

2016



ИНФЕКЦИЯ
И
ИММУНИТЕТ

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

ISSN 2220-7619
INFEKTSIYA I IMMUNITET

Личный кабинет

Логин:

Пароль:

Запомнить меня

главная о журнале регистрация поиск последний выпуск архивы авторам

Поиск

Все ▾

Листать

- [по выпускам](#)
- [по авторам](#)
- [по заглавиям](#)

Главная > Инфекция и иммунитет

Инфекция и иммунитет

Журнал «Инфекция и иммунитет» учрежден [Санкт-Петербургским НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера](#), [Санкт-Петербургским региональным отделением Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов](#) и Северо-Западным отделением медицинского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов по Санкт-Петербургу и Ленинградской области. Журнал посвящен многочисленным аспектам взаимодействия различных микроорганизмов с организмом хозяина и представляет интерес для микробиологов, иммунологов, эпидемиологов и клиницистов. Наиболее подробно обсуждаются следующие вопросы:

- молекулярные основы инфекций, вызываемые патогенными бактериями, грибами и паразитами;
- механизмы патогенности микроорганизмов;
- влияние факторов вирулентности микроорганизмов на клетки организма хозяина;
- факторы и механизма защиты организма хозяина от инфекций;
- факторы неспецифического и специфического иммунитета;
- экспериментальные модели инфекционной патологии;
- разработка вакцин и неспецифических средств противoinфекционной защиты.

В [состав редколлегии](#) и [редсовета](#) журнала входят ведущие российские микробиологи, вирусологи и иммунологи, а также 8 иностранных специалистов. В их числе 13 действительных членов РАН, 5 членов-корреспондентов РАН, 19 профессоров. Все публикуемые в журнале статьи, обзоры и лекции проходят обязательное рецензирование членами редколлегии. Традиционными разделами журнала являются: оригинальные статьи, лекции, обзоры, краткие сообщения, случаи из практики.

Журнал «Инфекция и иммунитет» был 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 78-00910 от 24 июня 2011 г. В феврале 2016 года журнал перерегистрирован Роскомнадзором РФ (Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-64788 от 02 февраля 2016 г.). Международный стандартный серийный номер (ISSN) журнала – 2220-7619. Журнал ежеквартальный (4 номера в год), объем журнала – 12-14 условных печатных листов (96-112 страниц формата А4). С 2011 года открыта регулярная подписка на журнал по всей территории Российской Федерации и в странах СНГ: подписной индекс в каталоге "Роспечать" - 95001, в каталоге "Пресса России" - 41392.

Журнал «Инфекция и иммунитет» полностью соответствует критериям ВАК РФ, предъявляемым к научным журналам, и с 2012 г. входил в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора кандидата наук». 1 декабря 2015 года журнал был включен в ныне действующий обновленный перечень рецензируемых научных изданий.

С апреля 2014 года журнал "Инфекция и иммунитет" включен в международную базу Ulrich's Periodicals Directory.

В 2015 году журнал «Инфекция и иммунитет» был включен в перечень отечественных журналов, признанных наиболее востребованными как в России, так и за рубежом и размещенных на платформе Web of Science в составе отдельной, но полностью интегрированной с платформой Web of Science базы данных Russian Science Citation Index (RSCI)

На текущий момент по данным анализа «Российского индекса научного цитирования» (РИНЦ) пятилетний импакт-фактор для журнала «Инфекция и иммунитет» составил 0,578, а двухлетний импакт-фактор – 0,725 при показателе самоцитируемости 29,4%.

[Отправить рукопись](#)

Главный редактор
[Тотоян Артемович](#)

OPEN ACCESS

Облако тегов

[Mycobacterium tuberculosis](#)
[ВИЧ-инфекция](#)
[Т-лимфоциты](#)
[вакцинация](#)
[вирулентность](#)
[вирус папилломы человека](#)
[генотипирование](#)
[грипп](#)
[дети](#)
[диагностика](#)
[заболеваемость](#)
[иммунитет](#)
[корь](#)
[краснуха](#)
[лабораторная диагностика](#)
[проточная цитометрия](#)
[рак шейки матки](#)
[туберкулез](#)
[цитомины](#)
[эпидемиология](#)

- Электронная редакция**
- Подача статей online**
- Online версия журнала**

- DOI для каждой публикации**
- Весь архив в PDF-формате**
- Поиск статей по ключевым словам, авторам, заглавиям**

С 2015 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в базу данных Russian Science Citation Index (RSCI), интегрированную с платформой Web of Science

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

апрель–июнь

2016, том 6

№ 2

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

Главный редактор

Тотолян 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
Тотолян Артем А. д.м.н., профессор, 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 02.06.2016 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 12.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1300.

© 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)

April–June

2016, volume 6

No. 2

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. Chereshev 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 02.06.2016. 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

Пузырева Л.В., Сафонов А.Д.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦИТОКИНОВ: ПРОШЛОЕ И БУДУЩЕЕ 103

Коровкина Е.С., Кажарова С.В.

РОЛЬ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ БРОНХОЛЕГочНОЙ СИСТЕМЫ 109

Есмагамбетов И.Б., Алексеева С.В., Саядян Х.С., Шмаров М.М.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА 117

Оригинальные статьи

Яблонский П.К., Вишневский Б.И., Соловьева Н.С., Маничева О.А., Догондзе М.З., Мельникова Н.Н., Журавлев В.Ю.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ *Mycobacterium tuberculosis* ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ 133

Семенов А.В., Останкова Ю.В., Ногойбаева К.А., Касымбекова К.Т., Лаврентьева И.Н., Тобокалова С.Т., Тотолян Арег А.

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ СОЧЕТАННОЙ ИНФЕКЦИИ ВГВ/ВГД В КЫРГЫЗСТАНЕ 141

Буаро М.И., Бумбали С., Константинов О.К., Каливоги С., Кулибали М., Ба А.С.

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ТРОПИЧЕСКОЙ МАЛЯРИЕЙ В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ 151

Харченко Е.П.

ВОЗМОЖНЫЕ КОЛЛИЗИИ В ИММУНОДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ВАКЦИНАЦИИ 157

Шадуро Д.В., Белоглазов В.А., Гордиенко А.И.

ВЛИЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ОТВЕТА ИММУНИТЕТА НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ 165

Краткие сообщения

Волков С.А., Бессолицына Е.А., Столбова Ф.С., Дармов И.В.

АНАЛИЗ ИНФИЦИРОВАННОСТИ КЛЕЩЕЙ ВИДОВ *Ixodes persulcatus* И *Dermacentor reticulatus* ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ТРАНСМИССИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ТЕРРИТОРИИ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ 173

Васильева Н.Р., Вязовая А.А., Журавлев В.Ю., Соловьева Н.С., Мокроусов И.В., Нарвская О.В.

ГЕНОТИПЫ ШТАММОВ *Mycobacterium tuberculosis* С ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ И КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ 179

Ишрефова Л.Р., Лялина Л.В., Лиознов Д.А., Маточкина О.В., Давыдова Т.Ю., Захарова Л.Е.

ОБОСНОВАНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ДЕТСКИХ КОЛЛЕКТИВАХ 184

Правила для авторов 189

Авторский указатель 192

Предметный указатель 192

CONTENTS

Reviews

Puzyryova L.V., Safonov A.D.

CYTOKINES GENETIC POLYMORPHISM: THE PAST AND THE FUTURE 103

Korovkina E.S., Kazharova S.V.

THE TOLL-LIKE RECEPTORS ROLE IN INFLAMMATORY DISEASES OF THE BRONCHOPULMONARY SYSTEM PATHOGENESIS 109

Esmagambetov I.B., Alekseeva S.V., Sayadyan K.S., Shmarov M.M.

CURRENT APPROACHES TO UNIVERSAL VACCINE AGAINST INFLUENZA VIRUS 117

Original articles

Yablonskii P.K., Vishnevskiy B.I., Solovyeva N.S., Manicheva O.A., Dogonadze M.Z., Melnikova N.N., Zhuravlev V.Yu.

DRUG RESISTANCE OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN DIFFERENT LOCALIZATIONS OF THE DISEASE 133

Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Nogoybaeva K.A., Kasymbekova K.T., Lavrentieva I.N., Tobokalova S.T., Totolian Areg A.

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY FEATURES OF HBV/HDV CO-INFECTION IN KYRGYZSTAN 141

Boiro M.Y., Boumbali S., Konstantinov O.K., Kalivogui S., Koulibali M., Bah A.C.

INDICES OF IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS OF FALCIPARUM MALARIA IN REPUBLIC OF GUINEA 151

Kharchenko E.P.

THE POSSIBLE COLLISIONS IN VIRUS INFECTION IMMUNODIAGNOSTICS AND VACCINATION 157

Shaduro D.V., Beloglazov V.A., Gordienko A.I.

THE INFLUENCE OF HUMORAL IMMUNITY ANTIENDOTOXIN RESPONSE TO INDICATORS OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS 165

Short communications

Volkov S.A., Bessolytsina E.A., Stolbova F.S., Darmov I.V.

ANALYSIS OF TICKS OF *IXODES PERSULCATUS* И *DERMACENTOR RETICULATUS* SPECIES WITH TRANSMISSIBLE DISEASES IN KIROV REGION 173

Vasilieva N.R., Vyazovaya A.A., Zhuravlev V.Yu., Solovieva N.S., Mokrousov I.V., Narvskaya O.V.

GENOTYPES OF EXTENSIVELY DRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* STRAINS: CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF PULMONARY TUBERCULOSIS 179

Ishrefova L.R., Lyalina L.V., Lioznov D.A., Matochkina O.V., Davydova T.Yu., Zakharova L.E.

ARGUMENTATION OF ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTIONS NONSPECIFIC PREVENTION IN GROUPS OF CHILDREN 184

Instructions to Authors 189

Author index 192

Subject index 192

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦИТОКИНОВ: ПРОШЛОЕ И БУДУЩЕЕ

Л.В. Пузырева, А.Д. Сафонов

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

Резюме. Молекулярная генетика открывает новые горизонты в современной медицине, особенно сейчас, когда многим заболеваниям уделяется огромное значение в виду их распространенности среди различных слоев населения. Чрезвычайно высокой степенью полиморфизма обладают гены интерлейкинов, из которых достаточно широко изучен полиморфизм фактора некроза опухоли. Пациенты с ВИЧ-инфекцией на территории России в настоящее время обуславливают самую высокую степень летальности, что является наиболее актуальной и социально значимой проблемой здравоохранения. Изучение данной проблемы привлекает многих исследователей. Особенно интересны работы в плане генетической невосприимчивости к вирусу и влияния продукции цитокинов на прогноз заболевания. Одним из факторов, влияющих на репликацию ВИЧ в организме, являются цитокины. Некоторые из них, в том числе фактор некроза опухоли и интерлейкин-6, могут способствовать репликации ВИЧ, повышая экспрессию регуляторных генов вируса. По мере прогрессирования заболевания параллельно нарастанию уровня противовоспалительных цитокинов, обуславливающих относительно малоэффективное в данном случае нарастание уровня антител, происходит угнетение Т-хелперного ответа, стимулирующего сильный клеточный компонент. Функционирование цитокиновой сети при ВИЧ-инфекции зависит от многих причин, в число которых входят индивидуальные различия в продукции цитокинов, обусловленные рядом генетических особенностей, наличие оппортунистической инфекции. Изучение цитокинов у пациентов с ВИЧ-инфекцией в клинической практике является необходимым для оценки прогноза течения болезни к неблагоприятному быстрому переходу в СПИД, что важно учитывать в выборе тактики поддерживающей терапии ВИЧ-инфицированных пациентов. Учитывая недостаточную эффективность современных методов лечения, восстановление и модулирование баланса цитокинов усилит противовирусную активность иммунной системы, влияя на факторы, блокирующие репликацию вируса иммунодефицита человека.

Ключевые слова: полиморфизм генов, цитокины, ВИЧ-инфекция, противовоспалительные цитокины, провоспалительные цитокины, фактор некроза опухоли.

CYTOKINES GENETIC POLYMORPHISM: THE PAST AND THE FUTURE

Puzyryova L.V., Safonov A.D.

Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

Abstract. The molecular genetics opens the new horizons in modern medicine, especially now when many diseases are given huge value in a type of their prevalence among various groups of population. Extremely high interleukin genes polymorphism degrees are studied well especially genetic polymorphism of tumor necrosis factor. Patients with HIV infection in the territory of Russia cause now the highest degree of mortality that is the most actual and socially significant problem of healthcare. This problems studying attracts many researchers. Works in respect of genetic immunity to a virus and influence of cytokines production on the disease forecast are especially interesting. One of the HIV replication influencing factors are cytokines, some of which, including the tumor necrosis factor and interleukin-6 can promote replication of HIV, raising an expression of virus regulatory genes. During disease progress in parallel of anti-inflammatory cytokines level increase (causing in this case rather ineffective antibodies level increase) there is an T-helpers suppression stimulating a strong cellular component. Cytokine network functioning during HIV infection depends on many reasons which the in-

Адрес для переписки:

Пузырева Лариса Владимировна
644010, Россия, г. Омск, ул. Сергея Лазо, 2,
Омский государственный медицинский университет МЗ РФ.
Тел.: (3812) 53-26-66. E-mail: puzirevalv@mail.ru

Contacts:

Larisa V. Puzyryova
644010, Russian Federation, Omsk, Sergey Lazo str., 2,
Omsk State Medical University.
Phone: (3812) 53-26-66. E-mail: puzirevalv@mail.ru

Библиографическое описание:

Пузырева Л.В., Сафонов А.Д. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 103–108. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-103-108

Citation:

Puzyryova L.V., Safonov A.D. Cytokines genetic polymorphism: the past and the future // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 103–108. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-103-108

dividual variation in cytokine production caused by a number of genetic features, as well as an existence of opportunistic infection. Cytokines polymorphism determination in HIV infected patients is necessary in clinical practice for disease progression forecast to adverse fast transition to AIDS that it is important to consider in a choice of tactics of the supporting therapy of HIV-positive patients. Considering insufficient efficiency of modern methods of treatment, restoration and modulation of cytokines balance will increase anti-virus activity of immune system, influencing the factors blocking replication of a HIV.

Key words: *polymorphism of genes, cytokine, HIV infection, anti-inflammatory cytokines, pro-inflammatory cytokines, tumor necrosis factor.*

Современные успехи молекулярной генетики привели к возможности реального выделения и изучения генетических маркеров у пациентов с различными заболеваниями в клинической практике. Характерной особенностью молекулярной медицины как науки, основанной на данных о молекулярной структуре генома человека, является ее индивидуальный характер. Она направлена на коррекцию патологического процесса у конкретного человека с учетом уникальных особенностей его генома [1, 12]. Другой особенностью является профилактическая направленность, когда полученные задолго до болезни сведения о геноме, могут предупредить развитие заболевания или ликвидировать его [12]. Известно, что неблагоприятный генетический фон реализуется при взаимодействии с факторами среды, что проявляется формированием патологического фенотипа [4, 14].

При исследовании патогенеза различных заболеваний большое внимание уделяется патогенетическим механизмам, происходящим на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях, в том числе роли цитокинов. Исследование генов, контролирующих активность цитокинов, являющихся медиаторами воспаления, — одна из важных задач в раскрытии патогенетических звеньев инициации и течения заболеваний, и выявлении на ранних сроках предрасположенности к заболеваниям. Знание их роли в патогенезе многих заболеваний позволяет, с одной стороны, прогнозировать риск развития патологии или тяжесть ее течения, с другой — индивидуально подобрать специфическую терапию для конкретного пациента [21]. Гены интерлейкинов обладают чрезвычайно высокой степенью полиморфизма [27].

Генетический контроль экспрессии провоспалительных цитокинов достаточно широко изучен, например полиморфизм фактора некроза опухоли (TNF α).

TNF α представляет собой белок, синтезируемый различными клетками (моноцитами/макрофагами, нейтрофилами, Т-лимфоцитами, натуральными киллерами, тучными клетками) и играющим ключевую роль в развитии воспалительного ответа (инициирует синтез IL-1, IL-6, активирует макрофаги, пролиферацию Т- и В-лимфоцитов [18]. TNF α является звеном в патогенезе большинства инфекционных и иммунопатологических заболеваний, где он может выполнять различные функции, главным обра-

зом выступая в качестве медиатора развития реакций врожденного иммунитета. Однако повышенная продукция TNF α играет важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний, реакций отторжения трансплантата и может быть причиной развития септического шока и осложнений острых воспалительных процессов [22].

Исследованию TNF α посвящено много работ и его значение рассмотрено при многих видах патологии. Одним из первых инфекционных заболеваний человека, развитие которого удалось связать с вариабельностью гена TNF α , являлась малярия. Стало известно, что носителям полиморфного аллеля –308*А свойствен высокий риск заболевания церебральной формой малярии [35].

При исследовании детей с менингококковой инфекцией было сделано заключение о влиянии генетических полиморфизмов отвечающих за увеличения продукции TNF α на исход заболевания [36]. Присутствие хотя бы одной копии высокопродуктивного аллеля –308*А в генотипе ребенка повышала вероятность летального исхода от менингококковой инфекции в 2,5 раза [30].

Исследования, посвященные связи генотипа TNF α с туберкулезом, дали различные результаты. По данным А. Бикмаевой и др. (2002), полиморфный аллель –308*А значительно чаще встречается среди больных легочным туберкулезом, то есть является фактором риска при данной патологии [3]. Противоположный результат получила группа исследователей под руководством Selvaraj (2001). По их данным, варианты –238*А и –308*А сами по себе не только не играют никакой роли при развитии туберкулеза, но даже оказывают протективное действие в сочетании с вариантом гена HLA-B17 главного комплекса гистосовместимости первого класса. Однако следует отметить, что сочетание соответствующих гаплотипов HLA-B17/TNFA–238*А и HLA-B17/TNFA–308*А защищает человека от развития легочного туберкулеза только на первых этапах заболевания, на стадии же иммунного ответа наличие подобного генотипа у пациентов способствует ухудшению состояния и возникновению рецидивов [37]. При исследовании пациентов с инфильтративным туберкулезом легких коллектив авторов выявил прямую связь между клинической и иммунологической эффективностью лечения. Замедления рассасывания инфильтратов в легочной ткани наблюда-

лись у пациентов с выявленной активной экспрессией IL-6, а экспрессия IL-12 и IL-1 β приводила к обратному клиническому результату лечения [15].

Изначально TNF α считался противоопухолевым цитокином, однако детальные исследования, проведенные в середине 90-х гг., опровергли это утверждение и выдвинули противоположное: TNF α *in vitro* [32] и *in vivo* [29] обладает туморогенным действием. Причем, помимо прямого влияния на формирование опухолевой ткани, TNF α также способствует росту сосудов и экспрессии адгезионных молекул, вовлеченных в метастазирование трансформированных клеток [34].

Известно, что при аутоиммунных заболеваниях (системная красная волчанка [39], ревматоидный артрит [28], рассеянный склероз [38]) отмечается повышение секреции TNF α .

Цитокины определяют сложные межклеточные кооперативные взаимоотношения иммунокомпетентных клеток и при этом имеют свой генетический маркер [21, 40].

Цитокины играют существенную роль в контроле всех стадий развития и поддержания аллергических реакций и воспаления, поэтому анализ регуляции их активности имеет очень большое значение для понимания молекулярных основ патогенеза многих заболеваний [4, 14, 31, 33]. Так, например наличие полиморфизма генов цитокинов IL-4 и IL-17A часто встречается у пациентов с инфекционно-зависимой бронхиальной астмой (70,2 и 67,5%) [10]. У детей, больных псевдотуберкулезом, в 1 неделю болезни отмечалось снижение IFN γ , тогда как содержание IL-4 и IL-8 в периферической крови увеличивалось. На 2–3 неделе болезни при стихании клинических проявлений была зарегистрирована постепенная нормализация уровня IFN γ , показатель IL-4 нарастал, что свидетельствовало об активации гуморального иммунитета [2].

По результатам научной работы Г.Ф. Железниковой, важной характеристикой иммунной реактивности в острую фазу инфекции у детей могут служить концентрации провоспалительных монокинов TNF α и IL-1 *in vivo* и *in vitro*, которые тесно связаны с исходной резистентностью к патогену. При наличии вируса эпидемического паротита наблюдается угнетение TNF α и IL-1 по мере роста вирусной нагрузки и уровня иммунного ответа. Бактериальные антигены, чаще вызывают нарастание цитокинового ответа по мере увеличения антигенной нагрузки [8]. У детей, больных ветряной оспой, наблюдалось развитие ветряночных энцефалитов при повышенном содержании IL-1 β , IL-6, IFN γ и IL-10 на 2-й неделе болезни [9].

У взрослых на фоне вирусной инфекции, а именно гриппа, был отмечен продолжительный интоксикационный синдром, который коррелировал с высокой концентрацией TNF α ,

IL-6, IL-8, IL-1Ra, IL-10 в крови исследуемых [6]. У пациентов с токсоплазмозом изменения концентрации IFN γ в динамике имели прогностическое значение. Так, при обследовании через месяц после лечения у всех пациентов с циклическим течением хронического манифестного токсоплазмоза концентрация IFN γ превышала 500 пг/мл, в то время как при рецидивирующем течении болезни она превысила 400 пг/мл только у одного пациента. Данную закономерность авторы предлагают использовать для точного прогноза течения болезни [13].

Изучение проблемы ВИЧ-инфекции привлекает многих исследователей. Особенно интересны работы в плане генетической невосприимчивости к вирусу. У здоровых людей, несмотря на их постоянные тесные контакты с ВИЧ-положительными, образуется видоизмененный (мутантный) белок CCR5, который вместе с CD4-рецептором принимает участие в проникновении вируса в клетки. Мутантный белок CCR5, в отличие от обычного, не способен взаимодействовать с вирусными частицами, а в результате вирус не может проникнуть в клетки. Гомозиготные носители указанного полиморфизма обладают практически полной резистентностью к инфицированию ВИЧ [19].

Многие авторы указывают о необходимости генотипического исследования у пациентов с ВИЧ перед началом лечения для подбора антиретровирусной терапии [17]. Так в различных областях России частота невосприимчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы и ингибиторам протеазы у ВИЧ-1 нелеченных больных составила 6,1 и 3,9% соответственно, что говорит о первичной резистентности организма [5]. Был установлен факт циркуляции среди нелеченных пациентов с ВИЧ-инфекцией вирусов с мутациями, определяющими резистентность к ингибиторам интегразы: ралтегравир и элвитегравир [7].

При ВИЧ-инфекции Т-хелперный ответ определяет скорость прогрессирования заболевания. С одной стороны иммунный ответ контролирует размножение вируса и пациенты остаются клинически здоровыми с минимальной потерей клеток. С другой стороны, при неспособности противостоять размножению вируса происходит быстрое снижение количества Т-клеток и через 2–3 года после заражения развивается СПИД [26]. У ВИЧ-инфицированных лиц наблюдается ранний функциональный дефект клеточного иммунитета в виде нарушения лимфоцитарно-пролиферативного ответа на вирусные антигены. Известно, что величина Т-лимфоцитарной пролиферации и цитокиновой продукции коррелируют с клиническим статусом. Судьба инфекции, как и при других заболеваниях, зависит от продуцируемых Т-хелперами цитокинов. Авторы указывают, что в раннюю стадию ВИЧ-инфекции наблюдается гиперпродукция про-

воспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-5, IL-13) и понижение продукции регуляторных цитокинов (IFN γ , TNF α , IL-1 β , IL-12). Нарушение продукции цитокинов является прогностически неблагоприятным фактором [26].

Оценка уровня IL-8 у ВИЧ-инфицированных лиц показала, что по мере прогрессирования заболевания и перехода в III клиническую стадию, а также развитие оппортунистических инфекций приводило к снижению исследуемого показателя. Однако в стадию СПИД, при развитии клинических проявлений цитомегаловирусной инфекции и туберкулеза, наблюдался спонтанный рост IL-8 [24]. При исследовании генов цитокинов у лиц с ВИЧ-инфекцией гиперпродукция IL-4 приводит к быстрому прогрессированию заболевания [23].

Выявлена определенная зависимость уровня продукции IgE от IFN γ на разных стадиях ВИЧ-инфекции: значительное увеличение концентрации IFN γ в бессимптомной стадии заболевания с дальнейшим ее снижением по мере прогрессирования болезни и гиперпродукция IgE на всех стадиях заболевания [24].

При исследовании аллелей гена IL-28B было зарегистрировано только 6,9% случаев сочетания неблагоприятных генотипов при прогнозировании эффективности противовирусной терапии и возможности спонтанной ремиссии вирусного гепатита С у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Благоприятное сочетание генотипов было отмечено в 53% случаев [25].

Коллектив авторов проводил исследование против- и провоспалительных цитокинов у иммунодефицитных пациентов, по результатам которого были сделаны следующие выводы. У пациентов с ВИЧ-инфекцией отмечалась высокая концентрация IL-1 α и IL-1Ra в сочетании со снижением спонтанной продукции TNF α мононуклеаров периферической крови, что находится в прямой зависимости от стадии заболевания. Однако при антигенемии отмечалась гиперпродукция TNF α при отсутствии в сыворотке IL-1 α и IL-1Ra, но сохраненных показателях их спонтанной и индуцированной продукции и высоких концентрациях в моче. Дисбаланс изученных цитокинов ассоциируется с множе-

ственными осложнениями при ВИЧ-инфекции и является промоутором клинической манифестации заболевания [16].

Большое клиническое и прогностическое значение имеет соотношение IFN γ /IL-10, отражающее баланс Th1/Th2. Нарастание данного показателя происходит при адекватной антибактериальной терапии, что обеспечивает приоритет клеточных реакций иммунитета, имеющих решающее значение для выздоровления при оппортунистических инфекциях. Неуклонное снижение соотношения IFN γ /IL-10, несмотря на терапию, указывает на высокий риск неблагоприятного исхода [11].

