микст-инфекции (37,8 против 22,8%). Эти данные показывают, что ранее выявленные закономерности клинического течения УГТ, когда почти у половины инфицированных женщин и у 90–100% инфицированных мужчин заболевание протекает бессимптомно [15, 22], сохраняются.

УГТ тесно связан с другими ИППП, в том числе с гонореей и хламидиозом [33]. Как было указано выше, число больных с микст-трихомонадной инфекцией составило 46,7%. Распределение больных данной группы в зависимости от характера сочетанной инфекции представлено в таблице 1. Из данных таблицы видно, что у 45,6% больных наблюдалось сочетание с 2–3 инфекциями, в основном с микоплазменной и хламидийной (27,8%).

Частота сочетания УГТ с другими ИППП представлена на рисунке 2. Наиболее частой коинфекцией является хламидийная, которая зарегистрирована у 40 (50,6%) и микоплазменная — у 29 (36,7%) больных. Не менее значимыми являются гарднереллезная 21 (26,6%) и кандидозная 20 (25,3%) инфекции, что свидетельствует о возможном развитии вторичного иммунодефицитного состояния, способствующее активизации условно-патогенных микроорганизмов. Лишь в 6,3% регистрировалась гонококковая инфекция.

При ассоциации с другими ИППП, трихомонады являются определяющим, доминирующим ассоциантом. На фоне трихомоноза происходит сдвиг рН-влажалищного содержимого в сторону щелочной реакции, что становится неблагоприятным фактором для жизнедеятельности нормальной микрофлоры и приводит к усиленному росту анаэробных бактерий. Трихомонады, благодаря наличию протеаз, не только сами могут проникать глубоко в ткани, но и обуславливают развитие инфильтративных, эрозивно-язвенных процессов и метаплазию эпителия, тем самым способствуя проникновению в организм бактериальной условно-патогенной флоры [25]. По нашим данным, в 55,0% случаев у больных УГТ были выделены микроорганизмы рода *Staphylococcus*, в основном представленные *S. aureus*. О развитии дисбиоза урогенитального тракта свидетельствует тот факт, что 91,4% штаммов *S. aureus* обладали адгезивной и 35,5% — лизоцимогенной, 70,0% — гемолитической активностью. Полученные данные представляют интерес в аспекте

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ ПО ХАРАКТЕРУ МИКСТ-ИНФИЦИРОВАНИЯ (n = 79)

Показатель	абс.	%
I. Сочетание с 1 инфекцией:		
– трихомонадно-гонококковая	5	6,3
– трихомонадно-хламидийная	18	22,8
– трихомонадно-кандидозная	13	16,4
– трихомонадно-гарднереллезная	7	8,9
Всего	43	54,4
II. Сочетание с 2–3 инфекциями:		
– трихомонадно-кандидозно-гарднереллезная	7	8,9
– трихомонадно-микоплазменно-гарднереллезная	7	8,9
– трихомонадно-микоплазменно-хламидийная	22	27,8
Всего	36	45,6

способности вагинальной сопутствующей флоры инактивировать метронидазол, что приводит к безуспешности терапии [8, 38].

Наиболее частым симптомом являлись: выделения из половых путей (52,1%), зуд, жжение (27,8%), дизурические явления (30,8%); 23,7% больных не предъявляли никаких жалоб. К различиям, обращающим на себя внимание, при анализе заболевания (в зависимости от моно- и микст-инфицирования) следует отнести следующие: при микст-трихомонадной инфекции в 2,5 раза чаще жалобы были на выделения, в 2 раза — на зуд, жжение. Однако при моно-трихомонадной инфекции преобладает бессимптомное течение заболевания — в 2,7 раза (35,4 против 13,3%) (рис. 3). Большинство симптомов, описанных выше, не являются специфическими для УГТ, и могут наблюдаться при других инфекциях. В исследовании Wolner-Hanssen P. и соавт. прогностическое значение визуальных показателей УГТ оценивалось в 47% [40]. Выделения из влагалища наблюдаются лишь у 42% инфицированных женщин [2, 24]. В таблице 3 представлены данные о частоте вовлечения в воспалительный процесс нижних отделов урогенитального тракта в зависимости от присоединения других ИППП.

Сочетанное поражение экзоцервикса и слизистой цервикального канала является одним из характерных клинических проявлений заболевания. Определяющую роль в развитии симптоматики цервикагоинита играет формирование различных ассоциаций трихомонад с патогенными и условно патогенными микроорганизмами урогенитального тракта, а также индивидуальная реактивность макроорганизма. Чаще всего регистрируются трихомонадно-бактериальная (в сочетании с *Enterococcus* spp., *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*) и трихомонадно-микотическая инфек-

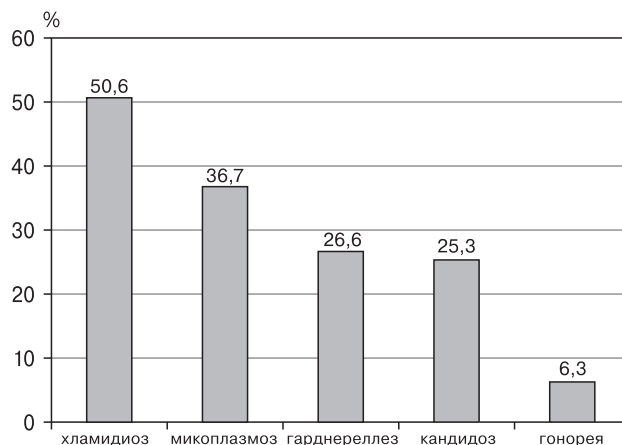


Рисунок 2. Частота ИППП у больных урогенитальным трихомонозом

ции [3]. Наличие хронического воспалительного процесса в области шейки матки может приводить к формированию скрытой очаговой инфекции и являться основным звеном хронизации процесса. Свойство *T. vaginalis* глубоко проникать в субэпителиальные слои с помощью комплекса ферментов, способствует внедрению в межклеточные пространства различных микроорганизмов с расширением очагов поражения [8, 26, 38]. Это положение подтверждается данными табл. 2, когда при ассоциированных инфекциях увеличивается частота сочетанного поражения влагалища и уретры (60,7 против 47,8%) уменьшается процент изолированных поражений уретры и влагалища (7,6 и 31,6% против 16,6 и 35,5%).

Из гинекологических заболеваний наиболее часто диагностированы: эрозия шейки матки — 34,3%, аднексит (одно-/двухсторонний) — 24,8% и миома матки — 16,0%; киста яичников составила $8,9 \pm 2,2\%$ (табл. 3).

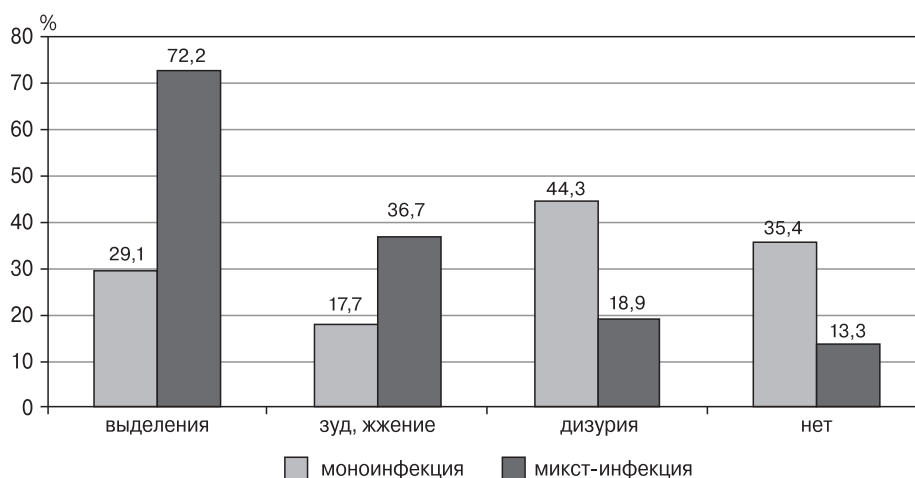


Рисунок 3. Жалобы больных урогенитальным трихомонозом, в зависимости от моно- и микст-инфекции

ТАБЛИЦА 2. ОЧАГИ ПОРАЖЕНИЯ ПРИ МОНО- И МИКСТ-ТРИХОМОАДНОЙ ИНФЕКЦИИ

Очаги поражения нижних отделов урогенитального тракта	Моноинфекция (n = 90)		Микст-инфекция (n = 79)	
	абс.	%	абс.	%
Уретра	15	16,7	6	7,6
Влагалище	32	35,5	25	31,6
Уретра, влагалище	43	47,8	48	60,8

ТАБЛИЦА 3. ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ ТРИХОМОНОЗЕ

Нозологические формы	Всего (n = 169)	Моно-инфекция (n = 90)	Микст-инфекция (n = 79)
Эрозия шейки матки	58/34,3	31/34,4	25/31,6
Аднексит	42/24,8	18/20,0	30/38,0
Миома матки	27/16,0	7/7,8	30/38,0
Киста яичников	15/8,9	7/7,8	8/10,1

Примечание. Числитель — абсолютное число; знаменатель — относительное число.

Как видно из данных, представленных в таблице 3, частота различных осложнений была достоверно выше у больных с микст-инфекцией. Особое внимание обращает на себя высокая частота аднексита, миомы матки: их частота была равнозначной и превышала аналогичные показатели в 1,9 и 5 раз соответственно (38,0 против 20,0 и 7,8%, $p < 0,05$) при моноинфекции. В этой группе киста яичников регистрировалась в 10,1% случаев. В основном вышеуказанные заболевания отмечены у больных трихомонадно-хламидийной инфекцией. Аднексит и миома матки во всех 30 случаях регистрировались у больных с данной сочетанной инфекцией, что составило $75,0 \pm 6,8\%$. Наши данные согласуются с результатами исследования о высоком риске воспалительных заболеваний органов таза у женщин с трихомонозом [34]. Другие исследования сообщили о возрастании в 1,9 раза риска тубного бесплодия у женщин с трихо-

монозом [6]. Трихомоноз может также играть роль в неоплазии шейки матки и послеоперационных инфекциях [13].