Для оценки активности воспалительного процесса, прогнозирования его исходов и дифференциальной диагностики вирусных заболеваний (вирусные гепатиты А, В, С, герпетическая, цитомегаловирусная, папилломавирусная инфекции) предлагается определять провоспалительные цитокины (TNF α , IL-1 β , IL-6) и IFN γ [20].

Учитывая недостаточную эффективность современных методов лечения, восстановление и модулирование баланса цитокинов усилит антивирусную активность иммунной системы, влияя на факторы, блокирующие репликацию вируса. Важными преимуществами генной диагностики перед другими методами являются его независимость от физиологического состояния, его неизменчивость и однократное выполнение. Результаты подобного исследования дают информацию о слабых сторонах пациента, что позволяет проводить прицельную профилактику заболеваний; также можно быть уверенными в том, что лекарственные препараты будут назначены в соответствии с индивидуальными особенностями организма больного. Исследование полиморфизма генов открывает новые горизонты в выявлении групп риска и выборе оптимальной терапии для каждого пациента.

Изучение цитокинов у пациентов с ВИЧ-инфекцией в клинической практике является необходимым для оценки прогноза течения болезни к неблагоприятному быстрому переходу в СПИД, что важно учитывать в выборе тактики поддерживающей терапии ВИЧ-инфицированных пациентов.

Список литературы/References

1. Андреева М.Г., Латфуллин И.А., Аскарова А.Н., Мухамадиева Р.Г. Влияние генотипа на выбор терапии при артериальной гипертензии // Врач. 2002. № 9. С. 27–28. [Andreyeva M.G., Latfullin I.A., Askarova A.N., Mukhamadiyeva R.G. Influence of a genotype on a therapy choice at an arterial hypertension. *Vrach = Physician*, 2002, no. 9, pp. 27–28. (In Russ.)]
2. Бениова С.Н., Маркелова Е.В. Иммунопатогенетические аспекты псевдотуберкулеза у детей // Медицинская иммунология. 2003. Т. 5, № 1–2. С. 49–56. [Beniova S.N., Markelova E.V. Immunopathogenetic aspects of pseudotuberculosis at children. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2003, vol. 5, no. 1–2, pp. 49–56. (In Russ.)]
3. Бикмаева А.Р., Сибирак С.В., Валиахметова Д.Х., Хуснутдинова Е.К. Полиморфизм гена фактора некроза опухолей альфа у больных инфильтративным туберкулезом легких в Башкирии // Молекулярная биология. 2002. Т. 36, № 5. С. 784–787. [Bikmayeva A.R., Sibiryak S.V., Valiakhmetova D.H., Husnutdinova E.K. Gene polymorphism of tumor necrosis factor alpha in patients with infiltrative pulmonary tuberculosis in Bashkiria. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2002, vol. 36, no. 5, pp. 784–787. (In Russ.)]
4. Будчанов Ю.И. Генетика бронхиальной астмы // Практическая медицина. 2010. Т. 6, № 45. С. 19–21. [Budchanov Yu.I. Genetics of bronchial asthma. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2010, vol. 6, no. 45, pp. 19–21. (In Russ.)]

5. Вазкезде Парга Е., Рахманова А.Г., Перез-Альварез Л., Виноградова А.Н., Дельгадо Е., Томсон М., Касадо Г., Сиерра М., Муньез М., Кармона Р., Вега И., Контерас Г., Медрано Л., Османов С., Нахера Р. Анализ мутаций, связанных с лекарственной резистентностью, у нелеченных пациентов, зараженных различными генетическими формами ВИЧ 1 типа, распространенными в странах бывшего Советского Союза // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2009. Т. 1, № 2. С. 50–56. [Vazquez de Parga E., Rakhmanova A.G., Perez-Alvarez L., Vinogradova A.N., Delgado E., Thomson M., Kasado G., Sierra M., Munyez M., Carmona R., Vega I., Konteras G., Medrano L., Ottomans S., Nakhera R. Analysis of mutations associated with drug resistance in untreated patients infected with different genetic forms of HIV type 1, common in the countries of the former Soviet Union. *VICH-infektsiya i immunosupresii = HIV Infection and Immunosuppressions*, 2009, vol. 1, no. 2, pp. 50–56. (In Russ.)]
6. Волощук Л.В., Головачева Е.Г., Мушкатина А.Л., Осидак Л.В., Заришнюк П.В., Го А.А. Взаимосвязь цитокинового статуса выраженности интоксикационного синдрома при гриппе // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 3. С. 263–268. [Voloschuk L.V., Golovacheva E.G., Mushkatina A.L., Osidak L.V., Zarishnyuk P.V., Go A.A. Relationship status cytokine expression of intoxication syndrome with influenza. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 3, pp. 263–268. doi: 10.15789/2220-7619-2013-3-263-268 (In Russ.)]
7. Гафарова И.Э., Шидеева Ж.А., Санджиев Д.Б., Гараев М.М. Анализ полиморфизма гена интегразы в популяции ВИЧ-инфицированных из нозокомиальных очагов вспышки ВИЧ-инфекции 1989 г. на юге России // Вопросы вирусологии. 2010. Т. 55, № 1. С. 16–22. [Gafarova I.E., Shideeva Zh.A., Sandzhiyev D.B., Garayev M.M. Analysis of the integrase gene polymorphism in a population of HIV-positive foci of nosocomial HIV outbreak in 1989 in the south of Russia. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2010, vol. 55, no. 1, pp. 16–22. (In Russ.)]
8. Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Монахова Н.Е. Варианты иммунопатогенеза острых инфекций у детей. СПб.: Фолиант, 2007. 256 с. [Zheleznikova G.F., Ivanova V.V., Monakhova N.E. Variants immunopatogeneza ostrykh infektsii u detei [Options of immunopathogenesis of sharp infections at children]. *SPb.: Foliant, 2007, 256 p.*]
9. Железникова Г.Ф., Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В., Иванова Г.П., Скрипченко Е.Ю., Монахова Н.Е. Клиническое значение сывороточных уровней цитокинов при ветряной оспе // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 1. С. 79–84. [Zheleznikova G.F., Lobzin Yu.V., Skripchenko N.V., Ivanov G.P., Skripchenko E.Yu., Monakhova N.E. The clinical significance of serum levels of cytokines varicella. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 79–84. doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-79-84 (In Russ.)]
10. Костина Е.М., Молотилев Б.А., Левашова О.А., Осипова М.В. Изучение полиморфизма генов цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-17А и TNFA у больных с инфекционно-зависимой бронхиальной астмой // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2013. № 1. С. 53–58. [Kostina E.M., Molotilov B.A., Levashova O.A., Osipova M.V. The study of gene polymorphism of IL-4, IL-10, IL-17A and TNFA patients with infectious-dependent bronchial asthma. *Immunopatologiya, allergologiya, infektsiologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2013, no. 1, pp. 53–58. (In Russ.)]
11. Кузнецов В.П., Маркелова Е.В., Лазанович В.А., Колесникова Н.В., Беляев Д.Л., Бабаянц А.А., Кузнецова С.Ю., Силич В.В. Дисбаланс цитокинов как фактор патогенеза гнойно-септических заболеваний и иммунокорректирующие эффекты лейкоинтерферона // Медицинская иммунология. 2002. Т. 4, № 1. С. 11–20. [Kuznecov V.P., Markelova E.V., Lazanovich V.A., Kolesnikova N.V., Beljaev D.L., Babajanc A.A., Kuznecova S.Ju., Silich V.V. The imbalance of cytokines as a factor in the pathogenesis of purulent-septic diseases and immunocorrecting effects of interferon alpha. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2002, vol. 4, no. 1, pp. 11–20. (In Russ.)]
12. Латфуллин И.А., Андреева М.Г., Аскарлова А.Н., Мухаммадиева Р.Г. Эволюция взглядов на патогенез и терапию артериальной гипертензии с точки зрения генетической предрасположенности к развитию заболевания // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2003. Т. 2, № 2. С. 28–32. [Latfullin I.A., Andreyeva M.G., Askarova A.N., Mukhamadiyeva R.G. The evolution of views on the pathogenesis and treatment of hypertension in terms of genetic predisposition to disease. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*, 2003, vol. 2, no. 2, pp. 28–32. (In Russ.)]
13. Лобзин Ю.В., Калинина Н.А., Васильев В.В., Сысоев К.А. Иммуномодуляция токсоплазмозом в лечении хронического токсоплазмоза // Медицинская иммунология. 2000. Т. 2, № 3. С. 299–304. [Lobzin Ju.V., Kalinina N.A., Vasil'ev V.V., Sysoev K.A. Immunomodulation with toxoplasmin in treatment of chronic toxoplasmosis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2000, vol. 2, no. 3, pp. 299–304. (In Russ.)]
14. Локшина Э.Э., Зайцева О.В. Роль генетических маркеров в ранней диагностике атопических заболеваний // Педиатрия. 2006. № 3. С. 87–91. [Lokshina E.E., Zaytseva O.V. The role of genetic markers in the early diagnosis of atopic diseases. *Pediatrics = Pediatrics*, 2006, no. 3, pp. 87–91. (In Russ.)]
15. Мезенцева М.В., Стаханов В.А., Захарова М.В., Зотова И.Ф., Трегубова М.И., Шаповал И.М. Цитокины как маркеры развития инфильтративного туберкулеза легких // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 4. С. 367–372. [Mezentseva M.V., Stakhanov V.A., Zakharova M.V., Zotov I.F., Tregubova M.I., Shapoval I.M. Cytokines as markers of infiltrative pulmonary tuberculosis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 4, pp. 367–372. doi: 10.15789/2220-7619-2011-4-367-372 (In Russ.)]
16. Москалева Е.В., Петрова А.Г., Смирнова С.В. ВИЧ-инфекция у детей с позиции клинической иммунологии // Сибирский медицинский журнал. 2006. № 9. С. 105–108. [Moskaleva E.V., Petrova A.G., Smirnova S.V. HIV infection at children from a position of clinical immunology. *Sibirskii meditsinskii zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2006, no. 9, pp. 105–108. (In Russ.)]
17. Мусатов В.Б., Яковлев А.А., Тургина Т.В., Ладная Н.Н. Прогностическое значение результатов генотипирования вирусом иммунодефицита человека, выделенных от больных первичной ВИЧ-инфекцией в 2009 и 2011 годах в Санкт-Петербурге // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11: Медицина. 2012. № 1. С. 171–178. [Musatov V.B., Yakovlev A.A., Turgina T.V., Ladnaya N.N. The prognostic value the results of genotyping HIV isolated from patients with primary HIV infection in 2009 and 2011 in St. Petersburg. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 11: Meditsina = The Bulletin of the St. Petersburg University. Series 11: Medicine*, 2012, no. 1, pp. 171–178. (In Russ.)]
18. Недоспасов С.А. Фактор некроза опухолей и лимфотоксин: молекулярная генетика, регуляция продукции и физиологическая роль // Генетика. 2003. Т. 39, № 2. С. 207–214. [Nedospasov S.A. Tumor necrosis factor and lymphotoxin: molecular genetics, production and regulation of physiological role. *Genetika = Genetics*, 2003, vol. 39, no. 2, pp. 207–214. (In Russ.)]
19. Пирожков И.А., Смолянинов А.Б., Четкин А.В., Иволгин Д.А. Возможность применения гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови с генотипом CCR5 DELTA 32/DELTA32 для лечения ВИЧ-инфекции // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2014. Т. 13, № 3. С. 28–32. [Pirojkov I.A., Smolyaninov A.B.,

- Chechetkin A.V., Ivolgin D.A. The possibility of using stem cell cord blood genotype CCR5 DELTA 32/DELTA32 for the treatment of HIV infection. *Voprosy gematologii, onkologii i immunopatologii v pediatrii = Problems of Hematology, Oncology and Immunopathology in Pediatrics*, 2014, vol. 13, no. 3, pp. 28–32. (In Russ.)]
20. Поповцева О.Н., Юдина С.М., Стародубова Н.И., Степаненко И.В., Науаф О.С. Оценка информативности определения неоптерина и провоспалительных цитокинов при вирусных инфекциях // Клиническая лабораторная диагностика. 2002. № 9. С. 32–34. [Popovtseva O.N., Judina S.M., Starodubova N.I., Stepanenko I.V., Nauaf O.S. The evaluation of informativity of determining neopterin, and proinflammatory cytokines in viral infections. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*, 2002, no. 9, pp. 32–34. (In Russ.)]
 21. Ризванова Ф.Ф., Пикуза О.И., Файзуллина Р.А., Гайфуллина Р.Ф., Ризванов А.А., Кравцова О.А. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов // Практическая медицина. 2010. Т. 6, № 45. С. 41–43. [Rizvanova F.F., Pikuza O.I., Fayzulina R.A., Gayfullina R.F., Rizvanov A.A., Kravtsova O.A. Genetic diagnosis: polymorphism of cytokine genes. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2010, vol. 6, no. 45, pp. 41–43. (In Russ.)]
 22. Рыдловская А.В., Симбирцев А.С. Функциональный полиморфизм гена TNFA и патология // Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4, № 3. С. 1–10. [Rydlovskaya A.V., Simbircev A.S. Functional polymorphism of a gene of TNFA and pathology. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, vol. 4, no. 3, pp. 1–10. (In Russ.)]
 23. Смольникова М.В., Коненков В.И. Клиническая иммуногенетика заболеваний человека // Медицинская иммунология. 2002. Т. 3, № 3. С. 379–389. [Smol'nikova M.V., Konenkov V.I. Clinical immunogenetics of human diseases. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2002, vol. 3, no. 3, pp. 379–389. (In Russ.)]
 24. Сотниченко С.А. Особенности продукции цитокинов при ВИЧ-инфекции // Успехи современного естествознания. 2005. № 5. С. 13–15. [Sotnichenko S.A. Features of cytokine production at HIV infection. *Uspеhi sovremennogo estestvoznaniya = The Successes of Modern Science*, 2005, no. 5, pp. 13–15. (In Russ.)]
 25. Фазылов В.Х., Манапова Э.Р., Ткачева С.В., Якупова Ф.М., Бешимов А.Т. Сравнительный анализ аллелей гена интерлейкина-28В у пациентов при хроническом гепатите С и его сочетании с ВИЧ-инфекцией // Казанский медицинский журнал. 2013. Т. 94, № 3. С. 316–320. [Fazylov V.H., Manapova E.R., Tkachyova S.V., Yakupov F.M., Beshimov A.T. Comparative analysis of alleles of interleukin-28B in patients with chronic hepatitis C and combined with HIV infection. *Kazanski meditsinski zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2013, vol. 94, no. 3, pp. 316–320. (In Russ.)]
 26. Цыган В.Н., Иванов А.М., Камилова Т.А., Никитин В.Ю., Протасов О.В., Артюшкин С.А. Генетический полиморфизм цитокинов // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2010. Т. 2, № 30. С. 211–219. [Tsygan V.N., Ivanov A.M., Kamilova T.A., Nikitin V.Yu., Protasov O.V., Artyushkin S.A. Genetic polymorphism of cytokines. *Vestnik Rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy*, 2010, vol. 2, no. 30, pp. 211–219. (In Russ.)]
 27. Bidwell J., Keen L., Gallageher G., Kimberly R., Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., Alfonso S.D. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes and Immunity*, 1999, no. 1, pp. 3–19.
 28. Svetkovic J., Wallberg-Johnson S., Stegmayr B., Rantapaa-Dahlqvist S., Lefvert A.K. Susceptibility for and clinical manifestations of rheumatoid arthritis are associated with polymorphisms of TNF alpha, IL-1 beta, and IL-1Ra genes. *J. Rheumatol*, 2002, vol. 29, no. 2, pp. 212–219.
 29. Fujiki H., Suganuma M., Komori A., Yatsunami J., Okabe S., Ohta T., Sueoka E. A new tumor promotion pathway and its inhibitors. *Cancer Detect. Prev.*, 1994, vol. 18, no. 1, pp. 1–7.
 30. Hedberg C.L., Adcock K., Martin J., Loggins, J., Kruger T.E., Baier R.J. Tumor necrosis factor alpha –308 polymorphism associated with increased sepsis mortality in ventilated very low birth weight infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2004, vol. 23, no. 5, pp. 424–428.
 31. Kolls J., Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*, 2004, vol. 21, no. 4, pp. 467–476.
 32. Komori A., Yatsunami J., Suganuma M., Okabe S., Abe S., Sakai A., Sasaki K., Fujiki H. Tumor necrosis factor acts as a tumor promoter in BALB/3T3 cell transformation. *Cancer Res.*, 1993, vol. 53, no. 9, pp. 1982–1985.
 33. Kurschus F.C., Croxford A.L., Heinen A.P. Genetic proof for the transient nature of the Th17 phenotype. *Eur. J. Immunol*, 2010, vol. 40, no. 12, pp. 3336–3346. doi: 10.1002/eji.201040755
 34. Leek R.D., Landers R., Fox S.B., Ng F., Harris A.L., Lewis C.E. Association of tumour necrosis factor alpha and its receptors with thymidine phosphorylase expression in invasive breast carcinoma. *Br. J. Cancer*, 1998, vol. 77, no. 12, pp. 2246–2251.
 35. McGuire W., Hill A.V., Allsopp C.E., McGuire W., Hill A.V., Allsopp C.E., Greenwood B.M., Kwiatkowski D. Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature*, 1994, vol. 371, no. 6497, pp. 508–510.
 36. Nadel S., Newport M.J., Booy R., Levin M. Variation in the tumor necrosis factor_alpha gene promoter region may be associated with death from meningococcal disease. *J. Infect. Dis.*, 1996, vol. 174, no. 4, pp. 878–880.
 37. Selvaraj P., Sriram U., Mathan Kurian S., Reetha A.M., Narayanan P.R. Tumour necrosis factor alpha (–238 and –308) and beta gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis haplotype analysis with HLA-A, B and DR genes. *Tuberculosis (Edinb)*, 2001, vol. 81, no. 5–6, pp. 335–341.
 38. Sharief M.K., Henteges R. Association between tumor necrosis factor-alpha and disease progression in patients with multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 1991, vol. 325, no. 7, pp. 467–472.
 39. Studnicka-Bencke A., Steiner G., Petera P., Smolen J.S. Tumour necrosis factor-alpha and its soluble receptors parallel clinical disease activity in systemic lupus erythematosus. *Br. J. Rheum*, 1996, vol. 35, no. 11, pp. 1067–1074.
 40. Szalai C., Ungvari I., Pelyhe L., Tolgyesi G., Falus A. Asthma from a pharmacogenomic point of view. *Br. J. Pharmacol.*, 2008, vol. 153, no. 8, pp. 1602–1614. doi: 10.1038/bjp.2008.55

Авторы:

Пузырева Л.В., к.м.н., ассистент кафедры инфекционных болезней Омского государственного медицинского университета, г. Омск, Россия;

Сафонов А.Д., д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней Омского государственного медицинского университета, г. Омск, Россия.

Authors:

Puzyryova L.V., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation;

Safonov A.D., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Omsk, State Medical University, Omsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 04.10.2015
Отправлена на доработку 28.01.2016
Принята к печати 19.02.2016

Received 04.10.2015
Revision received 28.01.2016
Accepted 19.02.2016

РОЛЬ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ СИСТЕМЫ

Е.С. Коровкина, С.В. Кажарова

ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Резюме. Воспалительные заболевания бронхолегочной системы продолжают представлять собой одну из актуальных проблем здравоохранения. Особенностью данной группы заболеваний является то, что значительная часть пациентов «не отвечает» должным образом на проводимую антибактериальную терапию, причиной чего могут быть и различные нарушения в функционировании иммунной системы. Известно, что развитие иммунного ответа на патоген включает комплексное взаимодействие клеток и молекул врожденной и адаптивной иммунных систем. В настоящее время дендритные клетки рассматривают как связующее звено между врожденным и адаптивным иммунитетом. Для объяснения механизмов врожденной защиты сформулирована стратегия распознавания микроорганизмов на основе наличия у них общих патоген-ассоциированных молекулярных структур при участии рецепторов клеток эффекторов врожденного иммунитета. В последнее десятилетие интенсивно исследуются функции и экспрессия в норме и при патологии Toll-подобных рецепторов, которые являются наиболее важными представителями семейства сигнальных рецепторов и играют важную роль в активации механизмов врожденного иммунитета. Инфекция является одним из основных факторов, оказывающих влияние на изменение экспрессии Toll-рецепторов. При этом уровень их экспрессии прямо коррелирует с тяжестью процесса, что в ряде случаев позволяет рассматривать данные рецепторы как ранние маркеры инфекции. Учитывая роль Toll-рецепторов в развитии адекватного иммунного ответа, нельзя исключить наличие различных дефектов в системах передачи сигнала, а также в структуре самих рецепторных молекул у пациентов с воспалительными заболеваниями бронхолегочной системы. Именно поэтому определение роли Toll-подобных рецепторов при различных нозологиях целесообразно и в перспективе позволит не только прогнозировать течение заболевания, но и поможет оценить и повысить эффективность проведенной терапии. Учитывая то, что в настоящее время нет общепринятых эффективных способов иммунокоррекции при воспалительных заболеваниях бронхолегочной системы, остается актуальной проблема их профилактики и терапии. В частности, обсуждается использование иммуномодуляторов бактериального происхождения, на основе которых конструируются так называемые «терапевтические вакцины», обладающие наряду с неспецифическим действием способностью стимулировать антигенспецифический ответ.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, адаптивный иммунитет, врожденный иммунитет, дендритные клетки, Toll-рецепторы, патоген-ассоциированные молекулярные структуры, мутации Toll-рецепторов, полиморфизм Toll-рецепторов, антибактериальные терапевтические вакцины.

Адрес для переписки:

Коровкина Елена Сергеевна
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5А,
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова.
Тел.: 8 (916) 717-61-15 (моб.). Факс: 8 (495) 917-49-00.
E-mail: eskorovkina@yandex.ru

Contacts:

Elena S. Korovkina
105064, Russian Federation, Moscow, M. Kazionniy per., 5A,
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera.
Phone: +7 (916) 717-61-15 (mobile). Fax: +7 (495) 917-49-00.
E-mail: eskorovkina@yandex.ru

Библиографическое описание:

Коровкина Е.С., Кажарова С.В. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе воспалительных заболеваний бронхолегочной системы // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 109–116. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-109-116

Citation:

Korovkina E.S., Kazharova S.V. The toll-like receptors role in inflammatory diseases of the bronchopulmonary system pathogenesis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 109–116. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-109-116

© Коровкина Е.С., Кажарова С.В., 2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2016-2-109-116>

THE TOLL-LIKE RECEPTORS ROLE IN INFLAMMATORY DISEASES OF THE BRONCHOPULMONARY SYSTEM PATHOGENESIS

Korovkina E.S., Kazharova S.V.

I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Abstract. The inflammatory bronchopulmonary diseases are relevant public health problem. The general characteristics of this diseases group are significant proportion of patients that does not react properly on ongoing antibiotic therapy. The reason may be various disorders of the immune system. It is known that the development of immune response to pathogen involves a complex interaction of cells and molecules of innate and adaptive immune systems. Currently dendritic cells are considered as a connecting link between innate and adaptive immunity. Toll-like receptors function and expression are intensively investigated in norm and in pathology last decade, which are the most important members of the family of signaling receptors and play an important role in the activation of mechanisms of innate immunity. Infection is one of the major factors that influence in the expression of the toll-like receptors. The level of expression directly correlates with the severity of the process. In some cases toll-like receptors allows as early markers of infection. Consider the role of the toll-like receptors in the development of normal immune response, couldn't exclude the various defects in signal transmission systems and in the receptors structure in patients with inflammatory diseases. That is why defining the role of toll-like receptors in various diseases is advisable and in the future will allow to improve the effectiveness of the therapy. Nowadays have not generally accepted effective methods of the inflammatory bronchopulmonary diseases immunocorrection, there also remains the problem of prevention and therapy. In particular, discuss the use of immunomodulators, so called "therapeutic vaccines" that have the ability to stimulate the antigen-specific response.

Key words: community-acquired pneumonia, adaptive immunity, innate immunity, dendritic cells, toll-like receptors, pathogen-associated molecular patterns, mutations of Toll-like receptors, polymorphism of Toll-like receptors, antimicrobial therapeutic vaccine.

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, болезни органов дыхания, в том числе пневмонии, занимают 3-е место среди всех причин смерти, уступая лишь заболеваниям сердечно-сосудистой системы (ССС) и нарушениям мозгового кровообращения [48]. Основными группами риска по заболеваемости внебольничными пневмониями (ВП) являются дети до 2 лет и лица в возрасте 50 лет и старше, при этом с возрастом риск развития летального исхода при ВП увеличивается в несколько раз [11].

Около 17% больных ВП, получающих лечение в амбулаторных условиях, и 6–15% госпитализированных больных «не отвечают» должным образом на проводимую антибактериальную терапию. Среди причин неэффективности терапии обсуждаются адекватный выбор антибактериального препарата, особенности течения пневмонии, коморбидный фон пациента и иммунологические нарушения.

К числу наиболее актуальных типичных бактериальных возбудителей пневмоний относятся *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*. У некоторых категорий пациентов существенно возросла актуальность *Pseudomonas aeruginosa*. В последние годы, с появлением и распространением в популяции пандемического штамма вируса гриппа АН1N1, участилось возникновение случаев тяжелых вторичных бактериальных пневмоний, возбудителями которых являются *S. pneumoniae*, *S. aureus*. Кроме того, при внебольничных пневмониях возможно выявление коинфекции более чем 2 возбудителями, которая может быть вызвана как ассоциацией различных

бактериальных возбудителей, так и их сочетанием с респираторными вирусами, что приводит к более тяжелому течению и худшему прогнозу [5]. Не стоит также забывать и о значительном возрастании роли антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, а также представителей условно-патогенной микрофлоры в развитии различных воспалительных заболеваний бронхолегочной системы и, в том числе, в патогенезе ВП [2]. Кроме того, заболевания, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, в значительной части случаев развиваются на фоне сниженной иммунологической реактивности организма, и, при отсутствии адекватного лечения, имеют тенденцию к утяжелению и хронизации, что приводит к дальнейшему снижению местного и системного иммунитета. Это обосновывает необходимость внесения корректив в традиционные схемы терапии и определяет перспективность и направленность разработки новых средств и методов иммунопрофилактики и иммунокоррекции.

Молекулярно-клеточные механизмы активации врожденного и адаптивного иммунитета

Развитие иммунного ответа на патоген включает комплексное взаимодействие клеток и молекул врожденной и адаптивной иммунных систем, входящих в механизм иммунитета [9].

Известно, что основными функциями врожденного иммунитета являются идентификация чужеродных структур и их уничтожение при по-

мощи фагоцитоза или эндогенно синтезируемых антибактериальных пептидов. Если это не приводит к элиминации патогена, то врожденные механизмы защиты подготавливают чужеродные клетки к взаимодействию с Т-лимфоцитами для последующего развития адаптивного иммунного ответа. Основной функцией врожденных механизмов защиты является распознавание сходных фрагментов молекул, присутствующих у различных патогенов [4, 6, 9]. Ключевыми эффекторами врожденного иммунитета являются дендритные клетки и естественные киллеры (NK). В настоящее время дендритные клетки рассматривают как связующее звено между врожденным и адаптивным иммунитетом [1, 17, 31]. Реализация их функций осуществляется за счет захвата, процессинга антигенов и представления процессированных антигенных пептидов в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости Т-лимфоцитам. При этом в зависимости от природы антигена, его количества и других факторов поляризация иммунного ответа может быть направлена по Th1- или Th2-пути [2, 41].

Для объяснения механизмов действия врожденного иммунитета, сформулирована стратегия распознавания микроорганизмов на основе наличия у них общих патоген-ассоциированных молекулярных структур (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) при участии рецепторов клеток-эффекторов врожденного иммунитета [1, 2, 12]. Наиболее изученными PAMPs являются липополисахариды бактериальной стенки, липопроотеины, гликолипиды, флагеллин, липотейхоевые кислоты, маннаны, зимозан грибов, ДНК и РНК бактерий и вирусов [18, 32, 43, 46], а также молекулярные структуры растений, экстракты домашней пыли, никель и различные эндогенные соединения, высвобождающиеся при повреждении клеток (так называемые молекулярные паттерны, связанные с повреждением, damage associated molecular patterns, DAMPs — белки теплового шока, фибронектин, дефензины, фибриноген и другие вещества) [4, 9]. Распознавание PAMPs осуществляется с помощью патоген-распознающих рецепторов (pattern recognition receptors, PRRs) [42, 43]. У человека среди представителей PRRs выделяют Toll-подобные рецепторы (TLRs), NOD-подобные рецепторы (NOD-like receptors, NLRs), RIG-I-подобные рецепторы (Retinoic acid-inducible gene (RIG)-I-like receptors) и лектиновые рецепторы С-типа (CLRs) [1, 27].

В последнее десятилетие интенсивно исследуются функции и экспрессия в норме и при патологии Toll-подобных рецепторов (TLRs), которые являются наиболее важными представителями семейства сигнальных PRRs [23, 31]. В настоящее время у человека описано около 23 членов семейства TLRs. Хорошо охарактеризованными на сегодняшний день являются TLR1-TLR9 [1, 12, 17, 33]. В зависимости от локализации TLRs, в клетке

выделяют рецепторы, расположенные на цитоплазматической мембране (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10) и на мембранах внутриклеточных органелл (TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9) клеток врожденного иммунитета — эозинофилах, макрофагах, нейтрофилах [25]. Кроме того, имеются доказательства присутствия TLRs на Т- и В-лимфоцитах [45, 47].

В настоящее время различают два основных пути активации TLR: MyD88-зависимый путь и MyD88-независимый путь. После распознавания PAMPs, TLRs активируют каскад реакций передачи сигнала в ядро клетки: при связывании с лигандом рецептор подвергается димеризации, сопровождающейся изменением конформации TIR-домена, который связывается с адапторной молекулой MyD88 (myeloid differentiation protein 88) (при MyD88-зависимом пути активации), необходимой для привлечения киназ семейства IRAK (IL-1 receptor associated kinase). В данном процессе участвуют TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-7, TLR-9 и внутриклеточные молекулы MyD88, IRAK, TRAF, NFκB. Распознавание бактериальных и небактериальных лигандов PAMPs специфическими TLRs приводит к активации факторов транскрипции, таких как нуклеарный фактор κB (NFκB), и членов семейства IRF. Эта система, как правило, активирует ранний провоспалительный ответ [9, 21].

Напротив, при MyD88-независимом пути активации происходит взаимодействие TIR-домена с адапторной молекулой TRIF (TIR domain containing adaptor inducing IFNβ) с последующей активацией внутриклеточного фактора IRF3 (interferon regulatory factor 3), индуцирующего экспрессию генов IFNα и IFNβ, являющихся основными медиаторами дифференцировки Т-лимфоцитов. При данном пути активации запускается, как правило, противовирусный иммунный ответ. TLR-3 является ключевым элементом данного сигнального пути, поскольку взаимодействует с вирусной двуспиральной РНК. TLR-4 одинаково эффективно участвует в активации обеих внутриклеточных сигнальных систем [41, 43].

Таким образом, инфекция является одним из основных факторов, оказывающих влияние на изменение экспрессии TLRs. При этом уровень экспрессии TLRs прямо коррелирует с тяжестью процесса, что в ряде случаев позволяет рассматривать данные рецепторы как ранние маркеры инфекции [39, 41]. В зависимости от природы патогена наблюдается усиление экспрессии того или иного TLRs (см. табл. 1).

На уровне организма активация синтеза и секреции провоспалительных цитокинов (интерлейкины 1, 2, 6, 8, 12, TNFα, IFNγ, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор) приводит к развитию воспалительной реакции с подключением всех имеющихся систем защиты от патогенов [9, 26, 38].

Дефекты в системе Toll-подобных рецепторов как фактор предрасположенности к инфекциям

Учитывая важнейшую роль TLRs в реализации врожденного иммунного ответа, можно предположить, что дефекты на уровне рецепторов, а также факторов, регулирующих их функцию, могут приводить к развитию инфекционных и воспалительных заболеваний. Причинами нарушений функции TLRs могут быть мутации в генах TLRs, полиморфизм генов, кодирующих TLRs, мутации факторов системы передачи сигнала с TLRs.

Мутации TLRs. На сегодняшний день описаны мутации гена TLR4 (Asp299Gly и Thr399Ile), с которыми связывают отсутствие адекватного иммунного ответа на липополисахарды бактериальной стенки *in vivo* и *in vitro*. У носителей этих мутаций возрастает чувствительность к грамотрицательным инфекциям. В частности, у недоношенных детей описаны мутации TLR4 (TLR4-896G) и CD14 (CD14-159T), ассоциированные с сепсисом [13, 14].

Полиморфизм генов TLRs может приводить к нарушению распознавания инфекционных агентов и дисбалансу функционирования системы врожденного иммунитета, что проявляется повышением чувствительности к инфекциям и развитием хронических воспалительных заболеваний [24]. Одним из наиболее изученных вариантов TLRs-полиморфизма является TLR4 (Asp299Gly), который тесно связан с развитием гематогенного остеомиелита и системного кандидоза, тяжелых атопических заболеваний, болезнью Крона, язвенным колитом [19], а также развитием пневмоний, вызванных *S. pneumoniae* [28]. Полиморфизм TLR2 (Arg32Gln) ассоцииру-

ется с рецидивирующими инфекциями респираторного тракта, полиморфизм TLR2 (Arg753Gln) сопровождается развитием стафилококкового сепсиса [29, 30], полиморфизм TLR9 (T1237C) ассоциирован с повышенным риском развития бронхолегочного аспергиллеза, полиморфизм TLR1 (rs5743551) связывают с нарастанием случаев малярии в азиатской популяции [22]. Кроме того, интересной представляется четкая взаимосвязь наличия полиморфизма TLR9 (T1237C) с ростом случаев бронхиальной астмы в европейской популяции [16]. Наряду с представленными данными есть исследования, не обнаружившие связи полиморфизма и/или мутаций в TLR4 (Asp299Gly) и TLR2 (Arg753Gln) и увеличением частоты развития инфекций [34, 35, 36, 40].

Мутации факторов системы передачи сигнала с TLRs обусловлены наличием генетических дефектов на уровне различных компонентов сигнальных путей. Например, наследственный дефицит IRAK4 (одна из протеинкиназ системы передачи сигнала с TLRs) препятствует активации фактора транскрипции (NFκB), вследствие чего прерывается продукция цитокинов. Пациенты с данным генетическим дефектом с раннего возраста страдают инфекциями, вызванными *S. aureus* и *S. pneumoniae* [13, 37].

Иммунологические нарушения при внебольничных пневмониях. Основную роль в развитии и течении заболеваний дыхательной системы играют нарушения местного звена иммунной системы, защищающего респираторный тракт от воздействия неблагоприятных факторов внешней среды и обеспечивающего санацию бронхолегочной ткани. Органы иммунной системы распределены в организме таким образом, что наибольшее количество иммунокомпетентных клеток располагается в местах, контактирующих с внешней средой и являющихся анатомическими вход-

ТАБЛИЦА 1. ЛИГАНДЫ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Рецептор	Лиганды	Тип патогена
TLR1	Триациллипептиды, модулин <i>M. tuberculosis</i>	Грам(+) Грам(-)
TLR2	Липопротеиды большинства патогенов, пептидогликаны, липотейхоевые и маннуроновые кислоты, порины <i>Neisseria</i> , атипичные ЛПС, факторы вирулентности <i>Yersinia</i> , вирионы CMV, зимозан	Грам(+) Грам(-) Грибы Вирусы
TLR3	Двунитчатая РНК	Вирусы
TLR4	ЛПС грамотрицательных бактерий, HSP60, полимерные маннуроновые кислоты, флаволипиды, тейхуроновые кислоты, пневмолизин, оболочечный белок RSV	Грам(+) Грам(-) Вирусы
TLR5	Флагеллин	Грам(+)
TLR6	Диациллипептиды, модулин, липотейхоевая кислота, зимозан	Грам(+) Грибы
TLR7	Однонитчатая РНК, синтетические вещества	Вирусы
TLR8	Однонитчатая РНК, синтетические вещества	Вирусы
TLR9	Неметилированная CpG ДНК	Грам(+) Грам(-)
TLR10, 12, 13	Неизвестны	
TLR11	Профилин, уропатогенные бактерии	

ными воротами для инфекции. Совокупность лимфоидной ткани, расположенной в слизистых оболочках, обозначается термином MALT (mucosal-associated lymphoid tissue). MALT представляет собой субэпителиальные скопления лимфоидной ткани, не ограниченные капсулой. Среди них наибольшее значение имеет бронхоассоциированная лимфоидная ткань (БАЛТ), являющаяся первым звеном защиты от проникновения патогенов. В норме лимфоидный аппарат бронхоальвеолярного дерева представлен как неспецифическими факторами защиты, так и специфическим звеном иммунной системы [3]. К гуморальному звену местной защиты относятся иммуноглобулины классов G, A, M. Еще одним фактором неспецифической защиты является система комплемента; особое значение отводится С3-компоненту комплемента, при нарушении активности которого наблюдаются частые инфекционные осложнения. Также к неспецифическим факторам защиты относятся лизоцим, лактоферрин, фибронектин, интерферон, ингибиторы протеаз. Клеточное звено местной защиты включает альвеолярные макрофаги, нейтрофильные и эозинофильные гранулоциты. Специфическое звено иммунной системы представлено Т (γ и δ) и В-лимфоцитами.

Роль и функция TLRs в бронхолегочной ткани человека стала предметом изучения сравнительно недавно. В зарубежной литературе приводятся немногочисленные сведения об экспрессии различных TLRs на альвеолярных макрофагах здоровых лиц [49]. По данным Baral P. и соавт., альвеолярные макрофаги здоровых лиц экспрессируют TLR2, TLR4, TLR5 и TLR9 [1]. Ряд авторов [17] считает, что TLRs активированных альвеолярных макрофагов способны инициировать адаптивный иммунный ответ.

Однако исследования функциональной активности эффекторов врожденного иммунитета при воспалительных заболеваниях бронхолегочной системы носят фрагментарный характер. Имеются единичные обзорные работы, посвященные исследованиям дендритных клеток, TLRs и цитокинов при ВП, главным образом вирусной этиологии [9, 20, 46]. При этом результаты анализа литературных данных выявляют схожие тенденции клинического течения и этиологической характеристики внебольничной пневмонии [7].

По данным Мавзютовой Г.А. с соавт., в характере иммунного ответа больных с ВП отмечаются особенности реактивности, определяющие степень тяжести заболевания. В начале и разгаре пневмонии выявляется относительная лимфопения, более выраженная при тяжелом течении болезни, что свидетельствует о недостаточном реагировании клеток лимфоцитарного звена [7]. Так, у пациентов с легким и среднетяжелым течением отмечено увеличение числа зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$), цитотоксических ($CD8^+$) и натуральных киллерных клеток ($CD56^+$). Напротив, тяжелое течение ВП сопровождается

снижением числа зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$), Т-хелперов ($CD4^+$), индекса $CD4/CD8$, при одновременном снижении уровня В-лимфоцитов ($CD19^+$), на фоне повышения числа натуральных киллерных клеток ($CD56^+$). Подобные изменения в группе пациентов с тяжелой формой ВП являются характерными для системных воспалительных процессов, но в то же время могут свидетельствовать о неадекватности иммунного ответа [8]. Наибольший интерес представляют результаты проведенных исследований системы цитокинов. Согласно данным той же группы авторов, у больных с легким и очаговым течением заболевания отмечалась равноценная активация оппозиционных пулов цитокинов в начале заболевания (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, TNF α) с повышением IL-2, IL-4 и снижением содержания IL-6, IL-8 и TNF α в динамике. Напротив, тяжелое течение и долевое поражение легочной ткани сопровождалось дисбалансом цитокинового звена в виде увеличения содержания IL-6, IL-8, TNF α и снижения IL-2, IL-4 (в сравнении с показателями больных с легким течением). Учитывая важнейшую регуляторную роль лимфокинов IL-2, IL-4 (синтезируемых соответственно Th1-, Th2-лимфоцитами) [7, 8], можно предположить недостаточную межклеточную активацию специфических факторов клеточного звена иммунитета у больных с тяжелым течением, приводящую к усугублению инфекционного процесса. Недостаточность клеточного и гуморального механизмов иммунитета и дисбаланс цитокинового звена у больных внебольничной пневмонией определяет тяжесть течения данного заболевания. Это обосновывает необходимость дальнейшей разработки патогенетической, в том числе и иммунокорректирующей терапии при тяжелом течении заболевания [10].

Лекарственные воздействия через TLRs

Иммунопрофилактика при воспалительных заболеваниях бронхолегочной системы имеет два стратегических направления. Во-первых, вакцинация против респираторных инфекций, что является важным компонентом профилактики обострений и вторичных осложнений у больных с данной патологией. С этой целью применяют вакцины против пневмококковой инфекции, гриппа, гемофильной инфекции типа b.

Кроме того, в настоящее время нет общепринятых эффективных способов иммунокоррекции при ВП, поэтому остается актуальной проблема ее профилактики и терапии. Обсуждается использование иммуномодуляторов бактериального происхождения, на основе которых конструируются так называемые «терапевтические вакцины», обладающие наряду с неспецифическим действием способностью стимулировать антигенспецифический ответ.

Поскольку PAMPs бактерий, вирусов и грибов являются мощными активаторами врожденного иммунного ответа, очевидно, что на их основе возможно создание высокоэффективных иммуотропных лекарственных препаратов. По направленности препараты этого ряда могут быть двух типов: агонисты TLRs – иммуностимулирующие препараты для лечения различных видов иммунодефицитов, и антагонисты TLRs – иммуносупрессанты для терапии хронических иммуновоспалительных заболеваний. В настоящее время работы по созданию таких препаратов активно ведутся за рубежом. Например, минимальные биологически активные фрагменты, выделенные из бактериальной ДНК – CpG олигонуклеотиды (агонисты TLR9) или из ЛПС – монофосфорил-липид А (агонист TLR4) уже используются в качестве адъювантов, включаемых в состав вакцин с целью усиления их иммуногенных свойств. Синтетические агонисты TLR7/8 (квимоды) имеют длительную историю применения в качестве противовирусных лекарственных препаратов. Новая генерация синтетических агонистов TLR7/TLR8 (R-848 и 3M-002) демонстрирует мощные иммуностимулирующие свойства: инициируют продукцию цитокинов типа Th1 (TNF α , IL-12) на достаточно высоком уровне [9].

Заключение

Новый взгляд на запуск реакций врожденного и адаптивного иммунитета обогатил учение об иммуномодуляторах. В частности, появились данные о механизме действия различных микробных антигенов, содержащих PAMPs, и возможности их использования для коррекции эффекторной функции иммунной системы. Toll-подобные рецепторы (TLRs) являются важным механизмом в активации врожденного иммунитета. Учитывая роль TLRs в развитии адекватного иммунного ответа, нельзя исключить наличие различных дефектов Toll-подобных рецепторов у пациентов с воспалительными заболеваниями бронхолегочной системы. Обобщая данные по изучению экспрессии и функционированию TLRs при внебольничных пневмониях надо отметить, что они носят фрагментарный характер, недостаточно хорошо систематизированы и поэтому не дают полного представления о состоянии иммунной системы при данной патологии и нуждаются в дальнейшем изучении. Таким образом, определение роли TLRs при внебольничных пневмониях целесообразно и в перспективе позволит не только прогнозировать течение заболевания, но и поможет оценить и повысить эффективность проведенной терапии.

Список литературы/References

1. Ахматова Н.К., Киселевский М.В. Врожденный иммунитет: противоопухолевый и противоифекционный. М.: Практическая медицина, 2008. 254 с. [Akhatova N.K., Kiselevskii M.V. Vrozhdennyi immunitet: protivopukhovelevyi i protivoinfeksionnyi [Innate immunity: anti-tumor and anti-infectious]. Moscow: *Prakticheskaya meditsina*, 2008, 254 p.]
2. Егорова Н.Б., Курбатова Е.А. Иммунотерапевтическая концепция использования микробных антигенов при атопии и патологии, ассоциированной с условно-патогенной микрофлорой (на примере поликомпонентной вакцины Иммуовак-ВП-4) // Медицинская иммунология. 2008. Т. 10, № 1. С. 13–20. [Egorova N.B., Kurbatova E.A. An immunotherapeutic concept of microbial antigen application in atopy and disorders associated with facultative microflora, as exemplified by a polycomponent Immunovac VP4 vaccine. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2008, vol. 10, no. 1, pp. 13–20. doi: 10.15789/1563-0625-2008-1-13-20 (In Russ.)]
3. Земсков А.М., Земскова В.А., Попов В.И., Караулов А.В., Конопля А.И. Иммунология: учебное пособие для врачей. Воронеж, 2013. 594 с. [Zemskov A.M., Zemskova V.A., Popov V.I., Karaulov A.V., Konoplya A.I. Immunologiya: uchebnoe posobie dlya vrachei [Immunology: a textbook for doctors]. Voronezh, 2013, 594 p.]
4. Катунина О.Р. Функции Toll-подобных рецепторов как компонента врожденного иммунитета и их участие в патогенезе дерматозов различной этиологии // Вестник дерматологии и венерологии. 2011. № 2. С. 18–25. [Katunina O.R. Functions of Toll-like receptors as an inborn immunity component and their participation in the pathogenesis of dermatoses of different etiologies. *Vestnik dermatologii i venerologii = Journal of Dermatology and Venereology*, 2011, no. 2, pp. 18–25. (In Russ.)]
5. Коровкина Е.С. Последствия внебольничных пневмоний и возможности их профилактики // Пульмонология. 2015. № 1. С. 101–104. [Korovkina E.S. The effects of community-acquired pneumonia and possibilities of their prevention. *Pul'monologiya = Pulmonology*, 2015, no. 1, pp. 101–104. (In Russ.)]
6. Кубанов А.А., Абрамова Т.В. Распознающие рецепторы врожденного иммунитета (Toll-подобные рецепторы) в патогенезе заболеваний кожи // Цитокины и воспаление. 2015. Т. 14, № 1. С. 11–17. [Kubanov A.A., Abramova T.V. Recognition receptors of innate immunity (Toll-like receptor) in the pathogenesis of skin diseases. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2015, vol. 14, no. 1, pp. 11–17. (In Russ.)]
7. Мавзютова Г.А., Фазлыева Р.М., Тюрина Е.Б., Хайруллина Р.М., Бикметова Н.Р. Особенности иммунных нарушений при внебольничных пневмониях // Медицинская иммунология. 2007. Т. 9, № 6. С. 605–612. [Mavziutova G.A., Fazlyeva R.M., Tiurina E.B., Khairullina R.M., Bikmetova N.R. Features of immune disturbances in community-acquired pneumonias. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2007, vol. 9, no. 6, pp. 605–612. doi: 10.15789/1563-0625-2007-6-605-612 (In Russ.)]
8. Маркелова Е.В., Гельцер Б.И., Корявченкова И.В., Костюшко А.В. Состояние системы цитокинов при нозокомиальных пневмониях // Цитокины и воспаление. 2003. Т. 2, № 1. С. 14–19. [Markelova E.V., Geltser B.I., Koryavchencova I.V., Kostushko A.V. Cytokine system in nosocomial pneumonia patients. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2003, vol. 2, no. 1, pp. 14–19. (In Russ.)]

9. Маркушин С.Г. Особенности врожденного иммунитета при вирусных инфекциях // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2012. Т. 1, № 62. С. 72–81. [Markushin S.G. Features of innate immunity in virus infections. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2012, vol. 1, no. 62, pp. 72–81. (In Russ.)]
10. Мухамадиева Л.Р., Мавзютова Г.А., Фазлыева Р.М., Бикметова Н.Р. Клинико-иммунологическая эффективность иммунофана и полиоксидония в комплексной терапии внебольничной пневмонии // Медицинская иммунология, 2009, Т. 11, № 1. С. 57–62. [Mukhamadieva L.R., Mavzyutova G.A., Fazlyeva R.M., Bikhmetova N.R. Clinical and immunological efficiency of immunofan and polyoxidonium in combined therapy of community-acquired pneumonia. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2009, vol. 11, no. 1, pp. 57–62. doi: 10.15789/1563-0625-2009-1-57-62 (In Russ.)]
11. Романенко В.В., Сомова А.В., Ковтун О.В. Первые уроки масштабной программы вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции в Свердловской области // Педиатрическая фармакология. 2014. Т. 11, № 1. С. 86–90. [Romanenko V.V., Somova A.V., Kovtun O.V. The first lessons of a wide-scale pneumococcal infection vaccinal program in the Sverdlovsk region. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2014, vol. 11, no. 1, pp. 86–90. (In Russ.)]
12. Симбирцев А.С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета // Иммунология. 2005. № 6. С. 368–376. [Simbircev A.S. Toll proteins: specific receptors of non-specific immunity. *Immunologiya = Immunology*, 2005, no. 6, pp. 368–376. (In Russ.)]
13. Толстопятова М.А., Буслаева Г.А., Козлов И.Г. Роль рецепторов врожденного иммунитета в развитии инфекционной патологии и новорожденных детей // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2009. Т. 87, № 1. С. 115–120. [Tolstopiatova M.A., Buslaeva G.A., Kozlov I.G. The role of receptors of innate immunity in development of infectious disease and newborn babies. *Pediatriya. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo = Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*, 2009, vol. 87, no. 1, pp. 115–120. (In Russ.)]
14. Ahrens P., Kattner E., Köhler B., Härtel C., Seidenberg J., Segerer H., Möller J., Göpel W. Mutation of genes involved in the innate immune system as predictors of sepsis in very low birth weight infants. *Pediatr. Res.*, 2004, vol. 55, pp. 652–656. doi: 10.1203/01.pdr.0000112100.61253.85
15. Baral P., Batra S., Zemans R.L., Downey G.P., Jeyaseelan S. Divergent functions of Toll-like receptors during bacterial lung infections. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2014, vol. 190, no. 7, pp. 722–732. doi: 10.1164/rccm.201406-1101PP
16. Berenson C.S., Kruzal R.L., Wrona C.T., Mammen M.J., Sethi S. Impaired innate COPD alveolar macrophage responses and Toll-like receptor-9 polymorphisms. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 9, e:0134209. doi: 10.1371/journal.pone.0134209
17. Bhan U., Lukacs N.W., Osterholzer J.J., Newstead M.W., Zeng X., Moore T.A., McMillan T.R., Krieg A.M., Akira S., Standiford T.J. TLR9 is required for protective innate immunity in Gram-negative bacterial pneumonia: role of dendritic cells. *J. Immunol.*, 2007, vol. 179, no. 6, pp. 3937–3946. doi: 10.4049/jimmunol.179.6.3937
18. Buddelmeijer N. The molecular mechanism of bacterial lipoprotein modification — how, when and why? *FEMS Microbiol. Rev.*, 2015, vol. 39, no. 2, pp. 246–261. doi: 10.1093/femsre/fuu006
19. Franchimont D., Vermeire S., El Housni H., Pierik M., Van Steen K., Gustot T., Quertinmont E., Abramowicz M., Van Gossum A., Devière J., Rutgeerts P. Deficient host-bacteria interactions in inflammatory bowel disease? The toll-like receptor (TLR)-4 Asp299gly polymorphism is associated with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut*, 2004, vol. 53, no. 7, pp. 978–992.
20. Go H., Koh J., Kim H.S., Jeon Y.K., Chung D.H. Expression of toll-like receptor 2 and 4 is increased in the respiratory epithelial cells of chronic idiopathic interstitial pneumonia patients. *Respir. Med.*, 2014, vol. 108, no. 5, pp. 783–792. doi: 10.1016/j.rmed.2013.12.007
21. Guo S., Nighot M., Al-Sadi R., Alhmod T., Nighot P., Ma T.Y. Lipopolysaccharide regulation of intestinal tight junction permeability is mediated by TLR4 signal transduction pathway activation of FAK and MyD88. *J. Immunol.*, 2015, vol. 195, no. 10, pp. 4999–5010. doi: 10.4049/jimmunol.1402598
22. Hahn W.O., Harju-Baker S., Erdman L.K., Krudsood S., Kain K.C., Wurfel M.M., Liles W.C. A common TLR1 polymorphism is associated with higher parasitaemia in a Southeast Asian population with Plasmodium falciparum malaria. *Malar. J.*, 2016, vol. 15, no. 1, e:12. doi:10.1186/s12936-015-1071-y
23. Jiménez-Dalmaroni M.J., Gerswhin M.E., Adamopoulos I.E. The critical role of toll-like receptors — from microbial recognition to autoimmunity: a comprehensive review. *Autoimmun. Rev.*, 2016, vol. 15, no. 1, e:12. doi: 10.1016/j.autrev.2015.08.009
24. Kiechl S., Lorenz E., Reindl M., Wiedermann C.J., Oberhollenzer F., Bonora E., Willeit J., Schwartz D.A. TLR4 polymorphism and atherogenesis. *N. Eng. J. Med.*, 2002, vol. 347, no. 3, pp. 185–192. doi: 10.1056/nejmoa012673
25. Kokkinopoulos I., Jordan W.J., Ritter M.A. Toll-like receptor mRNA expression patterns in human dendritic cells and monocytes. *Mol. Immunol.*, 2005, vol. 42, no. 8, pp. 957–968. doi: 10.1016/j.molimm.2004.09.037
26. Kondo T., Kawai T., Akira S. Dissecting negative regulation of Toll-like receptor signaling. *Trends Immunol.*, 2012, vol. 33, no. 9, pp. 449–458. doi: 10.1016/j.it.2012.05.002
27. Kumar H., Kawai T., Akira S. Pathogen recognition in the innate immune response. *Biochem. J.*, 2009, vol. 420, no. 1, pp. 1–16. doi: 10.1042/bj20090272
28. Kumpf O., Giamarellos-Bourboulis E.J., Koch A., Hamann L., Mouktaroudi M., Oh D.Y., Latz E., Lorenz E., Schwartz D.A., Ferwerda B., Routsis C., Skalioti C., Kullberg B.J., Van der Meer J.W., Schlag P.M., Netea M.G., Zacharowski K., Schumann R.R. Influence of genetic variations in TLR4 and TIRAP/Mal on the course of sepsis and pneumonia and cytokine release: an observational study in three cohorts. *Critic. Care*, 2010, vol. 14, no. 3, e:R103. doi: 10.1186/cc9047
29. Kutukculer N., Yeniay B.S., Aksu G., Berdeli A. Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor-2 gene in children with recurrent febrile infections. *Biochem. Gen.*, 2007, vol. 45, no. 7–8, pp. 507–514. doi: 10.1007/s10528-007-9091-0
30. Lorenz E., Mira J.P., Frees K.L., Schwartz D.A. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with Gram-negative septic shock. *Arch. Int. Med.*, 2002, vol. 162, no. 9, pp. 1028–1032. doi: 10.1001/archinte.162.9.1028
31. Lundberg K., Rydnert F., Greiff L., Lindstedt M. Human blood dendritic cell subsets exhibit discriminative pattern recognition receptor profiles. *Immunol.*, 2014, vol. 142, no. 2, pp. 279–288. doi: 10.1111/imm.12252
32. Marinelli C., Di Liddo R., Facci L., Bertalot T., Conconi M.T., Zusso M., Skaper S.D., Giusti P. Ligand engagement of Toll-like receptors regulates their expression in cortical microglia and astrocytes. *J. Neuroinflamm.*, 2015, vol. 12, no. 1, e:244. doi: 10.1186/s12974-015-0458-6

33. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*, 2007, vol. 449, no. 7164, pp. 819–826. doi: 10.1038/nature06246
34. Moore C.E., Segal S., Berendt A.R., Hill A.V.S., Day N.P.J. Lack of association between tlr2 polymorphism and susceptibility to severe disease caused by *St. aureus*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2004, vol. 11, no. 6, pp. 1194–1197. doi: 10.1128/cdi.11.6.1194-1197.2004
35. Morré S.A., Murillo L.S., Spaargaren J., Fennema H.S.A., Peña A.S. Role of TLR4 Asp299Gly polymorphism in susceptibility to *Candida albicans* infection. *J. Infect. Dis.*, 2002, vol. 186, no. 9, pp. 1377–1379. doi: 10.1086/344328
36. Morré S.A., Murillo L.S., Bruggeman C.A., Peña A.S. The role that the functional Asp 299Gly polymorphism in the toll-like receptors 4 gene plays in susceptibility to *Chlamydia trachomatis*-associated tubal infertility. *J. Inf. Dis.*, 2003, vol. 187, no. 2, pp. 341–342. doi.org/10.1086/346044
37. Picard C. Pyogenic bacterial infections in humans with IRAK-4 deficiency. *Science*, 2003, vol. 299, no. 5615, pp. 2076–2079. doi: 10.1126/science.1081902
38. Plotz S.G. The interaction of human peripheral blood eosinophils with bacterial lipopolysaccharide is CD14 dependent. *Blood*, 2001, vol. 97, no. 1, pp. 235–241. doi: 10.1016/j.vetimm.2005.05.008
39. Raymond C.R., Wilkie B.N. Toll-like receptor, MHC II, B7 and cytokine expression by porcine monocytes and monocyte-derived dendritic cells in response to microbial pathogen-associated molecular patterns. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 2005, vol. 107, no. 3, pp. 235–247. doi: 10.1016/j.vetimm.2005.05.008
40. Read R.C., Pullin J., Gregory S., Borrow R., Kaczmarek E.B., Di Giovine F.S., Dower S.K., Cannings C., Wilson A.G. A functional polymorphism of TLR4 is not associated with likelihood or severity of meningococcal disease. *J. Inf. Dis.*, 2001, vol. 184, no. 5, pp. 640–642. doi: 10.1086/322798
41. Renn C.N., Sanchez D.J., Ochoa M.T., Legaspi A.J., Oh C.K., Liu P.T., Krutzik S.R., Sieling P.A., Cheng G., Modlin R.L. TLR activation of Langerhans cell-like dendritic cells triggers an antiviral immune response. *J. Immunol.*, 2006, vol. 177, no. 1, pp. 298–305. doi: 10.4049/jimmunol.168.9.4701
42. Sabroe I., Jones E.C., Usher L.R., Whyte M.K., Dower S.K. Toll-like receptor (TLR2) and TLR4 in human peripheral blood granulocytes: a critical role for monocytes in leukocyte lipopolysaccharide responses. *J. Immunol.*, 2002, vol. 168, no. 9, pp. 4701–4710. doi: 10.4049/jimmunol.168.9.4701
43. Sun J., Li N., Oh K.S., Dutta B., Vayttaden S.J., Lin B., Ebert T.S., De Nardo D., Davis J., Bagirzadeh R., Lounsbury N.W., Pasare C., Latz E., Hornung V., Fraser I.D. Comprehensive RNAi-based screening of human and mouse TLR pathways identifies species-specific preferences in signaling protein use. *Sci. Sign.*, 2016, vol. 9, no. 409, e-ra3. doi: 10.1126/scisignal.aab2191
44. Supajatura V., Ushio H., Nakao A., Okumura K., Ra C., Ogawa H. Protective roles of mast cells against enterobacterial infection are mediated by toll-like receptor 4. *J. Immunol.*, 2001, vol. 167, no. 4, pp. 2250–2256. doi: 10.4049/jimmunol.167.4.2250
45. Tabiasco J., Devèvre E., Rufer N., Salaun B., Cerottini J.-C., Speiser D., Romero P. Human effector CD8+T-lymphocytes express TLR3 as a functional coreceptor. *J. Immunol.*, 2006, vol. 177, no. 12, pp. 8708–8713. doi: 10.4049/jimmunol.177.12.8708
46. Tomlinson G., Chimalapati S., Pollard T., Lapp T., Cohen J., Camberlein E., Stafford S., Periselenis J., Aldridge C., Vollmer W., Picard C., Casanova J.L., Noursadeghi M., Brown J. TLR-mediated inflammatory responses to *Streptococcus pneumoniae* are highly dependent on surface expression of bacterial lipoproteins. *J. Immunol.*, 2014, vol. 193, no. 7, pp. 3736–3745. doi: 10.4049/jimmunol.1401413
47. Trembl L.S., Carlesso G., Hoek K.L., Stadanlick J.E., Kambayashi T., Bram R.J., Cancro M.P., Khan W.N. TLR stimulation modifies BlyS receptor expression in follicular and marginal zone B cells. *J. Immunol.*, 2007, vol. 178, no. 12, pp. 7531–7539. doi: 10.4049/jimmunol.178.12.7531
48. WHO Media Center 2014. The top 10 causes of death. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en>
49. Yasui M., Matsushima M., Omura A., Mori K., Ogasawara N., Koderu Y., Shiga M., Ito K., Kojima S., Kawabe T. The suppressive effect of quercetin on Toll-like receptor 7-mediated activation in alveolar macrophages. *Pharmacology*, 2015, vol. 96, no. 5–6, pp. 201–209. doi: 10.1159/000438993

Авторы:

Коровкина Е.С., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний отдела аллергологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Кажарова С.В., младший научный сотрудник лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний отдела аллергологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия.

Authors:

Korovkina E.S., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Vaccination and Immunotherapy of Allergic Diseases, Department of Allergology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Kazharova S.V., Junior Researcher, Laboratory of Vaccination and Immunotherapy of Allergic Diseases, Department of Allergology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 26.01.2016
 Принята к печати 19.02.2016

Received 26.01.2016
 Accepted 19.02.2016

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА

И.Б. Есмагамбетов¹, С.В. Алексеева¹, Х.С. Саядян², М.М. Шмаров¹

¹ ФГБУ ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

² Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. Сеченова, Москва, Россия

Резюме. Грипп является сезонным инфекционным заболеванием, широко распространенным по всему земному шару. В России на долю гриппа и других ОРВИ приходится до 90% всей инфекционной патологии. Научно обоснованным методом профилактики гриппа является вакцинация. Однако современные классические вакцины против гриппа не способны индуцировать защиту от всего многообразия штаммов вируса, существенно различающихся по своей антигенной структуре, и таким образом требуют периодического обновления своих ключевых компонентов. Кроме того, существует угроза возникновения пандемии, связанной с появлением совершенно нового в антигеном отношении варианта вируса гриппа А. Попытки улучшить традиционные подходы к вакцинации были сосредоточены в основном на совершенствовании технологий производства вакцин и повышении их иммуногенности. Следовательно, актуальной задачей является создание вакцин, способных индуцировать иммунный ответ широкого спектра против различных штаммов вируса гриппа человека и штаммов вируса гриппа птиц, также способных вызывать заболевания у людей. Протективный эффект универсальных вакцин должен обеспечиваться индукцией комплексного иммунного ответа, базирующегося на выработке кросс-реактивных антител и Т-клеток. Разработка такой универсальной вакцины сможет снять необходимость в периодическом обновлении штаммового состава существующих вакцин и, соответственно, сможет дать возможность производителю вакцин самому вести производственное планирование вне зависимости от эпидемических сезонов. В настоящее время наиболее широко исследуемыми антигенами в качестве ключевых компонентов противогриппозных вакцин являются белки М2, NP а также гемагглютинин вируса гриппа. В данном обзоре суммированы и приведены некоторые данные отечественных и зарубежных исследований по созданию универсальных противогриппозных вакцин.

Ключевые слова: вирус гриппа, универсальная вакцина, гемагглютинин, М2 (ионный канал), нуклеопротеин, иммунный ответ широкого спектра.

CURRENT APPROACHES TO UNIVERSAL VACCINE AGAINST INFLUENZA VIRUS

Esmagambetov I.B.^a, Alekseeva S.V.^a, Sayadyan K.S.^b, Shmarov M.M.^a

^a Gamaleya Research Center of Microbiology and Epidemiology, Moscow, Russian Federation

^b I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Influenza is a seasonal infectious disease widespread across the globe. In Russia the share of influenza and other acute respiratory viral infections account for up to 90% of all infectious diseases. Scientific and reasonable method of influenza prevention is vaccination. However, traditional current influenza vaccines can't induce protection against

Адрес для переписки:

Есмагамбетов Ильяс Булатович
123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, ФГБУ ФНИЦ эпидемиологии
и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи.
Тел.: 8 (499) 193-30-01 (служебн.). Факс: 8 (499) 193-61-83.
E-mail: dmitrovboy@mail.ru

Contacts:

Ilias B. Esmagambetov
123098, Russian Federation, Moscow, Gamaleya str., 18,
Gamaleya Research Center of Microbiology and Epidemiology.
Phone: +7 (499) 193-30-01 (office). Fax: +7 (499) 193-61-83.
E-mail: dmitrovboy@mail.ru

Библиографическое описание:

Есмагамбетов И.Б., Алексеева С.В., Саядян Х.С., Шмаров М.М.
Современные подходы к созданию универсальной вакцины против
вируса гриппа // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 117–132.
doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-117-132

Citation:

Esmagambetov I.B., Alekseeva S.V., Sayadyan K.S., Shmarov M.M. Current
approaches to universal vaccine against influenza virus // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2,
pp. 117–132. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-117-132

© Есмагамбетов И.Б. и соавт., 2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2016-2-117-132>

various virus strains that differ substantially in terms of their antigenic structure, and thus require periodic updates to its immunogenic components. In addition, there is the risk of a pandemic caused by an entirely new antigen in relation to variants of influenza virus A. Attempts to improve on traditional approaches to vaccination have focused primarily on improving production technologies and to increase immunogenicity of vaccines. Therefore, the urgent task is the creation of vaccines able to induce immune response a broad spectrum against different influenza virus strains and human strains of avian influenza, also can cause disease in humans. Protective effect of universal vaccine should be the induction of integrated immune response, based on the formulation of cross-reactive antibodies and T cells. The development of such universal vaccine could remove the need for periodical strain composition update of existing vaccines and, accordingly, will be able to give the vaccine manufacturer itself, production planning regardless of epidemic seasons. Currently, the most widely studied antigens as key components of flu vaccines are proteins M2 and NP as well as the hemagglutinin of influenza virus. This review summarizes and lists some data of domestic and foreign research on a universal influenza virus vaccine.

Key words: *influenza virus, universal vaccine, haemagglutinin, M2 (ion channel), nucleoprotein, wide range immune response.*

Введение

Грипп является сезонным инфекционным заболеванием, характеризующимся поражением органов дыхания, высокой контагиозностью и смертностью. Грипп широко распространен по всему миру и вызывает сезонные эпидемии, в результате которых ежегодно погибают сотни тысяч людей [51]. В России на долю гриппа и других ОРВИ приходится более 90% случаев всей инфекционной патологии. Передача возбудителя у человека происходит воздушно-капельным путем, входными воротами инфекции являются верхние дыхательные пути, а именно клетки мерцательного эпителия. Распространение вируса происходит чрезвычайно быстро, к группе риска относятся дети, люди пожилого возраста, а также беременные женщины. Летальные исходы чаще всего наблюдаются у детей младше 2 лет и пожилых людей старше 65 (90% всех летальных случаев) [88]. Наиболее эффективной мерой борьбы с гриппом является массовая вакцинопрофилактика населения с помощью разнообразных вакцинных препаратов, протективная активность которых базируется преимущественно на выработке вируснейтрализующих антител к глобулярному домену белка гемагглютинина и белку нейраминидазе.

Традиционные вакцины против гриппа представляют собой живые аттенуированные, инактивированные (цельновирсионные и сплит-вакцины) и субъединичные. Живые аттенуированные вакцины вводят интраназально, тогда как инактивированные и субъединичные парентерально. Начиная с 1970-х гг. производятся трехвалентные вакцины против гриппа, включающие в себя два сезонных штамма вируса гриппа А (H1N1 и H3N2) и сезонный штамм вируса гриппа В. С 2013 г. к производству рекомендованы четырехвалентные

противогриппозные вакцины, включающие обе линии вируса гриппа В (Виктория и Ямагата). Однако современные противогриппозные вакцины не способны обеспечить защиту от широкого спектра различных штаммов вируса гриппа, а также штаммов появляющихся в процессе антигенного дрейфа и антигенного шифта. На сегодняшний день идентифицировано 18 подтипов HA, разделенных по степени антигенного сродства на 2 филогенетические группы (группа 1 — H1, H2, H5, H6, H8, H9, H11, H12, H13, H16, H17 и H18; группа 2 — H3, H4, H7, H10, H14 и H15), и 11 подтипов NA вируса гриппа А (рис. 1, III обложка) [91, 99]. На данный момент в человеческой популяции циркулируют штаммы вируса гриппа А подтипов H1N1 и H3N2 [3, 4]. Однако спорадические вспышки заболеваний у людей были вызваны также штаммами вируса гриппа А птиц подтипов H5N1, H7N7, H7N9 и H10N8 (Centers for Disease Control and Prevention, 2013). В настоящее время случаев передачи вирусов гриппа А птиц от человека к человеку не зарегистрировано [94, 103], но, тем не менее, такая угроза вполне реальна [42].

Попытки улучшить традиционные подходы к вакцинации были сосредоточены в основном на совершенствовании технологий производства вакцин и повышении их иммуногенности, поэтому в настоящее время актуальным является создание «универсальных» вакцин, способных индуцировать иммунный ответ широкого спектра против различных штаммов вируса гриппа А.

Особенности иммунного ответа против вируса гриппа

На первом этапе, при попадании в организм вируса гриппа, происходит его распознавание и включение звена врожденного иммунного

ответа. Врожденный иммунитет направлен на предотвращение проникновения и размножения вируса в клетках эпителия дыхательных путей.

Первичное распознавание вируса гриппа в инфицированных клетках происходит благодаря паттерн-распознающим рецепторам. Рецептор TLR7 распознает одноцепочечную вирусную РНК, рецепторы TLR3 и RIG-I распознают двуцепочечную вирусную РНК, получающуюся в процессе репликации. Сигнальные каскады, включающиеся после активации рецепторов, стимулируют синтез провоспалительных цитокинов и интерферонов первого типа [35, 59]. Интерфероны первого типа обладают сильной противовирусной активностью благодаря ингибированию синтеза белка в инфицированных клетках и ограничивают репликацию вируса. Интерфероны первого типа также индуцируют экспрессию генов ISGs, продукты которых способны ингибировать репликацию вируса [33, 39]. Кроме того, интерфероны первого типа стимулируют дендритные клетки, что в свою очередь усиливает презентацию гриппозных антигенов CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитам, что способствует запуску адаптивного иммунного ответа. Белок M2 (ионный канал) активирует рецептор NLRP3, который обеспечивает превращение про-IL-1 β в IL-1 β , который участвует в стимулировании клеток Th17 и пролиферации CD4⁺ Т-лимфоцитов [6, 41].

В процессе инфекции клеток альвеол, активируются альвеолярные макрофаги, которые выполняют функцию фагоцитоза инфицированных гриппом клеток [50]. Кроме того, активированные макрофаги начинают продуцировать TNF α , что также направлено на ограничение распространения вируса [46, 57].

При гриппозной инфекции большое значение имеют конвенциональные дендритные клетки, расположенные под слоем эпителиальных клеток, над базальной мембраной верхних дыхательных путей. Они способны опсонизировать вирионы вируса гриппа и апоптотические тела инфицированных клеток. После поглощения вируса, дендритные клетки мигрируют в регионарные лимфоузлы, где они презентуют гриппозные антигены наивным Т-клеткам, активируя их [26].

Натуральные киллеры являются важным компонентом врожденного иммунитета при гриппе. Есть данные о способности натуральных киллеров распознавать инфицированные гриппом клетки через рецепторы NKp44 и NKp46, связывающие гемагглютинин. Также, по некоторым данным, натуральные кил-

леры стимулируют клеточный иммунный ответ, регулируют созревание эозинофилов и защищают эпителий дыхательных путей [71].

Адаптивный иммунный ответ

Адаптивная иммунная система формирует вторую линию защиты в процессе гриппозной инфекции, и представлена как гуморальным, так и клеточным звеном.

Особую роль при гриппе играют вируснейтрализующие антитела к гемагглютинину, вырабатываемые в основном на его глобулярный домен и препятствующие его контакту с клеточными рецепторами. Кроме того, благодаря Fc-фрагменту они способствуют фагоцитозу вириона и стимуляции антителозависимой клеточной цитотоксичности. Гемагглютинин локализуется на поверхности вириона вируса гриппа в виде тримера и является его мажорным белком. Каждый мономер состоит из 2 цепей — HA1 и HA2, соединенных дисульфидными связями. Глобулярную часть HA образует преимущественно цепью HA1 и включает рецептор-связывающий домен RGD (receptor-binding domain), являющийся главной мишенью вируснейтрализующих антител. Аминокислотная последовательность HA имеет около 80% гомологии между различными штаммами внутри одного подтипа и 40–70% гомологии между штаммами, относящимися к разным подтипам. Кроме того, аминокислотная последовательность RGD-домена наиболее подвержена мутациям в процессе антигенного дрейфа. Известны следующие вируснейтрализующие антитела блокирующие RGD-домен: FE17 [14], S139/1 [102], CH65 [97], C05 [18].

В отличие от глобулярной, стволовая часть HA является высококонсервативной среди различных подтипов вируса гриппа А, антитела к ней не способны блокировать связывание вируса с сиаловыми кислотами на поверхности клеток, но они способны препятствовать конформационным изменениям структуры HA, необходимым для проникновения вируса внутрь клетки.

Обнаружены антитела специфичные к эпитомам стволовой части гемагглютинина, реагирующие с подтипами филогенетической группы 1 — CR6261 [17], с подтипами филогенетической группы 2 — CR8020 [18], с подтипами обеих групп — FI6 [15]. Введение хорькам сыворотки, содержащей антитела CR6261, обеспечивает защиту от летальной инфекции, а также снижает размножение вируса в легких при последующем заражении их вирусом гриппа птиц H5N1 [17, 24, 89]. Так же было показано,

что введение сыворотки, содержащей антитела FI6, способно защищать хорьков от летальной дозы вируса гриппа [15].

Кроме того, протективными свойствами обладают антитела против нейраминидазы. Они лишены вируснейтрализующей активности, но способны блокировать ферментативную активность нейраминидазы, что ограничивает распространение вируса. Антитела против нейраминидазы также стимулируют антителозависимую цитотоксичность. Кроме того, было показано, что антитела к нейраминидазе способны защищать мышей от вируса гриппа H5N1 [74].

Еще одним поверхностным белком, стимулирующим выработку антител, является белок M2 (ионный канал), в частности его эктодомен M2e. Данный белок является высоко консервативным среди различных штаммов вируса гриппа А [44]. Но из-за его малого количества на вирусной частице анти-M2 антитела вырабатываются в низком титре. Ионный канал M2 является трансмембранным белком, состоящим из 4-х идентичных субъединиц, соединенных дисульфидными связями [38]. Данный белок выполняет функцию ионного канала и необходим для высвобождения вирусного генома в процессе проникновения вируса [37, 86]. Существуют данные, показывающие, что антитела против эктодомена белка M2 способны ограничивать размножение вируса и образование вирусных бляшек (*in vitro*) в монослое клеток [93], а также индуцировать защиту против различных подтипов вируса внутри группы А [77]. Были идентифицированы антитела к M2e (Ab1-10), перекрестно реагирующие с сезонными, пандемическим (H1N1), а также высокопатогенными птичьими (H5N1) штаммами вируса гриппа [70]. Антитела против белка M2 не являются вируснейтрализующими, однако они способны обеспечивать антителозависимую клеточную цитотоксичность [19, 48] и таким образом играют важную роль в иммунном ответе против вируса гриппа.

Еще одним белком вируса гриппа А, стимулирующим образование антител, является белок NP [12, 52]. Кроме того, согласно литературным данным, антигенные изменения в последовательности NP являются очень редкими среди различных штаммов вируса гриппа А [76, 81]. Антитела к белку NP обеспечивают антителозависимую клеточную цитотоксичность [47], однако в процессе натуральной инфекции белок NP стимулирует в основном клеточный иммунный ответ.

При первичной инфекции индуцируется выработка антител изотипов IgA, IgG и IgM,

при вторичной инфекции выработки антител IgM не обнаруживается [23, 46]. Антитела IgM обладают не только вируснейтрализующей активностью, но также способны активировать систему комплемента [23, 46]. Секреторные иммуноглобулины А защищают слизистые дыхательных путей, где находятся входные ворота гриппозной инфекции и являются показателями недавнего инфицирования [72]. Кроме того, антитела sIgA защищают от инфицирования клетки дыхательных путей [61, 69]. Иммуноглобулины класса G обеспечивают наиболее длительную защиту против гриппа [65]. При развитии иммунного ответа у матери, ее антитела способны защищать новорожденного при условии соответствия штаммов [40, 62, 105].

Во время инфекционного процесса, вызванного вирусом гриппа, происходит индукция как CD4⁺, и так CD8⁺ Т-лимфоцитов. CD8⁺ Т-клетки распознают эпитопы в составе молекул МНС I на поверхности антигенпрезентирующих клеток, активируются и становятся способными убивать инфицированные вирусом клетки, и таким образом играют огромную роль при элиминации вируса гриппа из организма. CD8⁺ Т-клетки способны обеспечивать гетеросубтипический иммунный ответ в отсутствие антител благодаря своей способности распознавать высококонсервативные эпитопы белков вируса гриппа, таких как NP, M1, PB1 [7, 29, 53, 98].

Активация CD4⁺ Т лимфоцитов происходит в процессе презентации им антигена в составе комплекса с молекулами МНС II класса антигенпрезентирующими клетками. Большинство этих клеток в дальнейшем становятся Т-хелперами, но некоторые проявляют цитолитическую активность в отношении инфицированных клеток [84]. Вирусспецифичные CD4⁺ Т-клетки играют важную роль при индукции выработки антител и CD8⁺ Т-клеток памяти.