Выводы

Таким образом, проведенный клинико-эпидемиологический анализ заболеваемости УГТ у женщин позволил констатировать следующее:

- в последние годы наблюдается тенденция к росту УГТ со значительным удельным весом латентных бессимптомных форм (у более 37,8 больных УГТ);
- УГТ наиболее часто встречается у лиц молодого возраста, средний возраст: $30,5 \pm 2,5$ лет);
- в половине случаев регистрируется микст-трихомонадная инфекция, в основном в сочетании с хламидийной, что обуславливает высокую частоту осложнений со стороны верхних отделов гениталий; наблюдается высокая частота сочетания трихомонадной инфекции с инфекциями, обусловленными дрожжеподобными грибами рода *Candida*, микоплазмами, что определяет перспективность комбинированной терапии УГТ в сочетании с препаратами, корригирующими иммунодефицитное состояние;
- наблюдается достаточно высокая частота гинекологической патологии, выраженность которой зависит от спектра возбудителей, находящихся в ассоциации с *T. vaginalis*; на основании полученных данных целесообразно выделить женщин с трихомонадной инфекцией урогенитального тракта в группу риска по развитию осложнений, влияющих на репродуктивную функцию;
- при УГТ развивается выраженный дисбактериоз урогенитального тракта с преобладанием в микрофлоре представителей рода *Staphylococcus*, обладающих адгезивной, лизоцимогенной, гемолитической активностью, что необходимо учитывать при проведении комбинированной терапии с включением препаратов, корригирующих микрофлору.

Список литературы/References

1. Горчаков Д.А., Луцевич И.Н., Софьина А.В., Софьин В.С. Лекарственная устойчивость *T. vaginalis* как проявление наследуемой модификационной изменчивости у простейших // Фундаментальные исследования. 2012. № 12 (часть 1). С. 40–43. [Gorchakov D.A., Lutsevich I.N., Sofina A.V., Sofin V.S. Drug resistance *T. vaginalis* as a manifestation of an inherited modification variability in the simplest. *Fundamental'nye issledovaniya = Basic Research*, 2012, no. 12 (part 1). pp. 40–43. (In Russ.)]
2. Клименко Б.В., Авазов Э.Р., Барановская В.Б. Трихомониаз у мужчин, женщин и детей. СПб.: Сюжет: Русская графика, 2001. 183 с. [Klimenko B.V., Avazov E.R., Baranovskaya V.B. *Trichomoniasis u muzhchin, zhenshchin i detei* [Trichomoniasis in men, women and children]. SPb.: Syuzhet: Russkaya grafika, 2001, 183 p.]
3. Кобзева А.В. Экспериментальное изучение развития резистентности *Trichomonas vaginalis* к противопроtozoальным препаратам // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2012. Т. 2, № 2. [Kobzeva A.V. Experimental study of *Trichomonas vaginalis* resistance to antiprotozoal drugs. *Byulleten' meditsinskikh Internet-konferentsii = Bulletin of Medical Internet Conference*, 2012, vol. 2, no. 2, p. 69. (In Russ.)]

4. Мавров Г.И. Половые болезни: руководство для врачей, интернов и студентов. Харьков: Факт, 2003. 789 с. [Mavrov G.I. Polovye bolezni: rukovodstvo dlya vrachei, internov i studentov [Sexual disease: guidelines for physicians, interns and students]. *Kharkov: Fact, 2003, 789 p.*]
5. Мавров Г.И., Осинская Т.В. Проблемы трихомонадной инфекции у беременных и новорожденных: эпидемиология, особенности клиники, диагностики, лечения и профилактики // Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2007. № 2. С. 74–78. [Mavrov G.I., Osynskaya T.V. Problems trichomonas infection in pregnant women and newborns: epidemiology, clinical features, diagnosis, treatment and prevention. *Ukraïns'kii zhurnal dermatologii, venerologii, kosmetologii = Ukrainian Journal of Dermatology, Venereology, Cosmetology, 2007, no. 2, pp. 74–78. (In Russ.)*]
6. Охупкин М.Б., Хитров М.В., Ильяшенко И.Н. Инфекционные заболевания в акушерстве и гинекологии: пособие для врачей и интернов. Ярославль: ЯГМА, 2003. 12 с. [Ochapkin M.B., Hitrov M.V., Ilyashenko I.N. Infektsionnye zabolevaniya v akusherstve i ginekologii: posobie dlya vrachei i internov [Infectious diseases are in obstetrics and gynecology: manual for doctors and interns]. *Yaroslavl: YaGMA, 2003, 12 p.*]
7. Рахматулина М.Р. Новые возможности терапии урогенитальных инфекционных заболеваний // Урология, гинекология, дерматовенерология. 2007. № 10. С. 26–31. [Rahmatulina M.R. New possibilities of therapy of urogenital infectious diseases. *Urologiya, ginekologiya, dermatovenerologiya = Urology, Gynecology, Dermatovenerology, 2007, no. 10, pp. 26–31. (In Russ.)*]
8. Рыжко П.П. Современные принципы комплексной терапии трихомонадной и хламидийной инфекций // Жіночий лікар. 2008. № 3. С. 26. [Rizhko P.P. Modern principles of complex therapy of trichomonas and chlamydial infections. *Zhinochij likar = Female Doctor, 2008, no. 3, p. 26. (In Russ.)*]
9. Серов В.Н. Современные принципы профилактики и лечения воспалительных заболеваний женских половых органов в оперативной и неоперативной гинекологии: методические рекомендации для врачей акушеров-гинекологов. М., 2005. 52 с. [Serov V.N. Sovremennye printsipy profilaktiki i lecheniya vospalitel'nykh zabolevanii zhenskikh polovyykh organov v operativnoi i neoperativnoi ginekologii: metodicheskie rekomendatsii dlya vrachei akusherov-ginekologov [Modern principles of prevention and treatment of inflammatory diseases of the female genital organs in the operational and non-operational gynecology: guidelines for obstetricians and gynecologists]. *Moscow, 2005. 52 p.*]
10. Халдин А.А. Современное состояние проблемы негонококковых уретритов и перспективы их терапии // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2004. № 3. С. 42–45. [Haldin A.A. Current status of non-gonococcal urethritis and prospects for therapy. *Rossiiskii zhurnal kozhnykh i venericheskikh boleznei = Russian Journal of Skin and Venereal Diseases, 2004, no. 3, pp. 42–45. (In Russ.)*]
11. Шкарупета М.М., Копылов В.М., Байцур М.В., Портнова Н.И. Урогенитальный трихомониаз: пособие для врачей, 5-е изд. (перераб. и доп.) / Под общ. ред. В.М. Говоруна. М.: 2009. 55 с. [Shkarupeta M.M., Kopylov V.M., Baysur M.V., Portnova N.I. Urogenital'nyi trikhomoniaz: posobie dlya vrachei, 5-e izd. (pererab. i dop.) / Ed. by V.M. Govorun]. *Moscow, 2009. 55 p.*]
12. Bachmann L.H., Hobbs M.M., Seña A.C., Sobel J.D., Schwebke J.R., Krieger J.N., McClelland R.S., Workowski K.A. Trichomonas vaginalis genital infections: progress and challenges. *Clin. Infect. Dis., vol. 53, suppl. 3, pp. 160–172. doi: 10.1093/cid/cir705*
13. Bell C., Hough E., Smith A., Greene L. Targeted screening for Trichomonas vaginalis in women, a pH-based approach. *Int. J. STD AIDS, 2007, vol. 18, no. 6, pp. 402–403.*
14. Brogly S.B., Watts D.H., Ylitalo N., Franco E.L., Seage G.R.3rd, Oleske J., Eagle M., Van Dyke R. Reproductive health of adolescent girls perinatally infected with HIV. *Am. J. Publ. Health, 2007, vol. 97, pp. 1047–1052. doi: 10.2105/AJPH.2005.071910*
15. Fouts A.C., Kraus S.J. Trichomonas vaginalis: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J. Infect. Dis., 1980, vol. 141, no. 2, pp. 137–143. doi: 10.1093/infdis/141.2.137*
16. Garcia A., Exposto F., Prieto E., Lopes M., Duarte A., Correia da Silva R. Association of Trichomonas vaginalis with sociodemographic factors and other STDs among female inmates in Lisbon. *Int. J. STD AIDS, 2004, vol. 15, no. 9, pp. 615–618.*
17. Gehrig S., Efferth T. Development of drug resistance in Trichomonas vaginalis and its overcoming with natural products. *The Open Bioactive Compounds Journal, 2009, vol. 2, pp. 21–28. doi: 10.2174/1874847300902010021*
18. Grodstein F., Goldman M.B., Ryan L., Cramer D.W. Relation of female infertility to consumption of caffeinated beverages. *Am. J. Epidemiol., 1993, vol. 137, no. 12, pp. 1353–1360.*
19. Huppert J.S. Trichomoniasis in teens: an update. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol., 2009, vol. 21, no. 5, pp. 371–378. doi: 10.1097/GCO.0b013e3283282e0827*
20. Johnston V.J., Mabey D.C. Global epidemiology and control of Trichomonas vaginalis. *Curr. Opin. Infect. Dis., 2008, vol. 21, pp. 56–64. doi: 10.1097/QCO.0b013e3282f3d999*
21. Joyner J.L., Douglas J.M., Ragsdale S., Foster M., Judson F.N. Comparative prevalence of infection with Trichomonas vaginalis among men attending a sexually transmitted diseases clinic. *Sex. Transm. Dis., 2000, vol. 27, no. 4, pp. 236–240.*
22. Kalichman S.C., Pellowski J., Turner C. Prevalence of sexually transmitted co-infections in people living with HIV/AIDS: systematic review with implications for using HIV treatments for prevention. *Sex. Transm. Infect., 2011, vol. 87, pp. 183–190. doi: 10.1136/sti.2010.047514*
23. Kirkcaldy R.D., Augostini P., Asbel L.E., Bernstein K.T., Kerani R.P., Mettenbrink C.J., Pathela P., Schwebke J.R., Secor W.E., Workowski K.A., Davis D., Braxton J., Weinstock H.S. Trichomonas vaginalis antimicrobial drug resistance in 6 US cities, STD Surveillance Network, 2009–2010. *Emerg. Infect. Dis., 2012, vol. 18, no. 6, pp. 939–943. doi: 10.3201/eid1806.111590*
24. Kissinger P., Amedee A., Clark R.A., Dumestre J., Theall K.P., Myers L., Hagensee M.E., Farley T.A., Martin D.H. Trichomonas vaginalis treatment reduces vaginal HIV-1 shedding. *Sex. Transm. Dis., 2009, vol. 36, no. 1, pp. 11–16. doi: 10.1097/OLQ.0b013e318186def*
25. Kissinger P., Adamski A. Trichomoniasis and HIV interactions: a review. *Sex. Transm. Infect., 2013, vol. 89, no. 6, pp. 426–433. doi: 10.1136/sextrans-2012-051005*
26. McClelland R.S., Sangare L., Hassan W.M., Lavreys L., Mandaliya K., Kiarie J., Ndinya-Achola J., Jaoko W., Baeten J.M. Infection with Trichomonas vaginalis increases the risk of HIV-1 acquisition. *J. Infect. Dis., 2007, vol. 195, no. 5, pp. 698–702. doi: 10.1086/511278*