Механизмы защиты вируса гриппа от воздействия иммунной системы

Давление популяционного иммунитета, а также высокая скорость мутационных изменений в геноме вируса гриппа приводят к появлению новых штаммов, отличающихся по своей антигенной структуре. Такие штаммы гриппа либо частично, либо вообще не подвергаются воздействию со стороны сформированного как клеточного, так и гуморального иммунного ответа. Кроме того, некоторые белки вируса гриппа способны блокировать определенные звенья иммунного ответа.

Существует два основных механизма генетической изменчивости вируса гриппа — антигенный шифт и антигенный дрейф. Антигенный дрейф характеризуется изменением антигенной структуры вируса, происходящей в результате мутации в антигенных детерминантах. Это связано с тем, что во время репликации вирусная полимераз делает случайные ошибки, результатом которых является появление новых антигенных вариантов вируса, нечувствительных к сформированному на прежний штамм специфическому иммунному ответу. Мутации в областях связывания со специфическими антителами подвергаются положительной селекции [83]. Было найдено 5 сайтов в глобулярном домене гемагглютинина, изменения в которых приводят к изменению его антигенной структуры. Антигенный дрейф характерен как для вируса гриппа А, так и для вируса гриппа В. Более существенные антигенные изменения происходят в процессе антигенного шифта, обусловленного сегментированной структурой вирусной РНК. В основе механизма антигенного шифта лежит реассортация сегментов РНК разных штаммов вируса гриппа А, которая может происходить при совместном инфицировании двумя и более вирусами. При репликации геномов различных штаммов сегменты РНК могут смешиваться в любых сочетаниях, поэтому новые вирионы содержат разные наборы генов, заимствованные от каждого из исходных вирусов (рис. 2, III обложка).

Изменения антигенной структуры в процессе антигенного шифта, как правило, имеют большее значение для гемагглютинина, меньшее — для нейраминидазы. Таким образом, через нерегулярные интервалы времени появляются пандемические варианты вирусов гриппа А с новыми антигенными и биологическими свойствами, которые вызывают тяжелые заболевания и гибель людей [27].

Неструктурный белок 1 вируса гриппа способен связываться с вирусной РНК и блокировать ее распознавание Toll-подобными рецепторами и рецептором RIG-1 и, тем самым, подавлять индукцию выработки интерферонов первого типа [25, 31]. Кроме того, неструктурный белок 1 связывает белок TRIM25, что также ингибирует активацию рецептора RIG-1. Также неструктурный белок 1 связывает РНК-зависимую протеинкиназу и блокирует ее функции [25, 87]. В норме РНК-зависимая протеинкиназа активируется при детекции двухцепочечной вирусной РНК и блокирует синтез вирусных белков на стадии трансляции [64].

Существуют данные, показывающие роль нуклеопротеина вируса гриппа как активатора белка P58IPK, являющегося ингибитором РНК-зависимой протеинкиназы [79].

Белок М2 вируса гриппа способен ингибировать синтез клеточных белков, стимулировать апоптоз и тем самым облегчать высвобождение новых вирусных частиц [30].

Белок PB1-F2 также способен индуцировать апоптоз [13]. Белки PB2 и PB1-F2 ингибируют продукцию интерферонов первого типа посредством связывания митохондриального противовирусного сигнального белка (MAVS) [28].

Новые подходы к разработке универсальных противогриппозных вакцин

Современные подходы к усовершенствованию производства противогриппозных вакцин, а также способа их введения в организм были сконцентрированы в основном на препаратах, содержащих в качестве ключевого иммуногена гемагглютинин вируса гриппа. Иммунный ответ, индуцируемый на гемагглютинин, является хорошо изученным и способным обеспечивать защиту против вируса гриппа, однако в настоящее время наиболее перспективным является направление в разработке новых вакцин на основе консервативных антигенов вируса. Разработка такой универсальной вакцины сможет снять необходимость в ежегодном обновлении штаммового состава существующих вакцин и, соответственно, сможет дать возможность производителю вакцин самому вести производственное планирование вне зависимости от эпидемических сезонов. В настоящее время наиболее широко исследуемыми антигенами в качестве ключевых компонентов противогриппозных вакцин являются белки М2, NP а также стволовой домен гемагглютинина.

Кандидатные универсальные вакцины на основе гемагглютинина

Как было сказано выше при естественной инфекции антитела против гемагглютинина вырабатываются в основном на его глобулярный домен, который является весьма переменчивым, однако существуют стратегии с совместным использованием аминокислотных последовательностей нескольких различных подтипов гемагглютинина для индукции гетеросубтипического иммунного ответа. Schwartzman L.M. с соавт. продемонстрировал

иммуногенность и протективность препарата вирусоподобных частиц, состоящих из белка М1 от вируса гриппа А/New York/312/2001 (H1N1) и HA различных штаммов вируса гриппа А [78]. Всего было сконструировано 4 вирусоподобные частицы, несущие HA от штаммов вируса гриппа А/South Carolina/1/1918 (H1N1), A/pintail/Ohio/339/1987 (H3N8), A/mallard/Maryland/802/2007 (H5N1) и A/Environment/Maryland/261/2006 (H7N3). Было показано, что двукратная интраназальная иммунизация препаратом, содержащим 6 мкг смеси из полученных VLP (по 1,5 мкг каждой частицы), защищает мышей от последующего заражения вирусами гриппа подтипов H1N1 1918 года, H2N1 1957 года, H5N1, H6N1, H7N9, H7N1, H10N1 и H11N1 в дозе 10ЛД₅₀ на животное. Причем в экспериментах с вирусами подтипов H1N1, H2N1, H7N9, H7N1, H10N1 и H11N1 защита составила 100%, а с вирусами подтипов H5N1 и H6N1 — 90 и 80% соответственно [78]. Кроме того существуют данные об индукции гетеросубтипического иммунного ответа в организме мышей при иммунизации рекомбинантными аденовирусами, экспрессирующими гены HA вирусов гриппа А/Mallard/Pennsylvania/10218/84 (H5N2) и A/Duck/Novosibirsk/56/2005 (H5N1), Ad-HA5-1 и Ad-HA5-2 соответственно [4]. Экспериментально показано, что антитела в сыворотке мышей, иммунизированных Ad-HA5-1, способны связывать HA вируса гриппа подтипа H5N2 и наоборот антитела мышей, иммунизированных Ad-HA5-2, способны связывать HA от вируса подтипа H5N1. Мыши, иммунизированные как Ad-HA5-1, так и Ad-HA5-2 были на 100% защищены от заражения 50ЛД₅₀ гомологичного штамма вируса гриппа А/Mallard/Pennsylvania/10218/84 (H5N2) [4]. При изучение протективной активности Ad-HA5-2 против гетерологичных штаммов вируса гриппа А, была продемонстрирована 100%-ная защита против 10ЛД₅₀ вируса гриппа А/USSR/90/77 (H1N1), тогда как против вируса гриппа А/Aichi/2/68 (H3N2) защитного эффекта не наблюдалось. Данное явление объясняется тем, что подтипы H1N1 и H5N2, в отличии от H3N2 находятся в одной филогенетической группе (рис. 1, III обложка). Таким образом, хотя HA является весьма вариабельным между различными штаммами вируса гриппа, подход с использованием его полноразмерной последовательности для создания универсальной противогриппозной вакцины также заслуживает внимания.

Кандидатные вакцины на основе стволовой части гемагглютинаина

Относительно недавнее направление в разработке универсальной противогриппозной вакцины — направление, базирующееся на получение кросс-реактивных антител к стволовой части гемагглютинаина. Стволовая часть HA состоит из альфа-спирали, которая является весьма консервативной среди всех подтипов вируса гриппа и выполняет ключевую роль при слиянии с клеточной мембраной в процессе проникновения вируса. При натуральной инфекции антитела к этому участку вырабатываются в очень низких титрах, тем не менее попытки создания вакцин на его основе являются достаточно перспективными. Impagliazzo A. и коллеги показали, что стабилизированная тримеризованная стволовая часть гемагглютинаина, сконструированная на основе аминокислотной последовательности вируса гриппа А подтипа H1, способна индуцировать выработку кросс-реактивных антител, не уступающих по своим вируснейтрализующим свойствам антителам, выработанным к полноразмерной форме гемагглютинаина [43]. Иммунизация мышей таким мини-HA способна обеспечивать полную защиту мышей против гомологичного и гетерологичного подтипов вируса гриппа А, и, в частности, стимулировать антителозависимую клеточную цитотоксичность. В экспериментах на нечеловеческих приматах данный иммуноген показал способность индуцировать выработку кросс-реактивных антител к различным вирусам гриппа А группы 1, обеспечивающим антителозависимую клеточную цитотоксичность, а также существенно снизить подъем температуры у животных после введения сублетальной дозы вируса гриппа и кроме того обеспечивать нейтрализацию вируса гриппа H5N1. Кроме того, недавно появились данные об иммуногенности и протективности наночастиц HA-SS-*np* [100]. Данные наночастицы, сконструированные на основе стволовых регионов гемагглютинаина штаммов А/New Caledonia/20/1999 (H1N1) и А/South Carolina/1/1918 (H1N1), а также белка ферритина от *Helicobacter pylori*, способны индуцировать выработку антител, реагирующих с гемагглютинаинами подтипов H1, H2, H5 и H9 группы 1 и подтипов H3 и H7 группы 2, в организме мышей и хорьков. При изучении протективной активности наночастицы HA-SS-*np* оказались способны защищать хорьков и мышей от летальной

дозы вируса гриппа А гетерологичного подтипа H5N1 [100]. Li R. с соавт. получил кандидатную рекомбинантную вакцину pgsA-CTA1sM2HA2/L.casei на основе бактерии *Lactobacillus casei*, экспрессирующей гены белков sM2 (консенсусный между вируса гриппа А подтипов H1N1, H5N1 и H9N2 белок M2, лишенный трансмембранного домена), фрагмента стволовой части HA (15–137 а.к.) от вируса гриппа А/EM/Korea/W149/06 (H5N1) и субъединицы холерного токсина А1 [56]. Препарат продемонстрировал способность индуцировать гуморальный (в том числе мукозальный) и клеточный иммунный ответ у мышей при пероральном и интраназальном введении и, кроме того, индуцировать защиту против 10ЛД₅₀ вирусов гриппа А/EM/Korea/W149/06 (H5N1), А/Aquatic bird/Korea/W81/2005 (H5N2), А/Puerto Rico/8/34 (H1N1), А/Chicken/Korea/116/2004 (H9N2) и А/Philippines/2/08 (H3N2) в течении более чем 7 месяцев после иммунизации. Следует отметить, что интраназальное введение индуцировало более высокие уровни защиты по сравнению с пероральным введением [56].

Таким образом, использование стволовой части HA для индукции гетеросубтипического иммунного ответа против гриппа показывает хорошие результаты на мышах и нечеловеческих приматах, являясь весьма обнадеживающим. Основной проблемой для создания универсальной вакцины на базе консервативных регионов HA является индукция высоких титров антител и протективного эффекта у человека.

Кандидатные вакцины на основе M2e

Ионный канал M2 является трансмембранным белком, состоящим из 4-х идентичных субъединиц, соединенных дисульфидными связями [38]. Данный белок выполняет функцию ионного канала и необходим для высвобождения вирусного генома в процессе проникновения вируса [37, 86]. Из экспрессируемого в ходе инфекции в цитоплазме клетки белка M2 лишь небольшое количество его копий включается в состав вновь формирующихся вирусных частиц. M2 включает в себя:

- эктодомен (M2e), состоящий из первых 24 N-концевых аминокислот;
- трансмембранный домен (с 25 по 46 аминокислоту), образующий ионный канал [37, 94];
- цитоплазматическую амфифильную цепь (с 47 по 61 аминокислоту), необходимую для отсоединения вириона от цитоплазматической мембраны при выходе собранной вирусной частицы из клетки [44];

– С-концевой хвост (с 62 по 98 аминокислоту), необходимый для соединения с белком M1 и формирования структуры [77].

Эктодомен белка M2 вируса гриппа (M2e) является наиболее широко исследованным антигеном в попытках создания универсальных противогриппозных вакцин, что связано с его высокой консервативностью среди различных штаммов вируса гриппа, а также его поверхностной локализацией. Согласно литературным данным, антитела против эктодомена белка M2 способны ограничивать размножение вируса и образование вирусных бляшек (*in vitro*) в монослое клеток [83]. Были идентифицированы антитела к M2e (Ab1-10), перекрестно реагирующие с сезонными, пандемическим (H1N1), а также высокопатогенными птичьими (H5N1) штаммами вируса гриппа [70]. Антитела против белка M2 не являются вируснейтрализующими, однако они способны обеспечивать антителозависимую клеточную цитотоксичность [19, 48] и способны защищать мышей от различных подтипов вируса гриппа [22, 66, 90]. Существуют данные о наличии в эктодоме белка M2 Т-клеточных эпитопов, гомологичных для 99% штаммов вируса гриппа А [58].

В процессе натуральной инфекции антиген M2 является относительно слабо иммуногенным. Первые данные о протективных свойствах антител против белка M2 были продемонстрированы еще в 1995 г. при иммунизации мышей белком M2, полученным в бакуловирусной системе, и последующего их заражения летальной дозой вирусов подтипов H1N1 и H3N2 [82]. Для повышения иммуногенности кандидатных вакцин на основе белка M2 были применены различные модификации, такие как добавление адъювантов и лигандов Toll-подобных рецепторов для стимуляции иммунной системы, а также экспрессия M2 в составе VLP или липосомных частицах.

Марданова Е.С. с соавт. продемонстрировала иммуногенность и протективность химерного белка, состоящего из 4 аминокислотных последовательностей M2e (2 последовательности M2e консенсусные между человеческими штамма вируса гриппа А и 2 последовательности M2e от штамма А/Chicken/Kurgan/05/2005), соединенных с аминокислотной последовательностью белка флагелина от *Salmonella typhimurium* [60]. Данная химерная конструкция была получена при помощи экспрессии плазмидного вектора в растении *Nicotiana benthamiana*. Трехкратная иммунизация мышей 10 мкг полученного препарата индуцирует выработку M2e-специфичных антител и обес-

печивает 75%-ную защиту против 5ЛД₅₀ вируса гриппа А/Chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1), 50%-ную защиту против 10ЛД₅₀ вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1) и 100%-ную защиту против 5ЛД₅₀ вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1) [60]. Имеются данные о том, что кандидатная универсальная вакцина на основе химерных норовирусных частиц, модифицированных консенсусным птичьим M2e (M2e-PP), способна индуцировать выработку значимых титров IgG у кур при подкожном введении в сочетании с масляным адъювантом [16]. Важно отметить, что у птиц, иммунизированных интраназально, на конъюнктиву и микроспреем, значимого титра специфических антител детектировано не было. Кроме того, трехкратное подкожное введение птицам M2e-PP, способно индуцировать защиту против вирусов гриппа птиц подтипов H5N2, H7N2 и H6N2 [20]. Обнадеживающие данные были получены Равиным Н.В. и коллегами при использовании в качестве кандидатной противогриппозной вакцины рекомбинантной частицы на основе ядерного белка вируса гепатита В и птичьего M2e (HВс-M2e) [2]. Двух- или трехкратная иммунизация мышей препаратом, состоящим из частиц M2E-HВс, обеспечивает их 100% защиту от летальной гриппозной инфекции, кроме того специфичные к M2e антитела способны подавлять репродукцию вирусов гриппа А/Duck/Potsdam/4024/26 (H5N2) и А/Hon Kong/1073/99 (H9N2) при пассивной иммунизации мышей [2]. Leung H.-C. с соавт. продемонстрировали способность пептида, представляющего собой M2e-тетрамер от вируса гриппа А H5N1 (H5N1-M2e), индуцировать защиту у мышей как против гомологичного подтипа H5N1, так и против гетерологичных подтипов H1N1 и H7N9 [55]. В частности в последней работе было показано, что иммунизация H5N1-M2e в сочетании с адъювантом Фрейнда или адъювантной системой Sigma на 80% защищает мышей от заражения 10ЛД₅₀ вируса гриппа А/Anhui/01/13 (H7N9) и предотвращает повреждение тканей легких [55]. Так же, как было описано в предыдущей главе, иммуногенностью и протективностью против различных подтипов вируса гриппа А, обладает кандидатная рекомбинантная вакцина на основе бактерии *Lactobacillus casei*, экспрессирующей на поверхности белок M2, лишенный трансмембранного домена (sM2), фрагмент стволовой части HA и субъединицу холерного токсина A1 (pgsA-STA1sM2HA2/L. casei) [55]. Имеются данные о том, что введение мышам 15 мкг рекомбинантного белка M2, лишенного трансмембранного домена, в сочетании с адъювантом

цитозаном обеспечивает 100%-ную защиту от гомологичного штамма, 90%-ную защиту от гетерологичного штамма H1N1 и 30%-ную защиту от гетерологичного штамма H5N1 [85]. Tompkins et al. продемонстрировали, что праймирование ДНК-вакциной и бустирование рекомбинантным аденовирусом, несущим ген полноразмерного белка M2, индуцирует перекрестный гуморальный и клеточный иммунный ответ, а также защищает против летальной дозы вируса гриппа H5N1 [90].

На сегодняшний день направление с использованием эктодомена белка M2 для создания универсальной вакцины против гриппа показывает хорошие результаты. Однако использование M2e ограничено необходимостью использования высокоиммуногенных носителей, что делает целесообразным разработку различных способов повышения его иммуногенности, а также использования M2e в сочетании с компонентом, стимулирующим клеточный иммунный ответ. Okuda K. и коллеги показали, что внутримышечная и интраназальная иммунизация мышей препаратом плазмиды, экспрессирующей гены M1 и M2 вируса гриппа штамма А/PR/8/34 (H1N1), вызывает образование специфических антител и защищает от заражения штаммами вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1) и А/WSN/33 (H1N1) [68]. Zhou D. и соавт. продемонстрировали иммуногенность и протективность рекомбинантных аденовирусов шимпанзе, экспрессирующих гены M2e от 3 различных штаммов вируса гриппа, соединенные с геном NP вируса гриппа [104]. Авторами было создано 2 препарата на основе рекомбинантных аденовирусов шимпанзе серотипа С68 и С6, экспрессирующих гены M2e от штаммов вируса гриппа А подтипов H1N1, H5N1 и H7N2 и ген NP от вируса гриппа А H1N1 (AdC68M2e(3)-NP и AdC6-M2e(3)-NP). В экспериментах *in vivo* было показано, что праймирование AdC68M2e(3)-NP и бустирование AdC6-M2e(3)-NP индуцирует выработку значимых титров антител к белку M2 вируса гриппа подтипов H1N1, H5N1 и H7N2, а также значимое количество NP-специфичных CD8⁺ Т-клеток [104]. Эксперименты по протекции, в свою очередь показали, что полученные конструкции способны защищать мышей от летальной дозы вирусов гриппа А/PR/8/34 и А/Fort Monmouth/1/47.

Наши собственные исследования также продемонстрировали иммуногенные свойства рекомбинантного аденовируса человека пятого серотипа, экспрессирующего гены полноразмерных белков M2 и NP вируса гриппа А [1]. Нами был получен рекомбинантный аденови-

рус Ad5-tet-M2NP, несущий гены полноразмерных антигенов M2 и NP, консенсусных для различных штаммов вируса гриппа А, под контролем системы экспрессии tet-off. Однократная интраназальная иммунизация мышей Ad5-tet-M2NP в дозах 10^7 и 10^8 БОЕ на животное индуцирует выработку значимого уровня антител к антигенам M2 и NP [1], что также говорит о перспективе использования данных антигенов для создания универсальной противогриппозной вакцины.

Подходы к созданию вакцин, стимулирующих выработку специфических цитотоксических Т-лимфоцитов, и вакцин на основе внутренних антигенов вируса гриппа

Было показано, что у животных, зараженных вирусом гриппа, в последующем развивается протективный иммунный ответ против вирусов гриппа других подтипов, выражающийся в подавлении репликации вируса. Во многих случаях данная защита коррелирует с присутствием кросс-реактивных цитотоксических Т-лимфоцитов и наблюдается в отсутствие кросс-реактивных антител. Цитотоксические Т-лимфоциты циркулируют по организму, локализуются в селезенке и регионарных лимфатических узлах и легких. Было показано, что перенос активированных цитотоксических Т-лимфоцитов от мыши, зараженной вирусом гриппа, интактной мыши защищает последнюю от заражения. Аналогичные данные об индукции гетеросубтипического иммунного ответа были получены в экспериментах на хорьках и свиньях [95, 96]. Кроме того, существуют данные о наличии гетеросубтипического иммунного ответа у людей в отсутствие специфических антител [63]. В экспериментах *in vitro* было продемонстрировано, что цитотоксические Т-лимфоциты человека, выработанные в ответ на инфекцию сезонным вирусом гриппа, способны распознавать и реагировать с высокопатогенными штаммами вируса гриппа птиц, а также с новыми штаммами подтипа H1N1 человека [45, 53, 75].

Специфической мишенью для цитотоксических Т-лимфоцитов являются внутренние антигены вируса гриппа, обладающие высокой степенью консервативности, следовательно, вакцины, направленные на стимулирование их выработки, могут обладать протективными свойствами. Функции цитотоксических Т-лимфоцитов заключаются в распознавании и уничтожении клеток зараженных вирусом гриппа. Инфицированные клетки презентуют внутренние анти-

гены вируса в комплексе с молекулами МНС I класса, благодаря чему происходит их распознавание и последующее уничтожение цитотоксическими Т-лимфоцитами [10, 11]. Как и анти-M2 антитела, специфические цитотоксические лимфоциты не могут предотвратить первичного инфицирования клеток вирусом, но они могут ограничить репродукцию вируса и ускорить процесс его элиминирования из организма. У невакцинированных взрослых людей цитотоксические лимфоциты играют решающую роль в освобождении организма от гриппозной инфекции [63] и функционируют посредством выделения перфорина и стимулирования апоптоза зараженной гриппом клетки [92]. Кроме того, при клеточном иммунном ответе важную роль играют Т-хелперные клетки, обеспечивающие индукцию иммунологической памяти [80]. Использование вакцин, стимулирующих клеточный иммунный ответ, может быть использовано для создания первой линии защиты против различных, в том числе пандемических, штаммов вируса. Согласно литературным данным, в белках M1, NP, и PB1 присутствуют эпитопы для цитотоксических и хелперных Т-лимфоцитов, консервативные у более чем 17 штаммов, относящихся к 6 различным подтипам [53]. Важным фактором при получении вакцин, стимулирующих клеточный иммунный ответ, является принцип иммунодоминантности, заключающийся в том, что иммунная система выбирает один или несколько основных эпитопов для распознавания [101]. Вакцины, направленные на выработку цитотоксических Т-лимфоцитов, специфичных к иммунодоминантному эпитопу, могут существенно сузить спектр перекреста иммунного ответа к различным штаммам вируса. Также при разработке таких вакцин, необходимо учитывать роль способа доставки антигена и его презентации. Для стимуляции сильного цитотоксического иммунного ответа необходимо, чтобы антиген был процессирован и презентируван дендритными клетками в комплексе с молекулами МНС I класса. Данные события могут происходить при непосредственном инфицировании или трансдуцировании дендритных клеток, а также при поглощении дендритными клетками апоптотических тел от других инфицированных клеток. Поэтому уровень индукции цитотоксического иммунного ответа среди вакцин варьирует от сильного — в случае живых аттенуированных, до более слабого и низкого — в случае инактивированных цельновирионных и субъединичных вакцин [71].

На сегодняшний день основными средствами доставки антигенов при разработке СТЛ-вакцин являются вирусные векторы [8, 9], липосомы, виросомы [49]), а также твердые частицы липидно-адьювантно-иммуностимулирующего комплекса (ISCOM) [73]. Ключевыми мишенями цитотоксического иммунного ответа на СТЛ-вакцины на сегодняшний день являются консервативные эпитопы белка NP вируса гриппа. Нуклеопротеин NP вируса гриппа является одним из мажорных белков вириона, связывает вирусную РНК, защищает ее от воздействия РНКаз, обеспечивает транспорт вирусного рибонуклеопротеидного комплекса в ядро клетки и играет важную роль при ее репликации. На поздней стадии инфекции белок NP связывается с белком экспортином 1 (XPO1) и играет активную роль в экспорте рибонуклеопротеина из клеточного ядра.

Согласно литературным данным антигенные изменения в последовательности NP являются очень редкими среди различных штаммов вируса гриппа А [76, 81]. Клеточный иммунный ответ против белка NP является весьма значимым, так как он направлен против нескольких вариантов клеточных эпитопов [32].

Altstein et al. продемонстрировали, что двукратная иммунизация мышей вектором вируса осповакцины, экспрессирующим ген NP вируса гриппа А/PR8/34 (H1N1), защищает от последующего заражения вирусом гриппа А/Aichi2/68 (H3N2) и А/Mallard/Pennsylvania/10218/84 (H5N2) в дозе 1–5ЛД₅₀ на животное [5]. Векторная вакцина на основе *Lactococcus lactis*, экспрессирующего ген NP вируса гриппа А/California/04/2009(H1N1) в сочетании с адьювантом — холерным токсином В (СТВ) — способна индуцировать гуморальный (в том числе мукозальный) и клеточный иммунный ответ, а также обеспечивать 100% защиту против гомологичного штамма California/04/2009 (H1N1) и 80% защиту против гетерологичных штаммов А/Guangdong/08/95 (H3N2) и А/chicken/Henan/12/2004 (H5N1) соответственно при пероральном введении [54]. Протективностью и иммуногенностью против различных подтипов вируса гриппа А обладает ДНК-вакцина, экспрессирующая ген NP вируса гриппа А/PR8/34 (H1N1) с удаленным сигналом ядерной локализации [67]. Трехкратное внутримышечное введение данного препарата с интервалом 14 дней защищает мышей против 5ЛД₅₀ вирусов гриппа А гомологичного штамма H1N1 и гетерологичного H3N2, причем в 1,5–2 раза выше чем аналогичный препарат без удаления сигнала ядерной лока-

лизации у белка NP [67]. Существуют данные показывающие, что рекомбинантный аденовирус, экспрессирующий ген NP вируса гриппа штамма А/PR/8/34 (H1N1), способен индуцировать выработку специфических антител IgA на слизистых дыхательных путей у мышей при интраназальном введении [50]. Кроме того, сублингвальное введение данного препарата обеспечивает выработку сильного цитотоксического иммунного ответа к иммунодоминантному эпитопу NP147-155. Следует также отметить, что именно интраназальное введение, в отличие от сублингвального, обеспечивало защиту мышей от летальной дозы вируса гриппа гетерологичного штамма [50]. Epstein et al. продемонстрировали, что праймирование ДНК-вакциной и бустирование рекомбинантным аденовирусом, экспрессирующим ген NP, индуцирует формирование гуморального и клеточного иммунного ответа, а также защищает против вируса гриппа H5N1 [21]. Индукцию гетеросубтипического иммунного ответа обеспечивает иммунизация рекомбинантным аденовирусом, экспрессирующим ген HA птичьего гриппа и ген NP [36].

Перспективным подходом к созданию СТЛ-вакцин является использование адьювантов способных регулировать иммунный ответ, в частности молекулы CD40L. Молекула CD40 и ее лиганд (CD40L) имеют очень важное значение при иммунном ответе, регулируя функции АПК. Hashem A.M. и соавт. продемонстрировали возможность индукции длительного иммунного ответа против вируса гриппа при помощи однократной иммунизации рекомбинантным аденовирусом, экспрессирующим ген химерного белка, состоящего из антигена NP и молекулы CD40L (NP-CD40L) [34]. Авторами было получено 4 аденовирусные конструкции, экспрессирующие ген NP вируса гриппа А/duck/Yokohama/aq10/03 (H5N1):

- rAd-SNP40L — рекомбинантный аденовирус, экспрессирующий секретлируемую форму химерного белка NP-CD40L;
- rAd-NP40L — рекомбинантный аденовирус, экспрессирующий несекретлируемую форму химерного белка NP-CD40L;
- rAd-SNP — рекомбинантный аденовирус, экспрессирующий секретлируемую форму белка NP без молекулы CD40L;
- rAd-NP — рекомбинантный аденовирус, экспрессирующий несекретлируемую форму белка NP без молекулы CD40L. Далее в экспериментах на мышях линий BALB/c и C57BL/6J была продемонстрирована возможность индукции гетеросубтипического иммунного ответа против вирусов гриппа А

(H1N1) и А (H3N2) при помощи иммунизации мышей препаратом rAd-SNP40L, но не rAd-NP40L, rAd-SNP, rAd-NP. Кроме того было показано, что молекула CD40L достоверно усиливает иммунный ответ к антигену NP и направляет его по Th1-пути [34].

Разработка CTL-вакцин также является перспективным подходом к созданию универсальных противогриппозных вакцин. Их сочетание с компонентами, стимулирующими выработку антител, могло бы существенно расширить спектр их противогриппозной активности.

Заключение

Разработка универсальной вакцины против вируса гриппа на сегодняшний день является вполне реальной и весьма перспективной задачей для ученых. Такие универсальные вакцины должны будут сочетать в себе как компоненты, стимулирующие выработку кросс-реактивных антител, так и компоненты, индуцирующие Т-клеточный иммунный ответ. Также важную роль играют адьюванты, функции которых могут быть направлены как на повышение уровня иммунного ответа к ан-

тигену, так и на его регуляцию. Немаловажной задачей является подбор оптимальных средств доставки антигенов в организм, в качестве которых могут выступать рекомбинантные вирусные векторы, рекомбинантные вирусные частицы, бактериальные дисплеи и т.д. Кроме того, при создании универсальных противогриппозных вакцин необходимо уделять внимание способу их введения, так как для предотвращения заболевания гриппом важен не только системный, но и мукозальный иммунный ответ. Таким образом, создание универсальной вакцины против гриппа является непростой задачей, требующей комплексного подхода и учета множества факторов и нюансов. Скорее всего, такие вакцины не смогут обеспечивать выработку стерильного иммунитета, но смогут эффективно ограничивать размножение вируса в организме и таким образом предотвращать заболевания. В будущем такие вакцины могут быть использованы не только для предотвращения сезонных вспышек заболеваний гриппом, но и в качестве средства первого эшелона защиты при возникновении пандемии, связанной с появлением совершенно новых в антигенном отношении вариантов вируса гриппа.

Список литературы/References

1. Есмагамбетов И.Б., Седова Е.С., Щербинин Д.Н., Лысенко А.А., Гарас М.Н., Шмаров М.М., Логунов Д.Ю. Конструирование рекомбинантного аденовируса человека, экспрессирующего гены консервативных антигенов вируса гриппа А ионного канала М2 и нуклеопротеина // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2014. № 2. С. 22–28. [Esmagambetov I.B., Sedova E.S., Shcherbinin D.N., Lysenko A.A., Garas M.N., Shmarov M.M., Logunov D.Yu. Construction of recombinant adenoviral vector expressing genes of the conservative influenza proteins M2 and nucleoprotein. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2014, no. 2, pp. 22–28. doi: 10.3103/S0891416814020050 (In Russ.)]
2. Патент 2358981 Российская Федерация, МПК⁸ C07K14/00, C12N7/01, A61K39/145, C12N15/70. Универсальная вакцина против вируса гриппа птиц / Равин Н.В., Киселев О.И., Скрябин К.Г.; заявитель и патентообладатель Центр «Биоинженерия» РАН (RU), ГУ НИИ гриппа РАМН (RU). № 2358981 С 2; заявл. 07.08.2007; опубл. 20.06.2009, Бюл. № 17 [Patent 2358981 Russian Federation, IPC 8 C07K14/00, C12N7/01, A61K39/145, C12N15/70. Universal'naya vaksina protiv virusa grippa ptits [A universal vaccine against avian influenza] / Ravin N.V., Kiselev O.I., Skryabin K.G.; appl. and patent holder Center «Bioengineering» RAS (RU), State Research Institute of Influenza RAMS (RU). № 2358981 С 2; stat. 07.08.2007; publ. 20.06.2009, Bul. No. 17]
3. Седова Е.С., Шмаров М.М., Тутыхина И.Л., Барыков Ю.А., Верховская Л.В., Логунов Д.Ю., Народицкий Б.С., Гинцбург А.Л. Протективные свойства кандидатных генно-инженерных вакцин против вируса гриппа птиц, созданных на основе рекомбинантных аденовирусных векторов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2010. № 3. С. 44–48. [Sedova E.S., Shmarov M.M., Tutykhina I.L., Barykov Yu.A., Verkhovskaia L.V., Logunov D.Yu., Naroditskiy B.S., Ginzburg A.L. Protective properties of candidate genetically engineered vaccines against avian influenza viruses constructed on the basis of recombinant adenoviral vectors. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2010, vol. 3, pp. 44–48. (In Russ.)]
4. Шмаров М.М., Седова Е.С., Верховская Л.В., Руднева И.А., Богачева Е.А., Барыкова Ю.А., Щербинин Д.Н., Лысенко А.А., Тутыхина И.Л., Логунов Д.Ю., Смирнов Ю.А., Народицкий Б.С., Гинцбург А.Л. Индукция протективного гетеросубтипического иммунного ответа против вируса гриппа при иммунизации рекомбинантными аденовирусными векторами, экспрессирующими гемагглютинин вируса гриппа H5 // Acta Naturae. 2010. Т. 2, № 1. С. 119–126. [Shmarov M.M., Sedova E.S., Verkhovskaya L.V., Rudneva I.A., Bogacheva E.A., Barykova Y.A., Shcherbinin D.N., Lysenko A.A., Tutykhina I.L., Logunov D.Y., Smirnov Y.A., Naroditskiy B.S., Gintsburg A.L. Induction of a protective hetero-subtypic immune response against the influenza virus by using recombinant adenoviral vectors expressing hemagglutinin of the influenza H5 virus. *Acta Naturae*, 2010, vol. 2, no. 1, pp. 119–126. (In Russ.)]

5. Altstein A.D., Gitelman A.K., Smirnov Y.A., Piskareva L.M., Zakharova L.G., Pashvykina G.V., Shmarov M.M., Zhirnov O.P., Varich N.P., Ilyinskii P.O., Shneider A.M. Immunization with influenza A NP-expressing vaccinia virus recombinant protects mice against experimental infection with human and avian influenza viruses. *Arch. Virol.*, 2006, vol. 151, no. 5, pp. 921–931.
6. Acosta-Rodriguez E.V., Napolitani G., Lanzavecchia A., Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat. Immunol.*, 2007, vol. 8, pp. 942–949. doi: 10.1038/ni1496
7. Assarsson E., Bui H.H., Sidney J., Zhang Q., Glenn J., Oseroff C., Mbawuikie I.N., Alexander J., Newman M.J., Grey H., Sette A. Immunomic analysis of the repertoire of T-cell specificities for influenza A virus in humans. *J. Virol.*, 2008, vol. 82, no. 24, pp. 12241–12251. doi: 10.1128/JVI.01563-08
8. Bennink J.R., Yewdell J.W., Smith G.L., Moller C., Moss B. Recombinant vaccinia virus primes and stimulates influenza haemagglutinin specific cytotoxic T cells. *Nature*, 1984, vol. 311, no. 5986, pp. 578–579.
9. Berkhoff E.G., Geelhoed-Mieras M.M., Fouchier R.A., Osterhaus A.D., Rimmelzwaan G.F. Assessment of the extent of variation in influenza A virus cytotoxic T-lymphocyte epitopes by using virus-specific CD8+ T-cell clones. *J. Gen. Virol.*, 2007, vol. 88, pp. 530–535. doi: 10.1099/vir.0.82120-0
10. Braciale T.J. Immunologic recognition of influenza virus-infected cells. I. Generation of a virus-strain specific and a cross-reactive subpopulation of cytotoxic T cells in the response to type A influenza viruses of different subtypes. *Cell. Immunol.*, 1977, vol. 33, no. 2, pp. 423–436.
11. Braciale T.J. Immunologic recognition of influenza virus-infected cells. II. Expression of influenza A matrix protein on the infected cell surface and its role in recognition by cross-reactive cytotoxic T cells. *J. Exp. Med.*, 1977, vol. 146, pp. 673–689.
12. Carragher D.M., Kaminski D.A., Moquin A., Hartson L., Randall T.D. A novel role for non-neutralizing antibodies against nucleoprotein in facilitating resistance to influenza virus. *J. Immunol.*, 2008, vol. 181, no. 6, pp. 4168–4176.
13. Conenello G.M., Tisoncik J.R., Rosenzweig E., Varga Z.T., Palese P., Katze M.G. A single N66S mutation in the PB1-F2 protein of influenza A virus increases virulence by inhibiting the early interferon response in vivo. *J. Virol.*, 2011, vol. 85, no. 2, pp. 652–662. doi: 10.1128/JVI.01987-10
14. Corti D., Suguitan A.L.Jr., Pinna D., Silacci C., Fernandez-Rodriguez B.M., Vanzetta F., Santos C., Luke C.J., Torres-Velez F.J., Temperton N.J., Weiss R.A., Sallusto F., Subbarao K., Lanzavecchia A. Heterosubtypic neutralizing antibodies are produced by individuals immunized with a seasonal influenza vaccine. *J. Clin. Invest.*, 2010, vol. 120, no. 5, pp. 1663–1673. doi: 10.1172/JCI1902
15. Corti D., Voss J., Gamblin S.J., Codoni G., Macagno A., Jarrossay D., Vachieri S.G., Pinna D., Minola A., Vanzetta F., Silacci C., Fernandez-Rodriguez B.M., Agatic G., Bianchi S., Giacchetto-Sasselli I., Calder L., Sallusto F., Collins P., Haire L.F., Temperton N., Langedijk J.P., Skehel J.J., Lanzavecchia A. A neutralizing antibody selected from plasma cells that binds to group 1 and group 2 influenza A hemagglutinins. *Science*, 2011, vol. 333, no. 6044, pp. 850–856. doi: 10.1126/science.1205669
16. Ekiert D.C., Friesen R.H., Bhabha G., Kwaks T., Jongeneelen M., Yu W., Ophorst C., Cox F., Korse H.J., Brandenburg B., Vogels R., Brakenhoff J.P., Kompier R., Koldijk M.H., Cornelissen L.A., Poon L.L., Peiris M., Koudstaal W., Wilson I.A., Goudsmit J. A highly conserved neutralizing epitope on group 2 influenza A viruses. *Science*, 2011, vol. 333, no. 6044, pp. 843–850. doi: 10.1126/science.1204839
17. Ekiert D.C., Bhabha G., Elsliger M.A., Friesen R.H., Jongeneelen M., Throsby M., Goudsmit J., Wilson I.A. Antibody recognition of a highly conserved influenza virus epitope. *Science*, 2009, vol. 324, no. 5924, pp. 246–251. doi: 10.1126/science.1171491
18. Ekiert D.C., Kashyap A.K., Steel J., Rubrum A., Bhabha G., Khayat R., Lee J.H., Dillon M.A., O’Neil R.E., Faynboym A.M., Horowitz M., Horowitz L., Ward A.B., Palese P., Webby R., Lerner R.A., Bhatt R.R., Wilson I.A. Cross-neutralization of influenza A viruses mediated by a single antibody loop. *Nature*, 2012, vol. 489, no. 7417, pp. 526–532. doi: 10.1038/nature11414
19. El Bakkouri K., Descamps F., De Filette M., Smet A., Festjens E., Birkett A., Van Rooijen N., Verbeek S., Fiers W., Saelens X. Universal vaccine based on ectodomain of matrix protein 2 of influenza A: Fc receptors and alveolar macrophages mediate protection. *J. Immunol.*, 2011, vol. 186, no. 2, pp. 1022–1031. doi: 10.4049/jimmunol.0902147
20. Elaish M., Kang K.I., Xia M., Ali A., Shany S.A., Wang L., Jiang X., Lee C.W. Immunogenicity and protective efficacy of the norovirus P particle-M2e chimeric vaccine in chickens. *Vaccine*, 2015, vol. 33, no. 38, pp. 4901–4909. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.07.049
21. Epstein S.L., Kong W.P., Mispion J.A., Lo C.Y., Tumpey T.M., Xu L., Nabel G.J. Protection against multiple influenza A subtypes by vaccination with highly conserved nucleoprotein. *Vaccine*, 2005, vol. 23, no. 46–47, pp. 5404–5410. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.04.047
22. Fan J., Liang X., Horton M.S., Perry H.C., Citron M.P., Heidecker G.J., Fu T.M., Joyce J., Przysiecki C.T., Keller P.M., Garsky V.M., Ionescu R., Rippeon Y., Shi L., Chastain M.A., Condra J.H., Davies M.E., Liao J., Emini E.A., Shiver J.W. Preclinical study of influenza virus A M2 peptide conjugate vaccines in mice, ferrets, and rhesus monkeys. *Vaccine*, 2004, vol. 22, no. 23–24, pp. 2993–3003. doi: 10.1016/j.vaccine.2004.02.021
23. Fernandez Gonzalez S., Jayasekera J.P., Carroll M.C. Complement and natural antibody are required in the long-term memory response to influenza virus. *Vaccine*, 2008, vol. 26, no. 8, pp. 186–193.
24. Friesen R.H., Koudstaal W., Koldijk M.H., Weverling G.J., Brakenhoff J.P., Lenting P.J., Stittelaar K.J., Osterhaus A.D., Kompier R., Goudsmit J. New class of monoclonal antibodies against severe influenza: prophylactic and therapeutic efficacy in ferrets. *PLoS ONE*, 2010, vol. 5, no. 2, e9106. doi: 10.1371/journal.pone.0009106
25. Garcia-Sastre A. Identification and characterization of viral antagonists of type I interferon in negative-strand RNA viruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2004, vol. 283, pp. 249–280.
26. GeurtsvanKessel C.H., Lambrecht B.N. Division of labor between dendritic cell subsets of the lung. *Mucosal Immunol.*, 2008, vol. 1, pp. 442–450. doi: 10.1038/mi.2008.39
27. Gorman O.T., Bean W.J., Webster R.G. Evolutionary processes in influenza viruses: divergence, rapid evolution, and stasis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1992, vol. 176, pp. 75–97.

28. Graef K.M., Vreede F.T., Lau Y.F., McCall A.W., Carr S.M., Subbarao K., Fodor E. The PB2 subunit of the influenza virus RNA polymerase affects virulence by interacting with the mitochondrial antiviral signaling protein and inhibiting expression of beta interferon. *J. Virol.*, 2010, vol. 84, no. 17, pp. 8433–8445. doi: 10.1128/JVI.00879-10
29. Grant E., Wu C., Chan K.F., Eckle S., Bharadwaj M., Zou Q.M. Nucleoprotein of influenza A virus is a major target of immune dominant CD8⁺ T-cell responses. *Immunol. Cell Biol.*, 2013, vol. 91, pp. 184–194. doi: 10.1038/icc.2012.78
30. Guan Z., Liu D., Mi S., Zhang J., Ye Q., Wang M., Gao G.F., Yan J. Interaction of Hsp40 with influenza virus M2 protein: implications for PKR signaling pathway. *Protein Cell*, 2010, vol. 1, no. 10, pp. 944–955. doi: 10.1007/s13238-010-0115-x.
31. Guo Z., Chen L.M., Zeng H., Gomez J.A., Plowden J., Fujita T., Katz J.M., Donis R.O., Sambhara S. NS1 protein of influenza A virus inhibits the function of intracytoplasmic pathogen sensor, RIG-I. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2007, vol. 36, no. 3, pp. 263–269. doi: 10.1165/rcmb.2006-0283RC
32. Haanen J.B., Wolkers M.C., Kruisbeek A.M., Schumacher T.N. Selective expansion of cross-reactive CD8⁺ memory T cells by viral variants. *J. Exp. Med.*, 1999, vol. 190, no. 9, pp. 1319–1328.
33. Haller O., Kochs G. Interferon-induced mx proteins: dynamin-like GTPases with antiviral activity. *Traffic*, 2002, vol. 3, no. 10, pp. 710–717. doi: 10.1034/j.1600-0854.2002.31003.x
34. Hashem A.M., Gravel C., Chen Z., Yi Y., Tocchi M., Jaentschke B., Fan X., Li C., Rosu-Myles M., Pereboev A., He R., Wang J., Li X. CD40 ligand preferentially modulates immune response and enhances protection against influenza virus. *J. Immunol.*, 2014, vol. 193, no. 2, pp. 722–734. doi: 10.4049/jimmunol.1300093
35. Heil F., Hemmi H., Hochrein H., Ampenberger F., Kirschning C., Akira S., Lipford G., Wagner H., Bauer S. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*, 2004, vol. 303, no. 5663, pp. 1526–1529. doi: 10.1126/science.1093620
36. Hoelscher M.A., Garg S., Bangari D.S., Belsler J.A., Lu X., Stephenson I., Bright R.A., Katz J.M., Mittal S.K., Sambhara S. Development of adenoviral-vector-based pandemic influenza vaccine against antigenically distinct human H5N1 strains in mice. *Lancet*, 2006, vol. 367, no. 9509, pp. 475–481. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68076-8
37. Holsinger L., Nichani D., Pinto L., Lamb R. Influenza A virus M2 ion channel protein: a structure-function analysis. *J. Virol.*, 1994, vol. 68, no. 3, pp. 1551–1563.
38. Holsinger L., Lamb R. Influenza virus M2 integral membrane protein is a homotetramer stabilized by formation of disulfide bonds. *Virology*, 1991, vol. 183, no. 1, pp. 32–43.
39. Holzinger D., Jorns C., Stertz S., Boisson-Dupuis S., Thimme R., Weidmann M., Casanova J.L., Haller O., Kochs G. Induction of MxA gene expression by influenza A virus requires type I or type III interferon signaling. *J. Virol.*, 2007, vol. 81, no. 14, pp. 7776–7785. doi: 10.1128/JVI.00546-06
40. Hwang S.D., Shin J.S., Ku K.B., Kim H.S., Cho S.W., Seo S.H. Protection of pregnant mice, fetuses and neonates from lethality of H5N1 influenza viruses by maternal vaccination. *Vaccine*, 2010, vol. 28, no. 17, pp. 2957–2964. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.02.016
41. Ichinohe T., Pang I.K., Iwasaki A. Influenza virus activates inflammasomes via its intracellular M2 ion channel. *Nat. Immunol.*, 2010, vol. 11, no. 5, pp. 404–410. doi: 10.1038/ni.1861
42. Imai M., Watanabe T., Hatta M., Das S.C., Ozawa M., Shinya K., Zhong G., Hanson A., Katsura H., Watanabe S., Li C., Kawakami E., Yamada S., Kiso M., Suzuki Y., Maher E.A., Neumann G., Kawaoka Y. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature*, 2012, vol. 486, no. 7403, pp. 420–428. doi: 10.1038/nature10831
43. Impagliazzo A., Milder F., Kuipers H., Wagner M.V., Zhu X., Hoffman R.M., Van Meersbergen R., Huizingh J., Wanningen P., Verspuij J., De Man M., Ding Z., Apetri A., Kükler B., Sneekes-Vriese E., Tomkiewicz D., Laursen N.S., Lee P.S., Zakrzewska A., Dekking L., Tolboom J., Tettero L., Van Meerten S., Yu W., Koudstaal W., Goudsmit J., Ward A.B., Meijberg W., Wilson I.A., Radošević K. A stable trimeric influenza hemagglutinin stem as a broadly protective immunogen. *Science*, 2015, vol. 349, no. 6254, pp. 1301–1306. doi: 10.1126/science.aac7263
44. Ito T., Gorman O., Kawaoka Y., Bean W., Webster R. Evolutionary analysis of the influenza A virus M gene with comparison of the M1 and M2 proteins. *J. Virol.*, 1991, vol. 65, no. 10, pp. 5491–5498.
45. Jameson J., Cruz J., Terajima M., Ennis F.A. Human CD8⁺ and CD4⁺ T lymphocyte memory to influenza A viruses of swine and avian species. *J. Immunol.*, 1999, vol. 162, no. 12, pp. 7578–7583.
46. Jayasekera J.P., Moseman E.A., Carroll M.C. Natural antibody and complement mediate neutralization of influenza virus in the absence of prior immunity. *J. Virol.*, 2007, vol. 81, no. 7, pp. 3487–3494. doi: 10.1128/JVI.02128-06
47. Jegaskanda S., Job E.R., Kramski M., Laurie K., Isitman G., De Rose R. Cross-reactive influenza-specific antibody-dependent cellular cytotoxicity antibodies in the absence of neutralizing antibodies. *J. Immunol.*, 2013, vol. 190, no. 4, pp. 1837–1848. doi: 10.4049/jimmunol.1201574
48. Jegerlehner A., Schmitz N., Storni T., Bachmann M.F. Influenza A vaccine based on the extracellular domain of M2: weak protection mediated via antibody-dependent NK cell activity. *J. Immunol.*, 2004, vol. 172, no. 9, pp. 5598–5605.
49. Kammer A.R., Amacker M., Rasi S., Westerfeld N., Gremion C., Neuhaus D., Zurbriggen R. A new and versatile virosomal antigen delivery system to induce cellular and humoral immune responses. *Vaccine*, 2007, vol. 25, no. 41, pp. 7065–7074. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.07.052
50. Kim H.M., Lee Y.W., Lee K.J., Kim H.S., Cho S.W., Van Rooijen N., Guan Y., Seo S.H. Alveolar macrophages are indispensable for controlling influenza viruses in lungs of pigs. *J. Virol.*, 2008, vol. 82, no. 9, pp. 4265–4274. doi: 10.1128/JVI.02602-07
51. Kuiken T., Riteau B., Fouchier R.A., Rimmelzwaan G.F. Pathogenesis of influenza virus infections: the good, the bad and the ugly. *Curr. Opin. Virol.*, 2012, vol. 2, no. 3, pp. 276–286. doi: 10.1016/j.coviro.2012.02.013
52. Lamere M.W., Moquin A., Lee F.E., Misra R.S., Blair P.J., Haynes L., Randall T.D., Lund F.E., Kaminski D.A. Regulation of antinucleoprotein IgG by systemic vaccination and its effect on influenza virus clearance. *J. Virol.*, 2011, vol. 85, no. 10, pp. 5027–5035. doi: 10.1128/JVI.00150-11