27. Miller M., Liao Y., Wagner M., Korves C. HIV, the clustering of sexually transmitted infections, and sex risk among African American women who use drugs. *Sex. Transm. Dis.*, 2008, vol. 35, no. 7, pp. 696–702. doi: 10.1097/OLQ.0b013e31816b1fb8
28. Miller W.C., Swygard H., Hobbs M.M., Ford C.A., Handcock M.S., Morris M., Schmitz, J.L., Cohen M.S., Harris K.M., Udry J.R. The prevalence of trichomoniasis in young adults in the United States. *Sex. Transm. Dis.*, 2005, vol. 32, no. 10, pp. 593–598.
29. Petrin D., Delgaty K., Bhatt R., Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998, vol. 11, no. 2, pp. 300–317.
30. Ryan K.A., Zekeng L., Roddy R.E., Weer S.S. Prevalence and prediction of sexually transmitted disease among sex workers in Cameroon. *Int. J. STD AIDS*, 1998, vol. 9, no. 7, pp. 403–407.
31. Schwebke J.R., Burgess D. Trichomoniasis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2004, vol. 17, no. 4, pp. 794–803. doi: 10.1128/CMR.17.4.794-803.2004
32. Sobel J.D. What's new in bacterial vaginosis and trichomoniasis? *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 2005, vol. 19, no. 2, pp. 387–406. doi: 10.1016/j.idc.2005.03.001
33. Soper D. Trichomoniasis: under control or undercontrolled? *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2004, vol. 190, no. 1, pp. 281–290.
34. Soper D.E., Bump R.C., Hurt W.G. Bacterial vaginosis and trichomoniasis vaginitis are risk factors for cuff cellulitis after abdominal hysterectomy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990, vol. 163, no. 3, pp. 1016–1021.
35. Sutton M., Sternberg M., Koumans E.H., McQuillan G., Berman S., Markowitz L. The prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection among reproductive-age women in the United States, 2001–2004. *Clin. Infect. Dis.*, 2007, vol. 45, no. 10, pp. 1319–1326. doi: 10.1086/522532
36. Sayed el-Ahl S.A., el-Wakil H.S., Kamel N.M., Mahmoud M.S. A preliminary study on the relationship between *Trichomonas vaginalis* and cervical cancer in Egyptian women. *J. Egypt Soc. Parasitol.*, 2002, vol. 32, no. 1, pp. 167–178.
37. Wang C.C., McClelland R.S., Reilly M., Overbaugh J., Emery S.R., Mandaliya K., Chohan B., Ndinya-Achola J., Bwayo J., Kreiss J.K. The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. *J. Infect. Dis.*, 2001, vol. 183, no. 7, pp. 1017–1022. doi: 10.1086/319287
38. Watts D.H., Fazzari M., Minkoff H., Hillier S.L., Sha B., Glesby M., Levine A.M., Burk R., Palefsky J.M., Moxley M., Ahdieh-Grant L., Strickler H.D. Effects of bacterial vaginosis and other genital infections on the natural history of human papillomavirus infection in HIV-1-infected and high-risk HIV-1-uninfected women. *J. Infect. Dis.*, 2005, vol. 191, no. 7, pp. 1129–1139. doi: 10.1086/427777
39. Watts D.H., Springer G., Minkoff H., Hillier S.L., Jacobson L., Moxley M., Justman J., Cejtin H., O'Connell C., Greenblatt R.M. The occurrence of vaginal infections among HIV-infected and high-risk HIV-uninfected women: longitudinal findings of the women's interagency HIV study. *J. Acquir. Immun. Defic. Syndr.*, 2006, vol. 43, no. 2, pp. 161–168.
40. Wolner-Hanssen P., Krieger J.N., Stevens C.E., Kiviat N.B., Koutsky L., Critchlow C., DeRouen T., Hillier S., Holmes K.K. Clinical manifestations of vaginal trichomoniasis. *JAMA*, 1989, vol. 261, no. 4, pp. 571–576.

Авторы:

Акышбаева К.С., д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Республика Казахстан;

Нурушева С.М., д.м.н., профессор, руководитель модуля «Дерматовенерология» Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Республика Казахстан;

Альменова Л.Т., к.м.н., доцент модуля «Дерматовенерология» Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Республика Казахстан.

Authors:

Akyshbayeva K.S., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, Almaty, Republic of Kazakhstan;

Nurusheva S.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Dermatovenereology, Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, Almaty, Republic of Kazakhstan;

Almenova L.T., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Dermatovenereology, Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Поступила в редакцию 14.12.2015
Отправлена на доработку 16.02.2016
Принята к печати 26.02.2016

Received 14.12.2015
Revision received 16.02.2016
Accepted 26.02.2016

ВЛИЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА, СТАДИИ И ТЕРАПИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ НА ИСХОД СТАЦИОНАРНОГО ЭТАПА ЛЕЧЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С СОЧЕТАННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ТУБЕРКУЛЕЗ/ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ

А.В. Мордык, С.В. Ситникова, Л.В. Пузырева

ГБОУ ВПО Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Омск, Россия

Резюме. С целью изучения влияния ВИЧ-инфекции на исход стационарного этапа лечения туберкулеза у больных с сочетанием этих заболеваний, проведено ретроспективное исследование 381 истории болезни. Все случаи были разделены в зависимости от исхода стационарного лечения на благоприятные и неблагоприятные. У большинства пациентов встречался туберкулез органов дыхания. Были проведены иммунологические исследования, регистрировалась стадия ВИЧ-инфекции и решался вопрос о назначении антиретровирусной терапии. Кроме того, в качестве косвенных признаков иммунодефицита, у пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции, находившихся на стационарном лечении, были проанализированы показатели, полученные при проведении общеклинических лабораторных исследований: абсолютное и относительное количество лимфоцитов по данным общего анализа крови, содержание глобулиновых фракций и концентрация циркулирующих иммунных комплексов по данным биохимического анализа крови. При оценке результатов в обеих группах исследования более чем у половины больных было выявлено наличие ВИЧ-инфекции на поздних стадиях, что говорит о позднем выявлении и запущенности иммунодефицитного состояния. У пациентов с туберкулезом легких в сочетании с ВИЧ-инфекцией при неблагоприятном исходе выявлено статистически значимое снижение иммунорегуляторного индекса. Интересно, что уровень CD4-лимфоцитов и стадия ВИЧ-инфекции не оказывали влияния на исход коинфекции. Однако наличие вирусной нагрузки более 100 000 копий/мл снижало вероятность благоприятного исхода лечения туберкулеза у пациента с ВИЧ-инфекцией. Своевременное назначение антиретровирусной терапии у пациентов с коинфекцией повышало шансы излечения туберкулеза у пациентов с иммунодефицитным состоянием. Частота неблагоприятного побочного действия противовирусной терапии была одинакова у пациентов обеих групп. Таким образом, у пациентов на любых стадиях ВИЧ-инфекции с любыми формами туберкулеза, включая генерализованные, был шанс на благоприятный исход заболевания. Считаю обоснованными рекомендации по проведению антиретровирусной терапии абсолютно всем пациентам с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции, независимо от стадии ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: туберкулез, ВИЧ-инфекция, эффективность лечения, туберкулез у ВИЧ-инфицированных.

Адрес для переписки:

Мордык Анна Владимировна
644050, Россия, г. Омск, ул. Химиков, 8А, ГБОУ ВПО Омский
государственный медицинский университет МЗ РФ.
Тел.: 8 (3812) 40-45-15 (служебн.).
E-mail: amordik@mail.ru

Contacts:

Anna V. Mordyk
644050, Russian Federation, Omsk, Himikov str., 8A,
Omsk State Medical University.
Phone: +7 (3812) 40-45-15 (office).
E-mail: amordik@mail.ru

Библиографическое описание:

Мордык А.В., Ситникова С.В., Пузырева Л.В. Влияние иммунного статуса, стадии и терапии ВИЧ-инфекции на исход стационарного этапа лечения у пациентов с сочетанной патологией туберкулез/ВИЧ-инфекция // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 81–86. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-81-86

Citation:

Mordyk A.V., Sitnikova S.V., Puzyreva L.V. HIV infection stage, antiretroviral therapy scheme and patient immune status Influence on HIV/TB co-infection outcome // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 81–86. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-81-86

HIV INFECTION STAGE, ANTIRETROVIRAL THERAPY SCHEME AND PATIENT IMMUNE STATUS INFLUENCE ON HIV/TB CO-INFECTION OUTCOME

Mordyk A.V., Sitnikova S.V., Puzyreva L.V.

Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

Abstract. Retrospective research of 381 clinical records is conducted to study HIV infection influence on stationary stage of tuberculosis treatment outcome in HIV-TB co-infected patients. All cases were divided depending on a hospitalization outcome on favorable and adverse. At most of patients tuberculosis of respiratory organs met. Immunological researches were conducted, the stage of HIV infection was registered and the issue of purpose of anti-retroviral therapy was resolved. Besides, as indirect signs of an immunodeficiency at the patients with a combination of tuberculosis and HIV infection who were on hospitalization the indicators received when carrying out clinical laboratory trials were analyzed: absolute and relative quantity of lymphocytes according to the general blood test, the contents the globulin fractions and circulating immune complexes concentration according to the clinical chemistry blood test. At an assessment of results in both groups of research more than at a half of patients existence of HIV infection at late stages that speaks about late identification and neglect of an immunodeficiency was revealed. At patients with tuberculosis of lungs in combination with HIV infection at a failure statistically significant decrease in an immunoregulatory index is revealed. It is interesting that the level of CD4 lymphocytes and a stage of HIV infection had no impact on the co-infection's outcome. However, existence of virus loading more than 100 000 copies/ml reduced probability favorable an outcome of treatment of tuberculosis at the patient with HIV infection. Timely purpose of anti-retroviral therapy at patients with co-infection increased chances of treatment of tuberculosis at patients with an immunodeficiency. Frequency of adverse side effect of antiviral therapy met equally often at patients in both groups. Thus, patients at any stages of HIV infection with any forms of tuberculosis, including generalized, had a chance to have a favorable outcome of a disease. We consider the reasonable recommendation about carrying out anti-retroviral therapy of patients by all with a combination of tuberculosis and HIV infection, irrespective of the HIV infection stage.

Key words: tuberculosis, HIV infection, efficiency of treatment, tuberculosis at HIV-positive people.