53. Lee L.Y., Ha D.L., Simmons C., De Jong M.D., Chau N.V., Schumacher R., Peng Y.C., McMichael A.J., Farrar J.J., Smith G.L., Townsend A.R., Askonas B.A., Rowland-Jones S., Dong T. Memory T cells established by seasonal human influenza A infection cross-react with avian influenza A (H5N1) in healthy individuals. *J. Clin. Invest.*, 2008, vol. 118, no. 10, pp. 3478–3490. doi: 10.1172/JCI32460
54. Lei H., Peng X., Jiao H., Zhao D., Ouyang J. Broadly protective immunity against divergent influenza viruses by oral co-administration of *Lactococcus lactis* expressing nucleoprotein adjuvanted with cholera toxin B subunit in mice. *Microb Cell Fact.*, 2015, vol. 14, e111. doi: 10.1186/s12934-015-0287-4
55. Leung H.C., Chan C.C., Poon V.K., Zhao H.J., Cheung C.Y., Ng F., Huang J.D., Zheng B.J. An H5N1-based matrix protein 2 ectodomain tetrameric peptide vaccine provides cross-protection against lethal infection with H7N9 influenza virus. *Emerg. Microbes Infect.*, 2015, vol. 4, no. 4, e22. doi: 10.1038/emi.2015.22
56. Li R., Chowdhury M.Y., Kim J.H., Kim T.H., Pathinayake P., Koo W.S., Park M.E., Yoon J.E., Roh J.B., Hong S.P., Sung M.H., Lee J.S., Kim C.J. Mucosally administered *Lactobacillus* surface-displayed influenza antigens (sM2 and HA2) with cholera toxin subunit A1 (CTA1) Induce broadly protective immune responses against divergent influenza subtypes. *Vet. Microbiol.*, 2015, vol. 179, no. 3–4, pp. 250–263. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.07.020
57. Lin K.L., Suzuki Y., Nakano H., Ramsburg E., Gunn M.D. CCR2+ monocyte-derived dendritic cells and exudate macrophages produce influenza-induced pulmonary immune pathology and mortality. *J. Immunol.*, 2008, vol. 180, no. 4, pp. 2562–2572.
58. Liu W., Zou P., Ding J., Lu Y., Chen Y.H. Sequence comparison between the extracellular domain of M2 protein human and avian influenza A virus provides new information for bivalent influenza vaccine design. *Microbes Infect.*, 2005, vol. 7, no. 2, pp. 171–177. doi: 10.1016/j.micinf.2004.10.006
59. Lund J.M., Alexopoulou L., Sato A., Karow M., Adams N.C., Gale N.W., Iwasaki A., Flavell R.A. Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, vol. 101, no. 15, pp. 5598–5603. doi: 10.1073/pnas.0400937101
60. Mardanov E.S., Kotlyarov R.Y., Kuprianov V.V., Stepanova L.A., Tsybalova L.M., Lomonosoff G.P., Ravin N.V. Rapid high-yield expression of a candidate influenza vaccine based on the ectodomain of M2 protein linked to flagellin in plants using viral vectors. *BMC Biotechnol.*, 2015, vol. 15, e42. doi: 10.1186/s12896-015-0164-6
61. Mazanec M.B., Coudret C.L., Fletcher D.R. Intracellular neutralization of influenza virus by immunoglobulin A anti-hemagglutinin monoclonal antibodies. *J. Virol.*, 1995, vol. 69, no. 2, pp. 1339–1343.
62. Mbawuike I.N., Six H.R., Cate T.R., Couch R.B. Vaccination with inactivated influenza A virus during pregnancy protects neonatal mice against lethal challenge by influenza A viruses representing three subtypes. *J. Virol.*, 1990, vol. 64, pp. 1370–1374.
63. McMichael A.J., Gotch F.M., Noble G.R., Beare P.A. Cytotoxic T-cell immunity to influenza. *N. Engl. J. Med.*, 1983, vol. 309, no. 1, pp. 13–17. doi: 10.1056/NEJM198307073090103
64. Meurs E., Chong K., Galabru J., Thomas N.S., Kerr I.M., Williams B.R., Hovanessian A.G. Molecular cloning and characterization of the human double-stranded RNA-activated protein kinase induced by interferon. *Cell*, 1990, vol. 62, no. 2, pp. 379–390. doi: 10.1016/0092-8674(90)90374-N
65. Murphy B.R., Nelson D.L., Wright P.F., Tierney E.L., Phelan M.A., Chanock R.M. Secretory and systemic immunological response in children infected with live attenuated influenza A virus vaccines. *Infect. Immun.*, 1982, vol. 36, no. 3, pp. 1102–1108.
66. Neirynek S., Deroo T., Saelens X., Vanlandschoot P., Jou W.M., Fiers W. A universal influenza A vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. *Nat. Med.*, 1999, vol. 5, no. 10, pp. 1157–1163. doi: 10.1038/13484
67. Ohba K., Yoshida S., Zahidunnabi Dewan M., Shimura H., Sakamaki N., Takeshita F., Yamamoto N., Okuda K. Mutant influenza A virus nucleoprotein is preferentially localized in the cytoplasm and its immunization in mice shows higher immunogenicity and cross-reactivity. *Vaccine*, 2007, vol. 25, no. 21, pp. 4291–4300. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.02.074
68. Okuda K., Ihata A., Watabe S., Okada E., Yamakawa T., Hamajima K., Yang J., Ishii N., Nakazawa M., Okuda K., Ohnari K., Nakajima K., Xin K.Q. Protective immunity against influenza A virus induced by immunization with DNA plasmid containing influenza M gene. *Vaccine*, 2001, vol. 19, no. 27, pp. 3681–3691. doi: 10.1016/S0264-410X(01)00078-0
69. Onodera T., Takahashi Y., Yokoi Y., Ato M., Kodama Y., Hachimura S., Kurosaki T., Kobayashi K. Memory B cells in the lung participate in protective humoral immune responses to pulmonary influenza virus reinfection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, no. 7, pp. 2485–2490. doi: 10.1073/pnas.1115369109
70. Ozawa T., Jin A., Tajiri K., Takemoto M., Okuda T., Shiraki K., Kishi H., Muraguchi A. Characterization of a fully human monoclonal antibody against extracellular domain of matrix protein 2 of influenza A virus. *Antiviral Res.*, 2011, vol. 91, no. 3, pp. 283–287. doi: 10.1016/j.antiviral.2011.06.012
71. Paget C., Ivanov S., Fontaine J., Blanc F., Pichavant M., Renneson J., Bialecki E., Pothlichet J., Vendeville C., Barba-Speath G., Huerre M.R., Faveeuw C., Si-Tahar M., Trottein F. Potential role of invariant NKT cells in the control of pulmonary inflammation and CD8+ T cell response during acute influenza A virus H3N2 pneumonia. *J. Immunol.*, 2011, vol. 186, no. 10, pp. 5590–5602. doi: 10.4049/jimmunol.1002348
72. Rothbarth P.H., Groen J., Bohnen A.M., De Groot R., Osterhaus A.D. Influenza virus serology – a comparative study. *J. Virol. Methods*, 1999, vol. 78, no. 1–2, pp. 163–169.
73. Sambhara S., Kurichh A., Miranda R., Tumpey T., Rowe T., Renshaw M., Arpino R., Tamane A., Kandil A., James O., Underdown B., Klein M., Katz J., Burt D. Heterosubtypic immunity against human influenza A viruses, including recently emerged avian H5 and H9 viruses, induced by FLU-ISCAM vaccine in mice requires both cytotoxic T-lymphocyte and macrophage function. *Cell. Immunol.*, 2001, vol. 211, no. 2, pp. 143–153. doi: 10.1006/cimm.2001.1835
74. Sandbulte M.R., Jimenez G.S., Boon A.C., Smith L.R., Treanor J.J., Webby R.J. Cross-reactive neuraminidase antibodies afford partial protection against H5N1 in mice and are present in unexposed humans. *PLoS Med.*, 2007, vol. 4, no. 2, e59. doi: 10.1371/journal.pmed.0040059
75. Scheible K., Zhang G., Baer J., Azadniv M., Lambert K., Pryhuber G., Treanor J.J., Topham D.J. CD8+ T cell immunity to 2009 pandemic and seasonal H1N1 influenza viruses. *Vaccine*, 2011, vol. 29, no. 11, pp. 2159–2168. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.12.073

76. Scholtissek C., Ludwig S., Fitch W.M. Analysis of influenza A virus nucleoproteins for the assessment of molecular genetic mechanisms leading to new phylogenetic virus lineages. *Arch. Virol.*, 1993, vol. 13, no. 3–4, pp. 237–250.
77. Schotsaert M., De Filette M., Fiers W., Saelens X. Universal M2 ectodomainbased influenza A vaccines: preclinical and clinical developments. *Expert Rev. Vaccines*, 2009, vol. 8, no. 4, pp. 499–508. doi: 10.1586/erv.09.6
78. Schwartzman L.M., Cathcart A.L., Pujanauski L.M., Li Q., Kash J.C., Taubenberger J.K. An intranasal virus-like particle vaccine broadly protects mice from multiple subtypes of influenza A virus. *mBio*, 2015, vol. 6, no. 4, e01044–15. doi: 10.1128/mBio.01044-15
79. Sharma K., Tripathi S., Ranjan P., Kumar P., Garten R., Deyde V., Katz J.M., Cox N.J., Lal R.B., Sambhara S., Lal S.K. Influenza A virus nucleoprotein exploits Hsp40 to inhibit PKR activation. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 6, e20215. doi: 10.1371/journal.pone.0020215
80. Shedlock D.J., Shen H. Requirement for CD4 T cell help in generating functional CD8 T cell memory. *Science*, 2003, vol. 300, no. 5617, pp. 337–339. doi: 10.1126/science.1082305
81. Shu L.L., Bean W.J., Webster R.G. Analysis of the evolution and variation of the human influenza A virus nucleoprotein gene from 1933 to 1990. *J. Virol.*, 1993, vol. 67, no. 5, pp. 2723–2729.
82. Slepshkin V.A., Katz J.M., Black R.A., Gamble W.C., Rota P.A., Cox N.J. Protection of mice against influenza A virus challenge by vaccination with baculovirus-expressed M2 protein. *Vaccine*, 1995, vol. 13, no. 15, pp. 1399–1402. doi: 10.1016/0264-410X(95)92777-Y
83. Smith D.J., Lapedes A.S., De Jong J.C., Bestebroer T.M., Rimmelzwaan G.F., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. *Science*, 2004, vol. 305, no. 5682, pp. 371–376. doi: 10.1126/science.1097211
84. Soghoian D.Z., Streeck H. Cytolytic CD4(+) T cells in viral immunity. *Expert Rev. Vaccines*, 2010, vol. 9, no. 12, pp. 1453–1463. doi: 10.1586/erv.10.132
85. Sui Z., Chen Q., Wu R., Zhang H., Zheng M., Wang H., Chen Z. Cross-protection against influenza virus infection by intranasal administration of M2-based vaccine with chitosan as an adjuvant. *Arch. Virol.*, 2010, vol. 155, no. 4, pp. 535–544.
86. Takeda M., Pekosz A., Shuck K., Pinto L., Lamb R. Influenza A virus M2 ion channel activity is essential for efficient replication in tissue culture. *J. Virol.*, 2002, vol. 76, no. 3, pp. 1391–1399. doi: 10.1128/JVI.76.3.1391-1399.2002
87. Tan S.L., Katze M.G. Biochemical and genetic evidence for complex formation between the influenza A virus NS1 protein and the interferon-induced PKR protein kinase. *J. Interferon Cytokine Res.*, 1998, vol. 18, no. 9, pp. 757–766.
88. Thompson W.W., Shay D.K., Weintraub E., Brammer L., Bridges C.B., Cox N.J., Fukuda K. Influenza-associated hospitalizations in the United States. *JAMA*, 2004, vol. 292, no. 11, pp. 1333–1340. doi: 10.1001/jama.292.11.1333
89. Throsby M., Van den Brink E., Jongeneelen M., Poon L.L., Alard P., Cornelissen L., Bakker A., Cox F., Van Deventer E., Guan Y., Cinatl J., Ter Meulen J., Lasters I., Carsetti R., Peiris M., De Kruijff J., Goudsmit J. Heterosubtypic neutralizing monoclonal antibodies cross-protective against H5N1 and H1N1 recovered from human IgM+ memory B cells. *PLoS One*, 2008, vol. 3, no. 12, e3942. doi: 10.1371/journal.pone.0003942
90. Tompkins S.M., Zhao Z.S., Lo C.Y., Mispion J.A., Liu T., Ye Z., Hogan R.J., Wu Z., Benton K.A., Tumpey T.M., Epstein S.L. Matrix protein 2 vaccination and protection against influenza viruses, including subtype H5N1. *Emerg. Infect. Dis.*, 2007, vol. 13, no. 3, pp. 426–435. doi: 10.3201/eid1303.061125
91. Tong S., Li Y., Rivailier P., Conrardy C., Castillo D.A., Chen L.M., Recuenco S., Ellison J.A., Davis C.T., York I.A., Turmelle A.S., Moran D., Rogers S., Shi M., Tao Y., Weil M.R., Tang K., Rowe L.A., Sammons S., Xu X., Frace M., Lindblade K.A., Cox N.J., Anderson L.J., Rupprecht C.E., Donis R.O. A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, no. 11, pp. 4269–4274. doi: 10.1073/pnas.1116200109
92. Topham D.J., Tripp R.A., Doherty P.C. CD8 T cells clear influenza virus by perforin or Fas-dependent processes. *J. Immunol.*, 1997, vol. 159, no. 11, pp. 5197–5200.
93. Treanor J.J., Tierney E.L., Zebedee S.L., Lamb R.A., Murphy B.R. Passively transferred monoclonal antibody to the M2 protein inhibits influenza A virus replication in mice. *J. Virol.*, 1990, vol. 64, no. 3, pp. 1375–1377.
94. Ungchusak K., Auewarakul P., Dowell S.F., Kitphati R., Auwanit W., Puthavathana P., Uiprasertkul M., Boonnak K., Pittayawonganon C., Cox N.J., Zaki S.R., Thawatsupha P., Chittaganpitch M., Khontong R., Simmerman J.M., Chunsuttiwat S. Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N. Engl. J. Med.*, 2005, vol. 352, pp. 333–340. doi: 10.1056/NEJMoa044021
95. Van Reeth K., Braeckmans D., Cox E., Van Borm S., Van den Berg T., Goddeeris B., De Vleeschauwer A. Prior infection with an H1N1 swine influenza virus partially protects pigs against a low pathogenic H5N1 avian influenza virus. *Vaccine*, 2009, vol. 27, no. 45, pp. 6330–6339.
96. Van Reeth K., Gregory V., Hay A., Pensaert M. Protection against a European H1N2 swine influenza virus in pigs previously infected with H1N1 and/or H3N2 subtypes. *Vaccine*, 2003, vol. 21, no. 13–14, pp. 1375–1381. doi: 10.1016/S0264-410X(02)00688-6
97. Whittle J.R., Zhang R., Khurana S., King L.R., Manischewitz J., Golding H., Dormitzer P.R., Haynes B.F., Walter E.B., Moody M.A., Kepler T.B., Liao H.X., Harrison S.C. Broadly neutralizing human antibody that recognizes the receptor-binding pocket of influenza virus hemagglutinin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, vol. 108, no. 34, pp. 14216–14221. doi: 10.1073/pnas.1111497108
98. Wu C., Zanker D., Valkenburg S., Tan B., Kedzierska K., Zou Q.M. Systematic identification of immune dominant CD8+ T-cell responses to influenza A virus in HLA-A2 individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, vol. 108, no. 22, pp. 9178–9183. doi: 10.1073/pnas.1105624108
99. Wu Y., Wu Y., Tefsen B., Shi Y., Gao G.F. Bat-derived influenza-like viruses H17N10 and H18N11. *Trends Microbiol.*, 2014, vol. 22, no. 4, pp. 183–91. doi: 10.1016/j.tim.2014.01.010
100. Yassine H.M., Boyington J.C., McTamney P.M., Wei C.J., Kanekiyo M., Kong W.P., Gallagher J.R., Wang L., Zhang Y., Joyce M.G., Lingwood D., Moin S.M., Andersen H., Okuno Y., Rao S.S., Harris A.K., Kwong P.D., Mascola J.R., Nabel G.J., Graham B.S. Hemagglutinin-stem nanoparticles generate heterosubtypic influenza protection. *Nat. Med.*, 2015, vol. 21, no. 9, pp. 1065–1070. doi: 10.1038/nm.3927

101. Yewdell J.W., Bennink J.R. Immunodominance in major histocompatibility complex class I-restricted T lymphocyte responses. *Annu. Rev. Immunol.*, 1999, vol. 17, pp. 51–88.
102. Yoshida R., Igarashi M., Ozaki H., Kishida N., Tomabechi D., Kida H., Ito K., Takada A. Cross-protective potential of a novel monoclonal antibody directed against antigenic site B of the hemagglutinin of influenza A viruses. *PLoS Pathog.*, 2009, vol. 5, no. 3, e1000350. doi: 10.1371/journal.ppat.1000350
103. Zaman M., Ashraf S., Dreyer N.A., Toovey S. Human infection with avian influenza virus, Pakistan, 2007. *Emerg. Infect. Dis.*, 2011, vol. 17, no. 6, pp. 1056–1059. doi: 10.3201/eid1706.091652
104. Zhou D., Wu T.L., Lasaro M.O., Latimer B.P., Parzych E.M., Bian A., Li Y., Li H., Erikson J., Xiang Z., Ertl H.C. A universal influenza A vaccine based on adenovirus expressing matrix-2 ectodomain and nucleoprotein protects mice from lethal challenge. *Mol. Ther.*, 2010, vol. 18, no. 12, pp. 2182–2189. doi: 10.1038/mt.2010.202
105. Zuccotti G., Pogliani L., Pariani E., Amendola A., Zanetti A. Transplacental antibody transfer following maternal immunization with a pandemic 2009 influenza A(H1N1) MF59-adjuvanted vaccine. *JAMA*, 2010, vol. 304, no. 21, pp. 2360–2361. doi: 10.1001/jama.2010.1729

Авторы:

Есмагамбетов И.Б., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии ФГБУ ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия;
Алексеева С.В., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии ФГБУ ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия;
Саядян Х.С., д.м.н., профессор, профессор кафедры фармацевтической технологии и фармакологии ПМГМУ им. Сеченова, Москва, Россия;
Шмаров М.М., д.б.н., зав. лабораторией молекулярной биотехнологии ФГБУ ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия.

Authors:

Esmagambetov I.B., PhD, MD (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular Biotechnology, Gamaleya Research Center of Microbiology and Epidemiology, Moscow, Russian Federation;
Alekseeva S.V., PhD, MD (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular Biotechnology, Gamaleya Research Center of Microbiology and Epidemiology, Moscow, Russian Federation;
Sayadyan K.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Department of Pharmaceutical Technology and Pharmacology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;
Shmarov M.M., PhD, MD (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Biotechnology, Gamaleya Research Center of Microbiology and Epidemiology, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 09.03.2016
Принята к печати 04.04.2016

Received 09.03.2016
Accepted 04.04.2016

ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ *Mycobacterium tuberculosis* ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ

П.К. Яблонский, Б.И. Вишневский, Н.С. Соловьева, О.А. Маничева,
М.З. Догондзе, Н.Н. Мельникова, В.Ю. Журавлев

ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Представлены данные многолетнего мониторинга лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis*, полученные в СПб НИИ фтизиопульмонологии на протяжении четырех периодов наблюдений (I: 1984–1988 гг. (стартовый период); II: 1996–2000 гг. (период обострения эпидемической обстановки и резкого роста лекарственной устойчивости); III: 2007–2011 гг. (период относительной стабилизации); IV: 2012–2014 гг. (заключительный)). Всего исследовано 2267 штаммов от больных туберкулезом легких, ранее леченных и с хроническим процессом, и 691 — от больных внелегочным туберкулезом. Исследования лекарственной устойчивости произведены непрямым методом абсолютных концентраций на плотной питательной среде Левенштейна–Йенсена и в автоматизированной системе VASTEC™ MGIT™ 960 (Becton Dickinson, США). Показан неуклонный рост суммарной лекарственной устойчивости при легочном туберкулезе, достигший в последние три года 90,1%. Одновременно с этим происходило резкое утяжеление структуры лекарственной устойчивости за счет роста множественной (МЛУ) и широкой (ШЛУ) лекарственной устойчивости, которые к 2014 г. составили 81,9 против 28,5% в 1984–1988 гг. При внелегочном туберкулезе рост лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* продолжался опережающими темпами: суммарная лекарственная устойчивость возросла с 39,4% (1984–1988 гг.) до 80,2% (2012–2014 гг.), достигая показателей, сравнимых с таковыми при туберкулезе легких. При этом наблюдалось еще более быстрое утяжеление ее структуры за счет прироста МЛУ/ШЛУ штаммов: с 10,5% в первый период до 69,5% в четвертый. Это объясняется большой частотой вегетирования в очагах внелегочного туберкулеза высоко адаптивных мультирезистентных штаммов генотипа Beijing: при туберкулезном спондилите — наиболее тяжелой и частой форме костно-суставного туберкулеза из 78 изолятов МБТ с профилем устойчивости МЛУ/ШЛУ 70 (89,7%) принадлежали к этому генотипу. Темпы прироста ШЛУ при легочном туберкулезе превышают таковые при внелегочном туберкулезе: с 26,8% (III период) до 39,5% (IV период) и, соответственно, — с 8,0 до 8,6%. Ситуацию с лекарственной устойчивостью МБТ при всех локализациях заболевания можно охарактеризовать как чрезвычайно напряженную; она может (если своевременно не принять соответствующих мер) привести к непредсказуемым последствиям.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, лекарственная устойчивость, тенденции развития, генотип Beijing, туберкулез легких, внелегочный туберкулез.

Адрес для переписки:

Вишневский Борис Израилевич
194064, Россия, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 32,
НИИ фтизиопульмонологии, отдел лабораторной диагностики.
Тел.: 8 (812) 297-86-31 (служебн.).
Факс: 8 (812) 237-16-26.
E-mail: bivish@rambler.ru

Contacts:

Boris I. Vishnevskiy
194064, Russian Federation, St. Petersburg,
Politekhnikeskaya str., 32, Research Institute of Phthisiopulmonology,
Department of Laboratory Diagnostics.
Phone: +7 (812) 297-86-31 (office).
Fax: +7 (812) 237-16-26.
E-mail: bivish@rambler.ru

Библиографическое описание:

Яблонский П.К., Вишневский Б.И., Соловьева Н.С., Маничева О.А.,
Догондзе М.З., Мельникова Н.Н., Журавлев В.Ю. Лекарственная
устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* при различных локализациях
заболевания // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 133–140.
doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-133-140

Citation:

Yablonskii P.K., Vishnevskiy B.I., Solovyeva N.S., Manicheva O.A.,
Dogonadze M.Z., Melnikova N.N., Zhuravlev V.Yu. Drug resistance
of *Mycobacterium tuberculosis* in different localizations of the disease //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016,
vol. 6, no. 2, pp. 133–140. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-133-140

DRUG RESISTANCE OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN DIFFERENT LOCALIZATIONS OF THE DISEASE

Yablonskii P.K., Vishnevskiy B.I., Solovyeva N.S., Manicheva O.A., Dogonadze M.Z., Melnikova N.N., Zhuravlev V.Yu.

Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The long-term *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance monitoring data were obtained in St. Petersburg Research Institute Phthisiopulmonology for four periods of observation (I — 1984–1988 years, start period; II — 1996–2000 years, the period of acute epidemic situation and the sharp rise in drug resistance; III — 2007–2011 years, the period of relative stabilization; IV — 2012–2014 years, the final period). Totally 2267 strains from patients with pulmonary tuberculosis, treated previously and with chronic process, and 691 strains from patients with extrapulmonary tuberculosis were studied. Researches of drug resistance were made by indirect method of absolute concentrations in the medium Lowenstein–Jensen and in the automated system BACTEC™ MGIT™ 960 (Becton Dickinson, USA). It shows a steady increase of the overall drug resistance, which has reached in the last three years 90.1% in pulmonary tuberculosis. At the same time there was a sharp worsening of the structure of drug resistance due to the growth of multidrug (MDR) and extensively drug-resistant (XDR), which by 2014 accounted for 81.9 vs 28.5% in 1984–1988. In extrapulmonary tuberculosis the growth of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* continues to outpace: overall drug resistance increased from 39.4% (1984–1988) to 80.2% (2012–2014), reaching figures that are comparable to those of pulmonary tuberculosis. At the same time there was an even more rapid change for the worse of its structure due to the increase of MDR/XDR strains: from 10.5% in the first period to 69.5% in the fourth. This is due to the more frequency of existing in locus of extrapulmonary tuberculosis of highly adaptive multiresistant strains of genotype Beijing: in tuberculous spondylitis, which is the most severe and frequent form of osteoarticular tuberculosis, 70 of the 78 (89.7%) *Mycobacterium tuberculosis* isolates with MDR/XDR belong to this genotype. In pulmonary tuberculosis the XDR growth rate exceed those in extrapulmonary tuberculosis: from 26.8% (III period) to 39.5% (IV period) and, accordingly, from 8.0 to 8.6%. The situation with drug resistance in all localizations of the disease may be characterized as extremely tense, which can lead to unpredictable consequences, if promptly one not take appropriate measures.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, drug resistance, development trends, Beijing genotype, pulmonary tuberculosis, extrapulmonary tuberculosis.

Введение

Проблема лекарственной устойчивости (ЛУ) *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) и особенно множественной резистентности (МЛУ) признана ВОЗ глобальной угрозой (Emergence of MT with extensive resistance, 2006), тем более, что в последние годы причиной смерти больных туберкулезом в 98% случаев являются мультирезистентные штаммы [18]. Подавляющее большинство исследований ЛУ МБТ относится к туберкулезу легких (ТЛ). При внелегочном туберкулезе (ВТ) подобные работы крайне немногочисленны: в них указано, что частота ЛУ МБТ при экстрапульмональном туберкулезе существенно ниже, чем при ТЛ, но имеется тенденция к ее нарастанию [5, 12, 29, 34, 36], более выраженная у предварительно леченных больных [31]. Несмотря на невысокий удельный вес ВТ в структуре туберкулеза в России (3,2%, причем эта цифра явно занижена из-за особенностей официальной статистики [16]) проблема ВТ, а главное — доминирующего в настоящее время костно-суставного туберкулеза (КСТ), — имеет большое значение, поскольку КСТ сопровождается чрезвычайно тяжелыми осложнениями и в 70–90% приводит к инвалидизации [3, 17].

Поэтому выяснение особенностей ЛУ возбудителя при экстрапульмональных локализациях туберкулезного процесса и тенденций ее развития в сравнении с ЛУ при ТЛ является актуальной задачей.

Помимо этого, особую актуальность исследованиям ЛУ при различных локализациях туберкулеза придают выявленные компенсаторные мутации лекарственной резистентности МБТ («secondary mutations»), в результате которых сохраняется не только скорость роста, часто замедленная у лекарственно-устойчивых штаммов, но и показатели вирулентности [24].

Более того, Casali N. и соавт. [23] в широкомасштабном исследовании показали особенности именно российских мультирезистентных штаммов. При полногеномном секвенировании 1000 штаммов МБТ, отобранных от больных Самарской области, в 65% у мультирезистентных изолятов была выявлена ранее неизвестная компенсаторная мутация, позволяющая бактериям преодолеть связанный с развитием устойчивости эффект снижения способности к быстрому размножению и способствующая повышению вирулентности микроорганизмов и заразности инфекции. Не вдаваясь в подробный анализ причин этого явления, можно ут-

верждать, что выявленные мутации являются важным биологическим фактором, способствующим распространению мультирезистентного туберкулеза в России.