Введение

Взгляды на тактику лечения туберкулеза у пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), в последние 10 лет претерпевают существенные изменения в связи с ростом данного контингента больных по всем регионам России [6, 10, 11]. Важнейшим показателем, характеризующим нарушение иммунитета у пациентов с ВИЧ-инфекцией, является уровень CD4 лимфоцитов [1, 7]. От этого зависит тактика принятия решений относительно антиретровирусной терапии и медикаментозной профилактики оппортунистических инфекций [9].

Антиретровирусная терапия (АРТ) радикально улучшает прогноз у ВИЧ-инфицированных больных, в том числе больных туберкулезом [5, 8], однако течение болезни и ответ на терапию имеют свои особенности у каждого конкретного пациента. Установлено, что 5-летний риск смерти/СПИД на момент инициации АРТ существенно зависит от: возраста, уровня CD4 лимфоцитов, вирусной нагрузки, клинической стадии заболевания и анамнеза внутривенного наркопотребления [3].

Сложность диагностики и многообразие клинических форм туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией [4], неспецифичность их проявлений определяют необходимость дальнейшего изучения клинических и иммунологических маркеров туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией для

совершенствования своевременной диагностики туберкулеза [2], которая будет способствовать улучшению исхода сочетанной патологии. Кроме того, для последующей разработки мероприятий по их устранению и выведению тактики лечения данных пациентов на качественно новый уровень, необходим детальный анализ факторов, приводящих к неудачам в лечении этих пациентов.

Цель исследования: оценить влияние характеристик ВИЧ-инфекции на исход лечения туберкулеза у пациентов с сочетанной патологией туберкулез/ВИЧ-инфекция для последующего совершенствования лечебных мероприятий.

Материалы и методы

Ретроспективно проанализирована 381 «Карта стационарного больного» (Учетная форма 3) пациентов с сочетанной патологией «туберкулез и ВИЧ-инфекция», проходивших лечение в КУЗОО «КПТД № 4» г. Омска в период с 2001 по 2014 гг. Все случаи стационарного лечения в зависимости от их исхода были разделены на 2 группы: первая (основная) — случаи с неблагоприятным исходом курса стационарного лечения (n = 242), вторая (группа сравнения) — случаи с благоприятным исходом курса стационарного лечения (n = 139).

Больные туберкулезом и ВИЧ-инфекцией включены в исследование в соответствии с критериями включения: подтвержденный

диагноз активного туберкулеза в соответствии с приказом МЗ РФ № 109 от 21.03.03 г.; подтвержденный диагноз ВИЧ-инфекции; лечение в стационаре; возраст от 18 лет; наличие информированного согласия пациента на участие в исследовании. Критериями исключения являлись: перевод для продолжения курса химиотерапии в другое лечебное учреждение; отказ от участия в исследовании; клиническое излечение туберкулеза.

Критериями неблагоприятного исхода туберкулеза считали: преждевременное прерывание курса химиотерапии (138 случаев); смерть (78 случаев); продолжающееся бактериовыделение для случаев с бактериовыделением (12 случаев), отсутствие клинико-рентгенологической динамики для случаев без бактериовыделения (8 случаев), отсутствие клинического эффекта при внеторакальных локализациях туберкулеза (4 случая); прогрессирование процесса на фоне лечения (2 случая). Критериями благоприятного исхода являлись прекращение бактериовыделения, положительная клинико-рентгенологическая динамика для случаев без бактериовыделения, положительная клиническая динамика при внеторакальных процессах.

Выполненная работа не ущемляла права, не подвергала опасности обследованных пациентов и осуществлялась с их информированного предварительного согласия на использование медицинской документации в научно-исследовательской работе на основании приказа Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Работа одобрена локальным этическим комитетом ОмГМА.

Статистическая обработка и анализ данных проводились на базе пакетов прикладных программ Microsoft Excel, Биостат, Statistica 6.0 (русифицированная версия). В связи с наличием распределения, отличного от нормального, были применены методы описательной статистики с вычислением непараметрического критерия χ^2 . Статистическая значимость результатов выражалась в виде $p = 0,000$, результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Распределение больных по формам туберкулеза в группах показало следующее. Генерализованный туберкулезный процесс (поражение 2 и более органов и систем) среди курсов стационарного лечения у пациентов с сочетанной патологией туберкулез и ВИЧ-инфекция с неблагоприятным исходом зарегистрирован в 32 случаях (13,2%) против 20 случаев (14,4%) в группе сравнения ($\chi^2 = 0,027$; $p = 0,870$). Только внеторакальный процесс той или иной локализации отмечался в 3 случаях (1,2%) в основной группе и 6 случаях (4,3%) в группе сравнения ($\chi^2 = 2,413$; $p = 0,120$). Туберкулез органов дыхания встречался в обеих группах в подавляющем большинстве случаев — в 207 (85,6%) и 112 (80,6%) соответственно ($\chi^2 = 1,252$; $p = 0,263$).

Результаты и обсуждение

Распределение пациентов, включенных в исследование, по полу и возрасту показало отсутствие достоверных различий между сравниваемыми группами. В группах преобладали лица мужского пола: 79,1% в основной и 79,0% в группе сравнения ($\chi^2 = 0,016$; $p = 0,901$). При этом мужчины молодого трудоспособного возраста 18–44 лет составили 86,8% в основной и 91,8% в группе сравнения ($\chi^2 = 1,078$; $p = 0,299$). Доля женщин молодого возраста 18–44 лет от числа всех женщин в каждой из групп составила 92,9 и 96,2% ($\chi^2 = 0,001$; $p = 0,975$). В группах из числа мужчин 21 и 8 человек были из возрастной группы 45–64 года ($\chi^2 = 1,078$; $p = 0,299$). Женщин этого возраста было: 3 пациентки в основной (7,1%) и 1 пациентка в группе сравнения (3,8%) ($\chi^2 = 0,001$; $p = 0,975$).

При анализе случаев стационарного лечения пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции выявлено, что в обеих группах имелись случаи, когда стадия ВИЧ-инфекции не была уточнена ввиду незавершенного по различным причинам обследования: 10,7 и 3,6% соответственно ($\chi^2 = 5,115$; $p = 0,024$). Из числа случаев с завершённым обследованием (216 в основной группе и 134 в группе сравнения) 2А стадия ВИЧ-инфекции зарегистрирована в 6,9 и 5,3% ($\chi^2 = 0,175$; $p = 0,676$), 2Б стадия ВИЧ-инфекции зарегистрирована в 11,1 и 11,2% ($\chi^2 = 0,023$; $p = 0,880$), 2В стадия ВИЧ-инфекции — в 6,1 и 1,5% ($\chi^2 = 3,100$; $p = 0,078$), 3 стадия — в 16,7 и 22,2% ($\chi^2 = 1,837$; $p = 0,175$), 4А стадия ВИЧ-инфекции установлена в 38,4 и 42,5% соответственно ($\chi^2 = 0,424$; $p = 0,515$). В обеих группах были случаи, когда пациенты имели поздние стадии ВИЧ-инфекции: 4Б стадия — в 17,6 и 13,4% ($\chi^2 = 0,778$; $p = 0,378$), 4В стадия — 3,2 и 2,9% ($\chi^2 = 0,033$; $p = 0,856$). Таким образом, статистически значимых отличий в исследуемых группах по стадиям ВИЧ-инфекции не выявлено.

В качестве косвенных признаков иммунодефицита у пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции, находившихся на стационарном лечении, были проанализированы показатели, полученные при проведении общеклинических лабораторных исследований: абсолютное и относительное количество лимфоцитов по данным общего анализа крови, содержание глобулиновых фракций и концентрация циркулирующих иммунных комплексов по данным биохимического анализа крови (табл. 1).

Снижение абсолютного и относительного количества лимфоцитов по данным общего анализа крови менее $1,2 \times 10^9$ /л имели пациенты в 33,6% случаев в основной группе и в 35,9% случаев в группе сравнения ($\chi^2 = 0,124$; $p = 0,725$). По данным биохимического анализа крови, изменение содержания глобулиновых фракций белков зафиксировано у пациентов

и в группе неблагоприятных, и в группе благоприятных исходов стационарного лечения. При этом характерным являлось увеличение в той или иной степени концентрации иммуноглобулинов всех классов. Так, увеличение концентрации иммуноглобулинов класса М имели 69,1% пациентов от числа обследованных из группы неблагоприятных исходов и 56,1% пациентов из группы благоприятных исходов ($\chi^2 = 2,895$; $p = 0,089$). Увеличение концентрации иммуноглобулинов класса G имели 70,8% пациентов от числа обследованных из группы неблагоприятных исходов и 62,2% пациентов из группы благоприятных исходов ($\chi^2 = 1,228$; $p = 0,268$). Снижение ниже принятых норм концентрации иммуноглобулинов данных классов имел только один пациент из основной группы — 0,9% от числа обследованных. Снижение концентрации иммуноглобулинов класса А отмечено у 0,9% пациентов от числа обследованных из группы неблагоприятных исходов стационарного лечения пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции и 3,7% пациентов из группы благоприятных исходов ($\chi^2 = 0,701$; $p = 0,403$). Увеличение выше принятой нормы концентрации иммуноглобулинов класса А было также характерным для пациентов из обеих групп: 42,5% пациентов от числа обследованных из основной группы и 30,5% пациентов от числа обследованных из группы сравнения ($\chi^2 = 0,701$; $p = 0,403$).

При этом статистически значимых отличий по уровню иммуноглобулинов классов А, М, G в крови пациентов в анализируемых группах не выявлено.

При исследовании уровня концентрации циркулирующих иммунных комплексов в крови, характерным отклонением от принятой нормы для подавляющего числа пациентов обеих групп являлось увеличение их концентрации (ЦИК по Хашковой) (табл. 1). При этом увеличение концентрации ЦИК имели 98,2% пациентов от числа обследованных из группы неблагоприятных исходов против 90,1% пациентов из группы благоприятных исходов ($\chi^2 = 4,589$; $p = 0,032$).

В качестве показателей степени иммуносупрессии у пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции, находившихся на стационарном лечении, был проанализирован ряд показателей иммунограммы: иммунорегуляторный индекс, уровень CD4 лимфоцитов, величина вирусной нагрузки (табл. 2).

Снижение иммунорегуляторного индекса (табл. 2) имели 94,7% пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции из числа случаев стационарного лечения с неблагоприятным исходом, и 92,5% пациентов из числа случаев стационарного лечения с благоприятным исходом ($\chi^2 = 0,218$; $p = 0,641$). При анализе величины ИРИ в анализируемых группах удалось выявить статистически значимое отличие: снижение уровня

ТАБЛИЦА 1. НАЛИЧИЕ КОСВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ИММУНОДЕФИЦИТА ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ОБЩЕКЛИНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА МОМЕНТ НАЧАЛА ХИМИОТЕРАПИИ ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ, абс. (%)

Признак		Основная группа (n = 242)	Группа сравнения (n = 139)	χ^2	p
Снижение абсолютного числа лимфоцитов по ОАК (менее $1,2 \times 10^9/n$)		80 (33,6)	50 (35,9)	0,124	0,725
IgG (N 6,6–15,1)	менее 6,6	1 (0,9)	0 (0)	0,026	0,872
	6,6–15,1	32 (28,3)	31 (37,8)	1,546	0,214
	более 15,1	80 (70,8)	51 (62,2)	1,228	0,268
	обследованы	113 (100)	82 (100)		
IgM (N 0,62–1,82)	менее 0,62	0 (0)	0 (0)	–	–
	0,62–1,82	35 (30,9)	36 (43,9)	2,895	0,089
	более 1,82	78 (69,1)	46 (56,1)		
	обследованы	113 (100)	82 (100)		
IgA (N 0,66–3,42)	менее 0,66	1 (0,9)	3 (3,7)	0,701	0,403
	0,66–3,42	64 (56,6)	54 (65,8)	1,326	0,250
	более 3,42	48 (42,5)	25 (30,5)	2,427	0,119
	обследованы	113 (100)	82 (100)		
ЦИК (N 24–84)	24–84	2 (1,8)	8 (9,9)	4,589	0,032
	более 84	108 (98,2)	73 (90,1)		
	обследованы	110 (100)	81 (100)		

ИРИ до величин менее 0,2 характерно для основной группы — 25,7 против 12,1% в группе сравнения ($\chi^2 = 6,324$; $p = 0,012$).

При оценке уровня CD4 лимфоцитов у пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции до начала терапии туберкулеза (табл. 2), статистически значимых отличий в группах с благоприятными и неблагоприятными исходами выявлено не было ($\chi^2 = 6,703$; $p = 0,107$). По величине вирусной нагрузки (копий/мл) до начала терапии анализируемые случаи стационарного лечения имели следующие различия (табл. 2): в группе неблагоприятных исходов в 60,9% случаев пациенты имели величину вирусной нагрузки более 100 тыс. копий/мл против 42% в группе благоприятных исходов ($\chi^2 = 8,896$; $p = 0,003$); величину вирусной нагрузки менее 20 тыс. копий/мл — наоборот, — в большем числе случаев имели пациенты из группы благоприятных исходов: 41,9% против 27,8% ($\chi^2 = 5,136$; $p = 0,023$). В диапазоне показателя вирусной нагрузки 20 000–100 000 копий/мл исследуемые случаи стационарного лечения пациентов с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции статистически значимых отличий не имели ($\chi^2 = 0,908$; $p = 0,341$).

При оценке влияния АРТ на исход стационарного этапа лечения туберкулеза у пациентов с сочетанной патологией туберкулез и ВИЧ-инфекция были учтены: факт проведения АРТ, время начала АРТ и наличие побочных реакций при ее проведении. Установлено, что в группе благоприятных исходов АРТ проводилась чаще — в 28,8% случаев, чем в группе неблагоприятных исходов — в 18,6% случаев ($\chi^2 = 4,710$; $p = 0,030$). По времени начала АРТ, анализируемые группы случаев статистически значимых отличий не имели: АРТ была начата до начала химиотерапии туберкулеза в группе благоприятных исходов в 31,1% случаев против 42,5% в группе неблагоприятных исходов ($\chi^2 = 0,746$; $p = 0,388$); терапия обоих заболеваний начата одновременно в 20% случаев из числа неблагоприятных исходов и в 12,5% в группе сравнения ($\chi^2 = 0,868$; $p = 0,353$); АРТ начата на фоне химиотерапии туберкулеза в 48,9% случаев в первой группе и 45,0% случаев во второй соответственно ($\chi^2 = 0,020$; $p = 0,888$).

Осложнения АРТ имелись в обеих группах случаев лечения сочетанной патологии: 5 (11,1%) случаев из группы неблагоприятных исходов и 6 (15,0%) из числа благоприятных исходов ($\chi^2 = 0,044$; $p = 0,834$). При этом статистически значимых отличий в исследуемых группах по изучаемому признаку не выявлено. При этом зарегистрированы следующие осложнения на АРТ: судороги — 2 случая, анемия 8 случаев, 1 случай — синдром восстановления иммунной системы. Перечисленные осложнения купированы в результате проведения коррекции АРТ и лечебных мероприятий (противосудорожная терапия, гемотранфузионная терапия, гормонотерапия).

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ СТЕПЕНИ ИММУНОДЕФИЦИТА НА МОМЕНТ НАЧАЛА ХИМИОТЕРАПИИ ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ, абс. (%)

Признак	Основная группа (n = 242)	Группа сравнения (n = 139)	χ^2	p
ИРИ (N 1–2,5)				
Менее 0,2	39 (25,7)	13 (12,1)	6,324	0,012
Менее 0,5	102 (67,1)	67 (62,6)	0,378	0,539
Менее 0,7	122 (80,3)	85 (79,4)	0,000	0,996
Менее 1,0	144 (94,7)	99 (92,5)	0,218	0,641
1,0–2,5	8 (5,3)	8 (7,5)	0,218	0,641
Обследованы	152 (100)	107 (100)		
Уровень CD4 до начала терапии, абс. (%)				
Менее 100	30 (18,3)	13 (10,7)	2,536	0,111
100–200	33 (20,1)	16 (13,3)	1,868	0,172
200–400	45 (27,4)	41 (33,8)	1,084	0,298
Более 400	56 (34,2)	51 (42,2)	1,576	0,209
Всего обследованных лиц	164 (100)	121 (100)		
Вирусная нагрузка до начала терапии, копий/мл				
Менее 20 000	42 (27,8)	47 (41,9)	5,136	0,023
20 000–100 000	17 (11,3)	18 (16,1)	0,908	0,341
Более 100 000	92 (60,9)	47 (42,0)	8,896	0,003
Всего обследованных лиц	151 (100)	112 (100)		

Заключение

При анализе факторов, влияющих на исход стационарного лечения туберкулеза у больных с ВИЧ-инфекцией, были получены следующие данные. На момент выявления и начала лечения туберкулеза в стационаре стадия ВИЧ-инфекции, наличие косвенных признаков иммунодефицита и уровень CD4 лимфоцитов не оказывали достоверного влияния на эффективность лечения специфического процесса. У пациентов на любых стадиях ВИЧ-инфекции с любыми формами туберкулеза, включая генерализованные, был шанс на благоприятный исход заболевания. Однако снижение уровня ИРИ до величин менее 0,2, наличие вирусной нагрузки более 100 тыс. копий/мл и ЦИК по методу Хашковой более 84 при отсутствии проведения АРТ приводили к неблагоприятным исходам лечения туберкулеза у больных с ВИЧ-инфекцией в стационаре. Считаем обоснованными рекомендациями по проведению АРТ абсолютно всем пациентам с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции независимо от стадии ВИЧ-инфекции, что до настоящего времени в нашем регионе не проводилось.

Список литературы/References

1. Вехова Е.В. Ретроспективный анализ уровня CD4 лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных при первичном исследовании иммунного статуса // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2014. Т. 6, № 2. С. 66–74. [Vekhova E.V. The retrospective analysis of the CD4 level of lymphocytes at HIV-positive people at primary research of the immune status. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressions*, 2014, vol. 6, no. 2, pp. 66–74. (In Russ.)]
2. Герасимова С.В. Противотуберкулезные антитела в составе циркулирующих иммунных комплексов у больных туберкулезом на фоне ВИЧ-инфекции // Врач-аспирант. 2012. Т. 54, № 5.3. С. 409–413. [Gerasimova S.V. Antitubercular antibodies as a part of the circulating immune complexes at patients with tuberculosis against HIV infection. *Vrach-aspirant = PhD candidate*, 2012, vol. 54, no. 5.3, pp. 409–413. (In Russ.)]
3. Ковалева Е.С. Взаимосвязь полиморфизмов IL-28 β с эффективностью сопутствующей терапии ВИЧ у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС при лечении гепатита С // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 4. С. 371–375. [Kovalyova E.S. Association between IL-28 β polymorphisms and effectiveness of concomitant therapy. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 4, pp. 371–375. doi: 10.15789/2220-7619-2013-4-371-375 (In Russ.)]
4. Мордык А.В., Пузырева Л.В., Ситникова С.В. Опыт применения противотуберкулезной и антиретровирусной терапии у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией // Журнал инфектологии. 2014. Т. 6, № 3. С. 51–55. [Mordyk A.V., Puzyryeva L.V., Sitnikova S.V. Experience of application of antitubercular and anti-retrovirus therapy for patients with tuberculosis with HIV infection. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2014, vol. 6, no. 3, pp. 51–55. (In Russ.)]
5. Мордык А.В., Аксютин Л.П., Пузырева Л.В. Современные международные и национальные концепции борьбы с туберкулезом // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2013. № 22. С. 92–98. [Mordyk A.V., Aksyutina L.P., Puzyryeva L.V. Modern international and national concepts of fight against tuberculosis. *Dal'nevostochnyi zhurnal infeksionnoi patologii = Far East Journal of Infectious Pathology*, 2013, no. 22, pp. 92–98. (In Russ.)]
6. Мордык А.В., Пузырева Л.В., Ситникова С.В., Иванова О.Г. Туберкулез в сочетании с ВИЧ-инфекцией на территории Омской области за период с 2008 по 2012 год // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2014. Т. 6, № 2. С. 106–109. [Mordyk A.V., Puzyryeva L.V., Sitnikova S.V., Ivanova O. G. Tuberculosis in combination with HIV infection in the territory of the Omsk region from 2008 for 2012. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressions*, 2014, vol. 6, no. 2, pp. 106–109. (In Russ.)]
7. Пантелеев А.М. Бактериовыделение и лекарственная устойчивость МБТ при туберкулезе у ВИЧ-инфицированных людей в Санкт-Петербурге // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2011. Т. 3, № 2. С. 57–61. [Panteleev A.M. The bacteria and drug resistance of MBT in tuberculosis in HIV-infected people in St. Petersburg. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressions*, 2011, vol. 3, no. 2, pp. 57–61. (In Russ.)]
8. Пантелеев А.М. Туберкулез органов дыхания у больных с ВИЧ-инфекцией // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2010. Т. 2, № 1. С. 16–22. [Panteleev A.M. The tuberculosis of respiratory organs in patients with HIV-infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressions*, 2010, vol. 2, no. 1, pp. 16–22. (In Russ.)]
9. Сизова Н.В., Пантелеева О.В. Особенности клинического течения и иммунологических проявлений ВИЧ-инфекции как показателя для начала антиретровирусной терапии на разных этапах эпидемии у больных в Санкт-Петербурге // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2014. Т. 6, № 2. С. 58–66. [Sizova N.V., Panteleeva O.V. Features of a clinical current and immunological manifestations of HIV-infection as indicator to start anti-retrovirus therapy at different stages of epidemic at patients in St. Petersburg. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressions*, 2014, vol. 6, no. 2, pp. 58–66. (In Russ.)]
10. Смольская Т.Т., Огурцова С.В. ВИЧ-инфекция в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации в 2009 г. // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 4. С. 311–318. [Smolskaya T.T., Ogurtsova S.V. HIV-infection in the Northwest federal district of the Russian Federation in 2009. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 4, pp. 311–318. doi: 10.15789/2220-7619-2011-4-311-318 (In Russ.)]
11. Фролова О.П., Новоселова О.А., Щукина И.В., Стаханов В.А., Казенный А.Б. Туберкулез у больных ВИЧ-инфекцией: эпидемиологическая ситуация в Российской Федерации, выявление и профилактика в современных условиях // Вестник РГМУ. 2013. № 4. С. 44–48. [Frolova O.P., Novoselova O.A., Schukina I.V., Stakhanov V.A., Kazennyi A.B. Tuberculosis in patients with HIV-infection: epidemiological situation in the Russian Federation, detection and prevention in modern conditions. *Vestnik RGMU = Bulletin of RSMU*, 2013, no. 4, pp. 44–48 (In Russ.)]

Авторы:

Мордык А.В., д.м.н., доцент, зав. кафедрой фтизиатрии и физиохирургии ГБОУ ВПО Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Омск, Россия;

Ситникова С.В., аспирант кафедры фтизиатрии и физиохирургии ГБОУ ВПО Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Омск, Россия;

Пузырева Л.В., к.м.н., ассистент кафедры фтизиатрии и физиохирургии ГБОУ ВПО Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Омск, Россия.

Authors:

Mordyk A.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head of Phthisiology and Phthisiosurgery Department, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation;

Sitnikova S.V., PhD Candidate, Phthisiology and Phthisiosurgery Department, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation;

Puzyryeva L.V., PhD (Medicine), Assistant Professor, Phthisiology and Phthisiosurgery Department, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 02.07.2015
Отправлена на доработку 20.10.2015
Принята к печати 02.12.2015

Received 02.07.2015
Revision received 20.10.2015
Accepted 02.12.2015

БИОТЕХНОЛОГИЯ СТАБИЛИЗАЦИИ ЖИВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОМАССЕ И В ПРЕПАРАТЕ ЧУМНОЙ ВАКЦИНЫ

Д.А. Будыка, Н.В. Абзаева, С.Е. Гостищева, Е.Л. Ракитина, Г.Ф. Иванова, А.А. Фисун

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Резюме. За многие годы производственного выпуска чумной вакцины хорошо отработана технология ее изготовления. Технологический цикл производства препарата состоит из регламентированных этапов, однако несмотря на их эффективность, возникает необходимость модернизации производственного процесса, например, для производства вакцины в небольших количествах. Наши исследования были направлены на получение экспериментальных образцов чумной вакцины с меньшим, по сравнению с коммерческой вакциной, количеством доз в ампуле, приготовленных в условиях производства биомассы в аппарате (АКМ-Ш) поверхностным методом выращивания с использованием всех регламентированных технологических этапов, исключая этап объединения содержимого двух смывов и последующее дополнительное разведение суспензии клеток стабилизатором. Однако сам момент сведения и последующего приготовления такой вакцины нами исключен, так как биомасса второго смыва в количественном отношении является готовым сырьем для препарата с уменьшенной дозировкой. Преимущества получения вакцины со сниженным числом доз непосредственно из биомассы второго смыва с концентрацией микробных клеток *Yersinia pestis* EV 20–40 × 10⁹ существенно упрощают биотехнологию изготовления такого препарата. Полученные экспериментальные серии вакцины были исследованы по основным регламентированным показателям: оптическая концентрация, жизнеспособность, термостабильность, потеря в массе при высушивании. Для выбраковки недостаточно жизнеспособных микробных клеток с целью последующей стабилизации показателя жизнеспособности в течение срока хранения, полуфабрикат вакцины с высоким исходным показателем жизнеспособности дополнительно подвергали воздействию экстремальной температуры (37±1)°С в течение 24 ч. Следует отметить, что все экспериментальные образцы сохранили показатель жизнеспособности не ниже регламентируемого (25%) на протяжении опыта, в отличие от коммерческого препарата. Для выяснения стабильности препарата при хранении (в течение 3 лет) был проведен сравнительный анализ жизнеспособности экспериментальных и коммерческих серий. Для оценки поствакцинального иммунитета был проведен анализ иммунного ответа на введение чумной вакцины с помощью проточного цитометра FACSCalibur, учитывая, что эта технология обладает высокой специфичностью, чувствительностью и информативностью. Что касается иммуногенных свойств, то данный показатель регистрируется на весьма высоком уровне как на белых мышах, так и на морских свинках. Таким образом, основные биологические показатели получен-

Адрес для переписки:

Гостищева Светлана Евгеньевна
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13–15,
ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора.
Тел./факс: +7 (8652) 26-20-50 (служебн.).
E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Contacts:

Svetlana E. Gostischeva
355035, Russian Federation, Stavropol, Sovetskaya st., 13–15,
Stavropol Plague Control Research Institute.
Phone/fax: +7 (8652) 26-20-50 (office).
E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Библиографическое описание:

Будыка Д.А., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Ракитина Е.Л., Иванова Г.Ф., Фисун А.А. Биотехнология стабилизации живых микроорганизмов в биомассе и в препарате чумной вакцины // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 1. С. 87–92. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-87-92

Citation:

Budika D.A., Abzaeva N.V., Gostischeva S.E., Rakitina E.L., Ivanova G.F., Fisun A.A. Living microorganism's stabilization in biomass biotechnology and plague vaccine preparation // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 87–92. doi: 10.15789/2220-7619-2016-1-87-92

ных препаратов (жизнеспособность, термостабильность, стабильность при хранении) превышают таковые у коммерческого аналога и обеспечивают эффективную иммунологическую перестройку и высокую иммуногенность в эксперименте на животных.

Ключевые слова: биотехнология, вакцина чумная живая, жизнеспособность, иммуногенность, термостабильность, моноклональные антитела.

LIVING MICROORGANISM'S STABILIZATION IN BIOMASS BIOTECHNOLOGY AND PLAGUE VACCINE PREPARATION

Budika D.A., Abzaeva N.V., Gostischeva S.E., Rakitina E.L., Ivanova G.F., Fisun A.A.

Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Over the years, the production release of the plague vaccine is well developed its technology. The technological cycle of production of the preparation consists of regulated steps, however, despite their effectiveness it is necessary to modernize the manufacturing process, for example, solutions for some of the pressing needs of the customers, in particular, small groups of immunization. Our research has focused on obtaining experimental samples plague vaccine smaller compared to the commercial vaccine, the number of doses per vial prepared in a biomass production unit (ACM-Sh) surface by cultivation using all regulated processing steps, except step of combining content two swabs, and then an additional dilution of the cell suspension stabilizer. However, the time information and the subsequent preparation of such a vaccine is excluded us, since biomass is the second flush in quantitative terms is a ready raw material for the preparation of reduced dosage. The benefits of receiving the vaccine reduced the number of doses directly from the biomass of the second flush with the concentration of microbial cells *Yersinia pestis* EV 20–40 × 10⁹ biotechnology greatly simplify the manufacture of such a preparation. The experimental vaccine series were tested by major regulated parameters: optical concentration, vitality, thermal stability, the loss on drying. In addition, the vaccine was prefabricated with high baseline viability to extreme temperatures (37±1)°C for 24 hours to exclude enough viable microbial cells for subsequent stabilization indicator of viability during storage. It should be noted that all the experimental samples preserved viability index not lower regulated (25%) during the experiment, in contrast to the commercial preparation. To determine the stability of the formulation during storage (over 3 years) was a comparative analysis of the viability of the experimental and commercial lots. To assess post vaccination immune analyzed the immune response to the introduction of a plague vaccine using FACSCalibur flow cytometer, considering that this technology has a high specificity, sensitivity and informativity. With regard to the immunogenic properties, the active component is recorded at a very high level as the white mice, and guinea pigs. Thus, the main biological indicators derived preparations (viability, thermal stability, storage stability) exceed those of commercial analog and provide effective immunological alterations and highly immunogenic in experimental animals.

Key words: biotechnology, vaccine plague live, viability, immunogenicity, thermal stability, monoclonal antibodies.

Введение

В комплексе иммунопрофилактических мероприятий уровень эффективности вакцинного препарата является определяющим. Если с иммуноуправляемыми инфекциями все ясно, то усилия исследователей прикладываются там, где иммунопрофилактика не в состоянии обеспечить абсолютной защиты против опасного заболевания.

Разработка вакцинного препарата против чумы соответствует этому постулату. Совершенствование выпускаемого препарата вакцины чумной живой реализуется в нескольких главных направлениях. Данная работа посвящена отработке и внедрению методологии, направленной в конечном итоге на стабилизацию живых микробных клеток вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV в дозе вакцины на максимально регламентированном уровне.

Вкратце механизм противочумного иммунитета можно свести к клеточно-гуморальной природе [2, 3]. Сам препарат в этом контексте представляет из себя комбинацию живых и убитых вакцинных микробных клеток, лиофилизированных в защитной среде. Очевидно, что в патогенезе живых бактериальных вакцин вообще и живой чумной вакцины в частности лежит способность вакцинных клеток приживаться в месте введения и инвазировать, то есть распространяться, по крайней мере, в регионарные лимфоидные ткани периферической системы иммунитета, обеспечивая эффективную иммунологическую ее перестройку. Наверняка известное количество иммуногенов представляют также и убитые микробы в составе комбинации, однако так называемая бустер-иммунизация обеспечивается живыми микробами вакцинного штамма в биомассе.

Следовательно, показатель жизнеспособности микробных клеток вакцинного штамма ха-

рактирует возможность живой вакцины осуществлять в привитом организме весь комплекс реакций. Таким образом, иммуногенность является зависимой в указанном контексте.

Ранее авторами были обоснованы целесообразность и иммунологическая эффективность применения для вакцинации мини-коллективов контейнеров со сниженным количеством доз, достигаемые снижением оптического стандарта с последующим уменьшением объема суспензии при розливе [1, 4, 5]. Такое уменьшение существенно повышает устойчивость конечного продукта на технологических этапах розлива и лиофилизации, увеличивает стабильность при хранении и снижает диапазон колебаний количества живых микробов в дозе. Это достигается за счет более сбалансированного соотношения защитной среды (среды высушивания) и клеток [1, 6].

Резюмируя вышесказанное, нами представлены возможности воздействия в качестве рычагов некоторых биотехнологических приемов, позволивших оказать существенное положительное влияние на ключевые показатели качества (жизнеспособность, термостабильность, стабильность при хранении) клеток вакцинного штамма с последующей оценкой их иммунологического воздействия в эксперименте на животных.

Материалы и методы

Технологический цикл производства препарата вакцины чумной живой состоит из регламентированных этапов, включающих в себя получение посевного материала, выращивание биомассы на плотной питательной среде в аппарате культивирования микробной массы Шестеренко (АКМ-Ш), приготовление вакцинной взвеси, розлив, лиофилизацию, опай и контроль полуфабриката препарата [5].

В соответствие с биотехнологией, смыв биомассы с АКМ-Ш проводится защитной средой последовательно двукратно, при этом получается две емкости с вакцинной суспензией. Уменьшение концентрации суспензии в ампуле достигалось на этапе соединения содержимого двух смывов, когда отбирали часть полученной суспензии и разбавляли ее стабилизатором (средой высушивания) до требуемой расчетной, после чего разливали в ампулы по 1 мл.

Однако учитывая, что концентрация клеток полученной биомассы различается в несколько раз и составляет $100-150 \times 10^9$ м.к./мл для первой емкости и $20-40 \times 10^9$ м.к./мл для второй, представляется возможным существенно упростить процесс изготовления такой вакцины, исключив момент соединения двух полученных суспензий в одну и разведения биомассы средой

высушивания. Так как параметры бакмассы второго смыва количественно соответствуют необходимым для получения вакцины со сниженным числом доз, очевидной стала целесообразность приготовления препарата вакцины со сниженным количеством доз непосредственно из него, минуя этап сведения и последующее дополнительное разведение суспензии стабилизатором.

Полученные таким образом экспериментальные серии вакцины были исследованы по основным показателям качества: жизнеспособность и термостабильность (бактериологический метод); потеря в массе при высушивании (весовой метод); иммуногенность (биологический метод).

Был проведен анализ иммунного ответа на введение чумной вакцины с помощью проточного цитометра FACSCalibur (Becton Dickinson, США) по универсальной программе Cell Quest. Исследования выполняли с использованием моноклональных антител к антигенам лимфоцитов мыши $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD19^+$ фирмы Invitrogen (США). Эта технология обладает высокой специфичностью и чувствительностью, применима для целого ряда лабораторных и клинических исследований и позволяет определять субпопуляционный состав лимфоцитов в крови биопробных животных.

Для оценки поствакцинального иммунитета в качестве модели для изучения изменений иммунобиологических показателей использовали белых мышей. Препарат вводился подкожно в дозе 1×10^5 микробных клеток. Кровь исследовали на 7, 14, 21 и 28 сут. Статистическую обработку проводили общепринятым методом (Ашмарин И.П., Воробьев А.А., 1962).

Результаты и обсуждение

Нами были получены три экспериментальные серии из емкости второго смыва и изучены основные показатели их качества в сравнении с полученным в том же производственном цикле коммерческим препаратом (табл. 1).

Анализ полученных данных показал, что серии со сниженным количеством доз полностью отвечают регламентированным нормам, при этом являясь более устойчивыми к процессу лиофилизации, что обеспечивает повышенный показатель жизнеспособности ($t \geq 2,0$) и несколько более высокую термостабильность.

Что касается иммуногенных свойств, то данный показатель регистрируется на весьма высоком уровне как на белых мышах, так и на морских свинках. Регламентируемая величина ED_{50} для белых мышей не может превышать показатель 40 000, а для морских свинок — 10 000 живых микробных клеток.

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ СЕРИЙ СО СНИЖЕННЫМ ЧИСЛОМ ДОЗ

Показатели качества	Опыт 1		Опыт 2		Опыт 3	
	Коммерческая серия	Экспериментальная серия	Коммерческая серия	Экспериментальная серия	Коммерческая серия	Экспериментальная серия
Оптическая концентрация, млрд/мл	75	35	60	35	50	25
Жизнеспособность, %	33,0±1,2	38,1±2,3	25,8±3,1	41,5±0,9	30,9±1,4	36,3±2,2
Термостабильность, сут	8,7	10,1	7,6	10,4	8,1	11,1
Потеря в массе при высушивании, %	1,5	0,8	1,1	1,2	1,5	1,6
Иммуногенность, ED ₅₀	б/м — 8312 м/св — 5443	б/м — 7921 м/св — 3249	б/м — 5391 м/св — 5417	б/м — 6244 м/св — 3277	б/м — 6983 м/св — 3177	б/м — 5418 м/св — 4895

ТАБЛИЦА 2. АНАЛИЗ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВАКЦИНЫ ИЗ БИОМАССЫ ВТОРОГО СМЫВА ПОСЛЕ ДОЗИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ (37±1)°С

Серии	Жизнеспособность, %				
	исходная	12 ч	24 ч	36 ч	48 ч
Экспериментальные	41,5±0,9	37,6±1,3	37,2±0,9	33,3±2,5	25,8±4,1
Коммерческая	25,8±3,1	21,8±1,7	20,8±2,2	18,5±1,9	17,2±3,3

ТАБЛИЦА 3. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПРЕПАРАТА ВАКЦИНЫ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ, ПРИГОТОВЛЕННОЙ ИЗ БИОМАССЫ ВТОРОГО СМЫВА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ) В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ (4±2)°С

Исследовано серий	Жизнеспособность, %			
	исходная	срок хранения		
		1 год	2 года	
Экспериментальная вакцина				
1	38,1±2,3	34,3±0,4		30,1±2,0
2	41,5±0,9	39,2±2,1		36,8±0,9
3	36,3±2,2	35,2±2,0		32,2±2,2
Итого	38,6±1,5	36,2±1,5		33,0±2,0
Коммерческая вакцина — контрольные образцы				
1	33,0±1,2	28,1±1,3		25,2±1,4
2	25,8±3,1	24,1±1,4		20,3±1,6
3	30,9±1,4	28,1±0,8		24,2±1,2
Итого	29,9±2,1	26,8±1,3		23,3±1,5

ТАБЛИЦА 4. АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИМФОЦИТОВ В ПРОЦЕССЕ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ВВЕДЕНИИ БЕЛЫМ МЫШАМ ЧУМНОЙ ВАКЦИНЫ

Сутки, серия	7 сут		14 сут		21 сут		28 сут		Контроль
	2	6	2	6	2	6	2	6	
CD3 ⁺	70,12±4,58	67,16±2,82	75,12±2,27	73,02±3,06	63,57±1,28	71,96±2,17	64,63±0,86	62,81±0,79	66,53±2,60
CD4 ⁺	27,93±1,96	27,70±3,67	32,09±1,35	26,79±3,53	36,12±0,82	24,85±1,98	28,33±1,33	25,69±0,72	33,68±1,29
CD8 ⁺	39,59±5,98	38,65±3,33	39,96±2,99	39,43±1,80	26,41±0,50	40,11±2,52	34,37±1,85	35,61±1,17	34,37±1,36
CD19 ⁺	19,91±2,49	22,51±3,03	19,87±0,77	23,37±1,59	23,84±1,59	16,47±3,36	25,22±0,35	24,80±0,90	18,31±1,37

В ранее проведенных исследованиях нами была показана целесообразность воздействия экстремальной температурой (37 ± 1)°С в течение 24 ч на полуфабрикат вакцины с высоким исходным показателем жизнеспособности для выбраковывания недостаточно жизнеспособных микробных клеток с целью последующей стабилизации показателя жизнеспособности в течение срока хранения. Взятая в эксперимент вакцина второго смыва обладала показателями, рекомендуемыми для дальнейшей закалки, и ее полуфабрикат (3 серии) был подвергнут воздействию повышенной температуры с контролем жизнеспособности в различные временные отрезки (табл. 2).

Как и ранее, анализ полученных данных показал, что 24 ч температурного воздействия являются оптимальным сроком для стабилизации свойств препарата. Следует отметить, что, в отличие от коммерческого препарата, все экспериментальные образцы сохранили показатель жизнеспособности не ниже регламентируемого (25%) на протяжении опыта.

Срок хранения коммерческого препарата чумной вакцины составляет три года при хранении в условиях «холодовой цепи». Для выяснения стабильности препарата при хранении, был проведен сравнительный анализ жизнеспособности экспериментальных и коммерческих серий в период срока наблюдения (табл. 3).

Результаты показали, что вакцина второго смыва обладает более стабильными свойствами по сравнению с коммерческой.

При анализе механизмов развития иммунного ответа, были проанализированы два варианта экспериментальной вакцины, сходных по жизнеспособности и несколько отличных по оптическому стандарту. Полученные данные (табл. 4) позволяют судить об определенной волнообразной динамике исследуемых показателей.

При сравнении двух образцов статистически достоверной разницы в показателях Т- и В-лимфоцитов выявлено не было, что указывает на идентичный иммунный ответ лабораторных животных на введение вакцин.

При исследовании на 7, 14 и 21 сут отмечалось повышение уровня CD3⁺ (Т-лимфоциты) у всех вакцинированных животных. Причем на 21 сут, на пике иммуногенеза, наблюдалось статистически достоверное повышение клеток, экспрессирующих рецепторы CD3⁺ и CD8⁺ в 6 серии. В эти же сроки наблюдалась достоверная разница в показателе CD4⁺ в сторону снижения. Здесь была наиболее выражена иммунная перестройка по Т-лимфоцитам. Возможно, это связано с относительно большим количеством живых микробных клеток в иммунизирующей дозе данной серии препарата при меньшей его оптической плотности.

К 28 сут отмечалось повышение показателя CD19⁺ (В-лимфоциты); все показатели Т-лимфоцитов выравнивались и практически приближались к контрольным.

Выводы

Резюмируя вышесказанное, можно говорить о том, что разрабатываемые нами биотехнологические приемы решают вопросы повышения и сохранения показателя живых микробных клеток комплексно, начиная с оптимизации биотехнологических методов, получения биомассы, оптимизации ее биологических и физических свойств и заканчивая стабилизацией их в процессе лиофильной консервации и последующего хранения.

Иммунологическая эффективность препарата обусловлена высокими и стабильными условиями его биологических параметров и является зависимой в сложном взаимоотношении микробных клеток (и прежде всего живых) вакцинного штамма и макроорганизма.

Список литературы/References

1. Будыка Д.А. Экспериментальное обоснование снижения общей концентрации микробов и объема суспензии в контейнере в технологии живой чумной вакцины EB // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2002. № 3–4. С. 42–45. [Budika D.A. Experimental substantiation of reducing the overall concentration of bacteria and the amount of slurry in the container in the technology of live plague vaccine EB. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccines*, 2002, no. 3–4, pp. 42–45. (In Russ.)]
2. Будыка Д.А., Ракитина Е.Л., Фисун А.А., Абзаева Н.В. Изучение в эксперименте иммунологической активности вакцины чумной живой, подвергнутой воздействию экстремальной температуры // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2015. Т. 14, № 4. С. 75–79. [Budika D.A., Rakitina E.L., Fisun A.A., Abzaeva N.V. The study of experimental immunological activity of the vaccine plague live exposed to extreme temperature. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccines*, 2015, vol. 14, no. 4, pp. 75–79. (In Russ.)]
3. Будыка Д.А., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Гостищева С.Е., Фисун А.А., Ляпустина Л.В. Сравнительный анализ экспериментальных серий вакцины чумной живой по показателям жизнеспособности и термостабильности // Проблемы особо опасных инфекций. 2009. № 102. С. 68–71. [Budika D.A., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Gostisheva S.E., Fisun A.A., Lyapustina L.V. Comparative analysis of experimental series of the vaccine plague live in terms of viability and thermal stability. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2009, no. 102, pp. 68–71. (In Russ.)]

4. Печникова И.В., Тинкер А.И. Выживаемость микробов в сухой чумной вакцине ЕВ в зависимости от их оптической плотности до лиофилизации // Проблемы особо опасных инфекций. 1974. № 5. С. 64–68. [Pechnikova I.V., Tinker A.I. The survival of microbes in dry plague vaccine EB depending on the optical density before lyophilization. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 1974, no. 5, pp. 64–68. (In Russ.)]
5. Промышленный регламент на производство вакцины чумной живой, лиофилизата для приготовления суспензии для инъекций, накожного скарификационного нанесения и ингаляций ПР 01897080–09–09. Ставрополь, 2009. 252 с. [Industrial regulations for live plague vaccine production, lyophilizate for suspension for preparing of suspension for injection, epicutaneous scarification application and inhalation PR 01897080–09–09. *Stavropol*, 2009. 252 p.]
6. Файбич М.М. Стабилизация вакцинных препаратов в процессе высушивания и хранения // Успехи микробиологии. 1983. № 18. С. 193–215. [Faybich M.M. Stabilization of vaccines during drying and storage. *Uspekhi mikrobiologii = The Successes of Microbiology*, 1983, no. 18, pp. 193–215. (In Russ.)]

Авторы:

Будыка Д.А., д.м.н., ведущий научный сотрудник, зав. научно-производственной лабораторией чумных вакцин ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

Абзаева Н.В., к.б.н., старший научный сотрудник научно-производственной лаборатории чумных вакцин ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

Гостищева С.Е., научный сотрудник научно-производственной лаборатории чумных вакцин ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

Ракитина Е.Л., к.м.н., ведущий научный сотрудник сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний лаборатории бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

Иванова Г.Ф., к.м.н., научный сотрудник научно-производственной лаборатории чумных вакцин ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

Фисун А.А., научный сотрудник научно-производственной лаборатории чумных вакцин ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия.

Authors:

Budika D.A., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Plague Vaccine Research and Production, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

Abzaeva N.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Plague Vaccine Research and Production, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

Gostischeva S.E., Researcher, Laboratory of Plague Vaccine Research and Production, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

Rakitina E.L., PhD (Medicine), Leading Researcher, Department of Clinical Immunology and Pathomorphology of Especially Dangerous Infectious Diseases Laboratory of Brucellosis, Labor Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

Ivanova G.F., PhD (Medicine), Researcher, Laboratory of Plague Vaccine Research and Production, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

Fisun A.A., Researcher, Laboratory of Plague Vaccine Research and Production, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation.

Поступила в редакцию 30.07.2015
Отправлена на доработку 12.10.2015
Принята к печати 02.12.2015

Received 30.07.2015
Revision received 12.10.2015
Accepted 02.12.2015

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://iimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Инфекция и иммунитет» и «Инструкцией для авторов», представленной на сайте.

Основные виды статей, публикуемых в журнале

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел «**Благодарности**» не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано ниже (см. «Подготовка статей»). Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Иммунологические методы в дифференциальной диагностике // Туберкулез и болезни легких. 2011. Т. 88, № 11. С. 50–53.

Salina T.Yu., Morozova T.I. Immunological methods in differential diagnostics. Tuberculosis and Lung Diseases, 2011, vol. 88, no. 11, pp. 50–53.

Описание статьи из книги (монографии):

Шурыгина И.А., Чеснокова М.В., Климов В.Т. Псевдотуберкулез. Новосибирск: Наука, 2003. 320 с.

Shurygina I.A., Chesnokova M.V., Klimov V.T. Pseudotuberculosis. Novosibirsk: Nauka, 2003. 320 p.

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Turenne C.Y., Wallace R., Behr M.A. Mycobacterium avium in the postgenomic era. Clin. Microb. Rev., 2007, vol. 20, no. 2, pp. 205–229.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G. Appleton & Lange, 1994, pp. 66–79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. Не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения, регламентированного международными правилами (с, ч, см, мл, мг, kDa и т.д.).

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, т.е. ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота — 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца — 82 мм, для 2 столбцов — 170 мм

Таблицы. Каждая таблица предоставляется отдельным файлом. Таблицы нумеруются арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей.

Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их включения в текст статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка в отдельный файл. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tiff (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Инфекция и иммунитет» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

При предоставлении статьи авторы должны руководствоваться требованиями, приведенными в нижеследующих пунктах. Статья может быть отклонена, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Инфекция и иммунитет» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации или книги. Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.
2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.
3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:
 - 1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках);
 - название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах);
 - почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках);
 - телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail;
 - фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности;
 - полное название статьи, направляемой в редакцию;
 - количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц;
 - раздела журнала, для которого предназначена данная работа: «Лекции», «Обзоры», «Оригинальные статьи», «Краткие сообщения», «В помощь практическому врачу»;
 - дата отправления работы.
 - 2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»)
 - 3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:
 - название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);

- подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа; в случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение; для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);
 - сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);
 - не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках;
 - адрес для переписки с указанием номера телефона, факса и адреса e-mail.
- 4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.
 - 5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).
 - 6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf со списком, в котором указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные.
 - 7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (название каждой таблицы должно быть приведены заголовком в файле с самой таблицей).
 - 8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература») в виде таблицы из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	Ф.И.О., название публикации и источника на английском языке	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI
Размещаются в таблице в алфавитном порядке, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий, редакция просит предоставлять их перевод, обозначая его красным цветом шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк	В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в т.ч. системы www.e-library.ru . DOI статьи приводится в квадратных скобках после URL-адреса

4. Текст должен быть набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.
5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям.
6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать на сайте журнала (<http://immun.ru>) в рубрике «Рецензирование» раздела «О журнале».

**Вы можете оформить подписку на журнал
«Инфекция и иммунитет» через отделения связи:
Каталог «Роспечать» — индекс 95001;
Объединенный каталог «Пресса России» и электронный каталог «Российская периодика»
в сети Internet на сайте www.aprk.org — индекс 41392.
Цена свободная.
Подписка на электронную версию журнала
на сайте www.elibrary.ru**

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абзаева Н.В.	87	Куляшова Л.Б.	67
Акышбаева К.С.	73	Львов Н.И.	55
Алексеева Л.А.	33	Монахова Н.Е.	33
Альменова Л.Т.	73	Мордык А.В.	81
Бессонова Т.В.	33	Нурушева С.М.	73
Будыка Д.А.	87	Панферова Ю.А.	7
Бузицкая Ж.В.	55	Петрова Е.Р.	55
Васильева А.А.	55	Писарева М.М.	55
Вильниц А.А.	33	Пузырева Л.В.	81
Войцеховская Е.М.	55	Ракитина Е.Л.	87
Волощук Л.В.	55	Рязанцев С.В.	45
Го А.А.	55	Симбирцев А.С.	45
Горовенко М.В.	25	Ситникова С.В.	81
Гостищева С.Е.	87	Скрипченко Н.В.	33
Дрыгина Л.Б.	67	Смирнова Т.Д.	55
Елпаева Е.А.	55	Соминина А.А.	55
Железникова Г.Ф.	33	Тарасов А.В.	67
Желтакова И.Р.	67	Фисун А.А.	87
Жирков А.А.	33	Хирманов В.Н.	67
Иванова Г.Ф.	87	Шабалдин А.В.	45
Каримов И.З.	25	Шабалдина Е.В.	45
Кривицкая В.З.	55		

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

биотехнология	87	микст-инфекция	73
болезнь Лайма	25	молекулярный патогенез	7
вакцина чумная живая	87	моноинфекция	73
взрослые пациенты	55	моноклональные антитела	87
вирулентность	7	нейтрализующие антитела	55
ВИЧ-инфекция	81	непрямая иммунофлюоресценция	67
грипп А(Н1N1)pdm09	55	нестабильная стенокардия	67
грипп А(Н3N2)	55	нетрансмуральный инфаркт миокарда	67
гуморальный противовирусный иммунитет	55	полиморфизм <i>IL1B</i> (+3953, C→T, rs 114634)	45
дети	33	полиморфизм <i>IL1Ra</i> (<i>VNTR</i> , intron 2, 89 bp)	45
диагностика	67	полиморфизм <i>IL4</i> (<i>VNTR</i> intron 3, 70 bp)	45
дисбактериоз урогенитального тракта	73	природно-очаговые инфекции	25
жизнеспособность	87	секретируемые эффекторы	7
изоотипы субтипоспецифических		сенсibilизация к <i>Streptococcus pyogenes</i>	45
иммуноглобулинов	55	субпопуляции	33
иммуногенность	87	термостабильность	87
иммуноглобулины	33	транспортная система	7
иммуноферментный анализ	55, 67	туберкулез	81
инфекция <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	67	туберкулез у ВИЧ-инфицированных	81
клещевой вирусный энцефалит	25	урогенитальный трихомоноз	73
Конго-Крымская геморрагическая лихорадка	25	цереброспинальная жидкость	33
Ку-лихорадка	7	цитокины	33
лимфоциты	33	эпидемиология в Казахстане	73
марсельская лихорадка	25	эффективность лечения	81
менингиты	33	<i>Coxiella burnetii</i>	7