В этом отношении большой интерес представляют результаты длительного динамического мониторинга лекарственной устойчивости МБТ при различных локализациях туберкулеза. Подобных исследований в доступной нам литературе найти не удалось. Именно поэтому приведены данные мониторинга ЛУ МБТ, проведенного в бактериологической лаборатории СПб НИИ фтизиопульмонологии с 1984 по 2014 гг. по материалам клиники института, где находились на лечении не только больные из СПб и Ленинградской области, но и из многих других регионов России.

Материалы и методы

Анализ проводился по материалам когорт больных: 1984–1988 гг. (первый, стартовый период), 1996–2000 гг. (второй период, который характеризуется чрезвычайным обострением эпидемической ситуации по туберкулезу и резким, «взрывным» ростом лекарственной устойчивости возбудителя), 2007–2011 гг. (третий период — стабилизации и снижения заболеваемости туберкулезом), 2012–2014 гг. (четвертый, заключительный период).

Всего исследовано 2967 штаммов МБТ от больных различными формами туберкулеза легких (ТЛ), в основном с тяжелым распространенным процессом, и 691 штамм от больных внелегочным туберкулезом (ВТ). У больных ТЛ исследован респираторный, биопсийный и операционный диагностический материал, у больных ВТ в исследование включен, в основном, биопсийный и операционный материал.

Для культивирования *M. tuberculosis* использовали плотные яичные питательные среды Левенштейна–Йенсена и Финн-П, приготовленные в бактериологической лаборатории в соответствии с Инструкцией № 11 Приказа № 109, и сертифицированные наборы реагентов для работы с автоматизированной системой ВАСТЕС™ MGIT™ 960 (Becton Dickinson, США).

Чувствительность культур МБТ к противотуберкулезным препаратам (рифампицину, изониазиду, стрептомицину, этамбутолу, пипразинамиду, этионамиду, офлоксацину, канамицину, амикацину, циклосерину, капреомицину, ПАСК) определяли непрямой методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна–Йенсена (Приказ № 109) а, начиная с 2001 г., еще и модифицированным методом пропорций в жидкой среде Middlebrook 7H9 с противотуберкулезными препаратами с детекцией роста на системе ВАСТЕС™ MGIT™ 960.

Генотипирование 124 штаммов МБТ из очагов туберкулезного спондилита (ТС) осуществляли с помощью методов сполиготипирования [27] и IS6110-RFLP [37]. Исследования проведены в лаборатории молекулярной микробиологии СПб НИИЭМ им. Пастера.

Результаты

В таблице 1 приведены сведения о результатах тридцатилетнего мониторинга частоты ЛУ МБТ и ее структуры при различных локализациях туберкулеза по данным клиники СПб НИИФ.

Из приведенных данных видно, что за 30-летний мониторинг резистентности суммарная ЛУ при ТЛ увеличилась в 1,3 раза, МЛУ+ШЛУ почти в 3 раза (2,9), при ВТ суммарная ЛУ — в 2 раза, МЛУ+ШЛУ — в 6,6 раза.

Таким образом, суммарная ЛУ при ВТ почти сравнялась с резистентностью при ТЛ, а МЛУ+ШЛУ всего на 12,4% меньше. Однако структура ЛУ при ТЛ остается значительно более тяжелой: ШЛУ наблюдается в 4 раза чаще.

Более наглядно эти данные представлены на графике (рис. 1).

При рассмотрении графика обращают на себя внимание однонаправленные тенденции возрастания частоты ЛУ МБТ при обеих локализациях туберкулеза (за исключением стабилизации суммарной ЛУ при ТЛ в третий период). Это логично, так как патогенез внелегочного туберкулеза подразумевает (за редкими исключениями) первичные локальные туберкулезные изменения в легких, после чего происходит лимфогематогенная диссеминация возбудителя по всем органам и тканям организма-хозяина; то есть МБТ попадают в очаги экстрапульмональной локализации из легких [2]. Однако прослеживается тенденция, что рост суммарной ЛУ и МЛУ при ВТ происходит опережающими темпами. Как видно из рисунка, помимо нарастания суммарной ЛУ, носящей достаточно плавный характер, наблюдается резкое возрастание частоты МЛУ/ШЛУ МБТ, особенно выраженное при экстрапульмональном туберкулезе, что наглядно иллюстрирует рисунок 2.

Обсуждение

Для объяснения феномена более высоких темпов развития ЛУ при ВТ надо учесть, что вегетация МБТ в очагах внелегочного туберкулеза происходит в неблагоприятных условиях при повышенном ацидозе и анаэробии [8]. В наших ранних работах показано, что вегетация МБТ в неблагоприятных условиях очагов ВТ приводит к сниженной жизнеспособности

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ЧАСТОТЫ И СТРУКТУРЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ МБТ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЯХ ТУБЕРКУЛЕЗА

Периоды, годы, число штаммов МБТ	Туберкулез легких				Внелегочный туберкулез					
	Чувствительные штаммы, абс./%	Моно-/поли-резистентные штаммы, абс./%	МЛУ, абс./%	Суммарная ЛУ, абс./%	Всего штаммов	Чувствительные штаммы, абс./%	Моно-/поли-резистентные штаммы, абс./%	МЛУ, абс./%	Суммарная ЛУ, абс./%	Всего штаммов
I: 1984–1988 n = 549	136/31,0	178/40,5	125/28,5	303/69,0	439	67/60,5	31/28,9	12/10,5	43/39,4	110
II: 1996–2000 n = 1286	170/13,8	252/20,5	808/65,7	1060/86,2	1230	80/31,2	58/22,8	118/46,0	176/68,8	256
III: 2007–2011 n = 912	108/14,0	90/15,6	576/74,4	666/86,0	774	36/26,1	18/13,0	84/60,9	102/73,9	138
IV: 2012–2014 n = 711	52/9,9	43/8,2	429/81,9	472/90,1	524	37/19,8	20/10,7	130/69,5	150/80,2	187

и ферментативной активности, а также к повышенной частоте L-трансформации возбудителя: так, при КСТ L-формы были выделены в 63,0%, а классические клеточные — в 24,2% [5]. Для выживания в таких очагах требуется повышенная адаптивная способность возбудителя, которой отличаются МБТ широко распространенного семейства Beijing с высокой долей мультирезистентных и высоковирулентных штаммов [13, 26, 30, 33]. Резкий подъем частоты ЛУ, особенно МЛУ, в 1996–2000 гг. совпадает по времени с периодом широкой циркуляции генотипа Beijing в России [7, 20, 21].

Что касается ВТ, то известны лишь единичные работы по генотипированию штаммов МБТ из очагов экстрапульмональной локализации. Так, по данным Е.Ю. Камаева [9], 83,6% (40 из 46) изолятов из операционного материала больных КСТ принадлежали генотипу Beijing. По данным Y. Kong [28], у больных экстрапульмональным туберкулезом штаммы генотипа Beijing встречаются в три раза чаще, чем штаммы других генотипов. Генотипирование 125 изолятов из очагов ВТ больных Северной Индии показало, что при КСТ Beijing выявлен в 28% [35].

По нашим совместным данным с СПб НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, сполиготипирование 124 штаммов МБТ из очагов туберкулезного спондилита — наиболее тяжелой и частой формы КСТ — в период 2007–2011 гг. выявило 23 варианта сполиготипов, большинство из которых (73,4%) были отнесены к генотипу Beijing. Кроме того, сполиготипирование 78 изолятов из очагов ТС с типом устойчивости МЛУ/ШЛУ показало, что 70 из них (89,7%) принадлежали генотипу Beijing. Более того, в 37% изолятов от больных ТС был выявлен подтип В0/W148 [6], наиболее вирулентный и контагиозный, часто связанный с распространенным прогрессирующим течением туберкулеза [1, 4, 14].

Приведенные данные многолетнего мониторинга ЛУ МБТ при различных локализациях заболевания совпадают с результатами исследования П.К. Яблонского и соавт. [38], которые показали, что, несмотря на достижения российского здравоохранения в области фтизиатрии, экстраполяция тенденций роста мультирезистентного туберкулеза прогнозирует к 2015 г. наличие МЛУ-туберкулеза у каждого второго пациента. Это коррелирует с данными Bifani P. и соавт. [22] об имеющейся тенденции глобального распространения в основном мультирезистентных штаммов МБТ семейства Beijing с повышенной вирулентностью и трансмиссивностью. Наши исследования характеризуют в основном ситуацию с лекарственной устойчивостью сохраняющегося во многих ре-

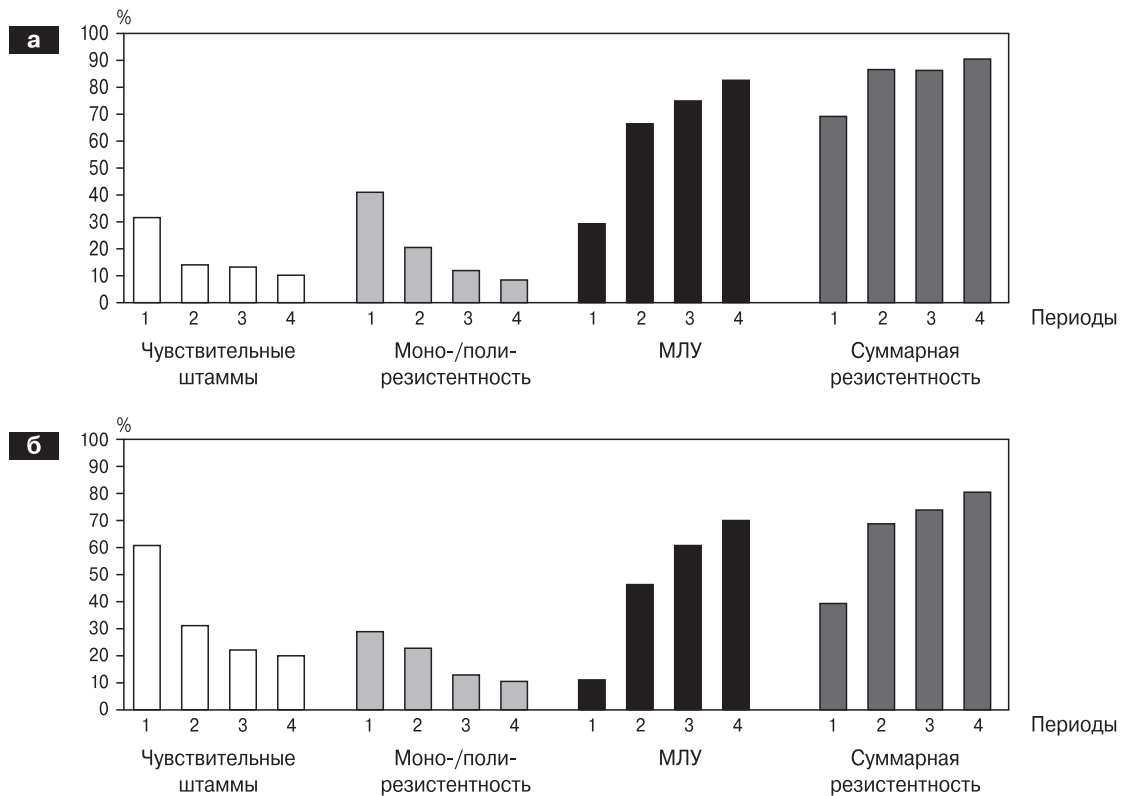


Рисунок 1. Изменения структуры лекарственной устойчивости МБТ при туберкулезе легких (а) и внелегочном туберкулезе (б)

гионах России так называемого «бациллярного ядра» — постоянного источника заражения мультирезистентным туберкулезом, и эта проблема требует своего решения. Внушает оптимизм лишь то обстоятельство, что правильно построенные в отдельном регионе противотуберкулезные мероприятия могут остановить неконтролируемый рост мультирезистентного туберкулеза [38], о чем свидетельствует приведенный в данной публикации опыт работы Архангельской и Томской областей.

Заключение

Многолетний мониторинг ЛУ МБТ среди тяжелого контингента больных ТЛ в клинике СПб НИИФ показал, что наблюдается ее неуклонный рост, и суммарная резистентность в последние 3 года достигла 90,1%. Одновременно с этим, происходит резкое утяжеление структуры ЛУ за счет роста мультирезистентности и ШЛУ, что объясняется широким распространением штаммов МБТ семейства Beijing и наи-

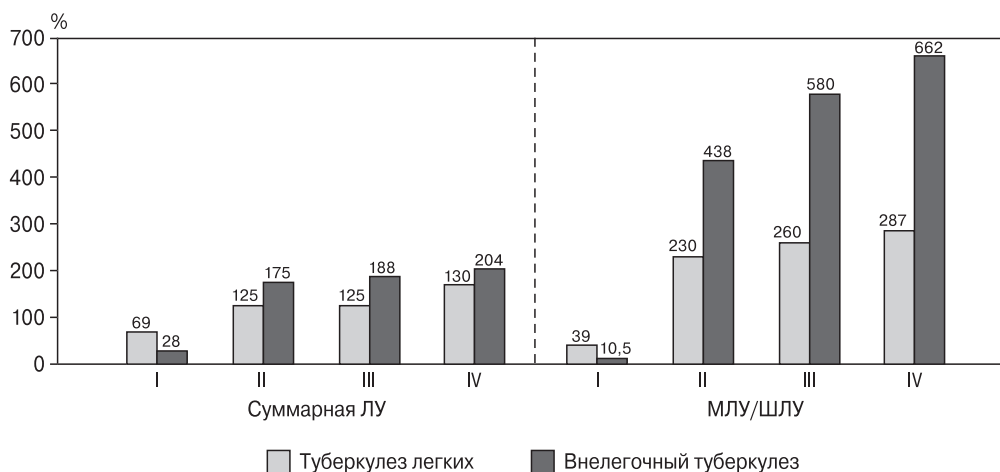


Рисунок 2. Темпы прироста частоты суммарной и множественной, включая ШЛУ, лекарственной устойчивости МБТ во 2–4 периодах при ТЛ и ВТ (в процентах по отношению к 1 периоду)

более вирулентного подтипа B0/W148. Можно полагать, что большое значение имеет также выявленная среди российских штаммов МБТ ранее неизвестная компенсаторная мутация МЛУ, приводящая к повышению вирулентности и контагиозности лекарственно-устойчивых штаммов.

По данным официальной статистики [10], в России за период 2005–2012 гг. частота МЛУ у впервые выявленных больных возросла с 6,7 до 16,3%, а среди контингентов — с 10,5 до 37,5%; причем, по мнению автора, эти показатели нельзя считать достоверными вследствие неполноты бактериологического обследования в ряде регионов и несовершенства расчетов показателей МЛУ. По нашим данным, ситуация еще более тревожная, поскольку уже в 2011 г. МЛУ/ШЛУ у контингентов при ТЛ составила 74,4%, а в 2014 г. — 81,9%.

При ВТ на всех этапах исследования продолжается опережающими темпами рост ЛУ МБТ

(суммарная ЛУ уже достигла показателей, сравнимых с таковой при ТЛ) и еще более ускоренное утяжеление ее структуры за счет прироста МЛУ/ШЛУ штаммов.

Следует отметить, что нарастание ЛУ при внелегочной локализации процесса сопровождается увеличением доли вновь выявленных больных с распространенными и осложненными поражениями. Рост частоты ЛУ-возбудителя также находит отражение в снижении эффективности, в том числе хирургического этапа лечения, с нарастанием послеоперационных осложнений, прогрессирования и выявления рецидивов в данной группе пациентов [11, 19].

Таким образом, ситуацию с лекарственной устойчивостью МБТ при всех локализациях заболевания можно охарактеризовать как чрезвычайно напряженную, что требует дальнейших углубленных исследований, и может, если своевременно не принять соответствующих мер, привести к непредсказуемым последствиям.

Список литературы/References

1. Андреевская С.Н., Черноусова Л.Н., Смирнова Т.Г., Ларионова Е.Е. Особенности экспрессии генов *isl* и *hspX*, индуцируемых при выживании в организме хозяина, у штаммов *M. tuberculosis* кластера W // Туберкулез и болезни легких. 2014. Т. 91, № 1. С. 37–41. [Andreevskaya S.N., Chernousova L.N., Smirnova T.G., Larionova E.E. Expression of the *icl* and *hspX* genes induced during survival in the host in *Mycobacterium tuberculosis* W cluster strains. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2014, vol. 91, no. 1, pp. 37–41. (In Russ.)]
2. Ариэль Б.М., Беллендир Э.Н. Патологическая анатомия и патогенез туберкулеза // Руководство по легочному и внелегочному туберкулезу / Под ред. Ю.Н. Левашева, Ю.М. Репина. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008. Гл. 4. С. 82–87. [Ariel B.M., Bellendir E.N. Patologicheskaya anatomiya i patogenez tuberkuleza [Guidelines on pulmonary and extrapulmonary tuberculosis]. *Rukovodstvo po legochnomu i vnelegochnomu tuberkulezu* [Pathological anatomy and pathogenesis of tuberculosis]. Ed. by Yu.N. Levashov, Yu.M. Repin. *St. Petersburg: ELBI-SPb, 2008. Chapt. 4, pp. 82–87.*]
3. Бурлаков С.В., Олейник В.В., Вишневецкий А.А. Влияние длительности заболевания туберкулезным спондилитом на развитие осложнений // Травматология и ортопедия России. 2013. Т. 1, № 67. С. 61–66. [Burlakov S.V., Oleynik V.V., Vishnevskiy A.A. Influence of duration of tuberculous spondylitis on the development of postoperative complications. *Traumatologiya i ortopediya Rossii = Traumatology and Orthopedics of Russia*, 2013, vol. 1, no. 67, pp. 61–66. (In Russ.)]
4. Вишневецкий Б.И., Маничева О.А., Яблонский П.К. Вирулентность *Mycobacterium tuberculosis* virulence // Инфекция и иммунитет. 2014. Т. 4, № 4. С. 319–330. [Vishnevskiy B.I., Manicheva O.A., Yablonskiy P.K. *Mycobacterium tuberculosis* virulence. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2014, vol. 4, no. 4, pp. 319–330. doi: 10.15789/2220-7619-2014-4-319-330 (In Russ.)]
5. Вишневецкий Б.И., Маничева О.А., Вишневская Е.Б., Мельникова Н.Н., Оттен Т.Ф. Особенности бактериовыделения и лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза при внелегочном туберкулезе // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2006. Т. 83, № 11. С. 18–21. [Vishnevskiy B.I., Manicheva O.A., Vishnevskaya E.B., Melnikova N.N., Otten T.F. The specific features of bacteria excretion and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in extrapulmonary tuberculosis. *Problemy tuberkuleza i boleznej legkikh = Problems of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2006, vol. 83, no. 11, pp. 18–21. (In Russ.)]
6. Вязовая А.А., Соловьева Н.С., Журавлев В.Ю., Мокроусов И.В., Маничева О.А., Вишневецкий Б.И., Нарвская О.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезным спондилитом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2013. № 5. С. 20–27. [Vyazovaya A.A., Solovieva N.S., Zhuravlev V.Yu., Mokrousov I.V., Manicheva O.A., Vishnevskiy B.I., Narvskaya O.V. Molecular-genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from patients with tuberculous spondylitis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2013, no. 5, pp. 20–27. (In Russ.)]
7. Вязовая А.А., Мокроусов И.В., Оттен Т.Ф., Вишневецкий Б.И., Нарвская О.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Псковской области // Туберкулез и болезни легких. 2012. Т. 89, № 6. С. 35–39. [Vyazovaya A.A., Mokrousov I.V., Otten T.V., Vishnevskiy B.I., Narvskaya O.V. Molecular-genetic characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* strains circulating in the Pskov region. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2012, vol. 89, no. 6, pp. 35–39. (In Russ.)]
8. Драбкина Р.О. Микробиология туберкулеза. М.: Медгиз, 1963. 255 с. [Drabkina R.O. *Mikrobiologiya tuberkuleza* [Microbiology of tuberculosis]. *Moscow: Medgiz, 1963. 255 p.*]
9. Камаев Е.Ю., Бердников Р.Б., Гринберг Л.М., Камаева Н.Г., Скорняков С.Н. Этиологическая верификация туберкулезных спондилитов в различных фазах активности процесса // Уральский медицинский журнал. 2013. № 2. С. 54–59.

- [Kamaev E.Y., Berdnikov R.B., Grinberg L.M., Kamaeva N.G., Skornyakov S.N. Etiological verification of tuberculosis spondylitis at various phases of activity. *Ural'skii meditsinskii zhurnal = Ural Medical Journal*, 2013, vol. 2, no. 107, pp. 54–59. (In Russ.)]
10. Капков П.Л. Почему больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью становится больше? // Туберкулез и болезни легких. 2014. Т. 91, № 11. С. 11–17. [Kapkov P.L. Why do patients with drug-resistant *Mycobacteria* become more? *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2014, vol. 94, no. 11, pp. 11–17. (In Russ.)]
 11. Картавых А.А., Борисов С.Е., Матвеева М.В., Белиловский Е.М. Туберкулез внелегочных локализаций по данным персональных регистров впервые выявленных больных // Туберкулез и болезни легких. 2009. Т. 86, № 10. С. 17–26. [Kartavykh A.A., Borisov S.Ye., Matveyeva M.V., Belilovsky Ye.M. Extrapulmonary tuberculosis according to the data of personal registries of new tuberculosis cases. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2009, vol. 86, no. 10, pp. 17–26. (In Russ.)]
 12. Лавров В.Н. Диагностика и лечение больных туберкулезным спондилитом // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2001. Т. 78, № 4. С. 30–32. [Lavrov V.N. Diagnosis and treatment of patients with tuberculous spondylitis. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2001, vol. 78, no. 4, pp. 30–32. (In Russ.)]
 13. Маничева О.А., Нарвская О.В., Мокроусов И.В., Вязовая А.А., Журавлев В.Ю., Барнаулов А.О., Догонадзе М.З., Оттен Т.Ф., Вишневецкий Б.И. Лекарственная устойчивость, жизнеспособность и вирулентность in vitro штаммов *Mycobacterium tuberculosis* различных генотипов // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 4. С. 341–348. [Manicheva O.A., Narvskaya O.V., Mokrousov I.V., Vyazovaya A.A., Zhuravlev V.U., Barnaulov A.O., Dogonadze M.Z., Otten T.F., Vishnevskiy B.I. Drug resistance, viability and virulence in vitro of *Mycobacterium tuberculosis* strains of different genotypes. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 4, pp. 341–348. doi: 10.15789/2220-7619-2011-4-341-348 (In Russ.)]
 14. Мокроусов И.В., Нарвская О.В., Вязовая А.А., Оттен Т.Ф., Вишневецкий Б.И. Геноидентификация эпидемиологически и клинически значимого варианта *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 // Туберкулез и болезни легких. 2012. Т. 89, № 10. С. 33–36. [Mokrousov I.V., Narvskaya O.V., Vyazovaya A.A., Otten T.F., Vishnevskiy B.I. Gene identification of the epidemiologically and clinically important *Mycobacterium tuberculosis* Beijing variant B0/W148. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2012, vol. 89, no. 10, pp. 33–36. (In Russ.)]
 15. Нарвская О.В. Молекулярная микробиология и перспективы контроля инфекционных болезней. СПб.: НИИЭМ им. Пастера, 2007. 27 с. [Narvskaya O.V. Molekulyarnaya mikrobiologiya i perspektivy kontrolya infektsionnykh boleznei [Molecular microbiology and prospects of infectious disease control]. *SPh.: Pasteur Institute*, 2007. 27 p.]
 16. Нечаева О.Б., Скачкова Е.И., Кучерявая Д.А. Мониторинг туберкулеза в Российской Федерации // Туберкулез и болезни легких. 2013. Т. 90, № 12. С. 49–50. [Nechaeva O.B., Skachkova E.I., Kucheryaeva D.A. Monitoring of tuberculosis in the Russian Federation. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2013, vol. 90, no. 12, pp. 49–50. (In Russ.)]
 17. Павлов Л.А., Слепцов М.В., Мьярокянов Т.А. Проблема заболеваемости костно-суставным туберкулезом в Якутии // Туберкулез и болезни легких. 2010. Т. 87, № 7. С. 48–53. [Pavlov L.A., Slepsov M.V., Myarokyanov T.A. Problem of osteoarticular tuberculosis morbidity in Yakutia. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2010, vol. 87, no. 7, pp. 48–53. (In Russ.)]
 18. Прозоров А.А., Даниленко В.Н. Микобактерии туберкулезного комплекса: геномика, молекулярная эпидемиология, пути эволюции // Успехи современной биологии. 2011. Т. 131, № 3. С. 227–243. [Prozorov A.A., Danilenko V.N. *Mycobacterium tuberculosis* complex: genomics, molecular epidemiology, evolutionary path. *Uspekhi sovremennoi biologii = Successes of Modern Biology*, 2011, vol. 131, no. 3, pp. 227–243. (In Russ.)]
 19. Советова Н.А., Васильева Г.Ю., Соловьева Н.С., Журавлев В.Ю., Баулин И.А. Туберкулезный спондилит у взрослых (клинико-лучевые проявления) // Туберкулез и болезни легких. 2014. Т. 91, № 2. С. 10–14. [Sovetova N.A., Vasilyeva G.Yu., Solovyeva N.S., Zhuravlev V.Yu., Baulin I.F. Tuberculous spondylitis in adults (clinical and radiological manifestations). *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2014, vol. 91, no. 2, pp. 10–14. (In Russ.)]
 20. Умпелева Т.В., Кравченко М.А., Еремеева Н.И., Вязовая А.А., Нарвская О.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Уральского региона России // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 1. С. 21–28. [Umpeleva T.V., Kravchenko M.A., Eremeeva N.I., Vyazovaya A.A., Narvskaya O.V. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains circulating in the Ural region, Russia. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 21–28. doi: 10.15789/2220-7619-2013-1-21-28 (In Russ.)]
 21. Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Земскова З.С., Ларионова Е.Е. Биологические свойства штаммов *M. tuberculosis* кластера W // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2008. Т. 85, № 10. С. 45–50. [Chernousova L.N., Andreevskaya S.N., Smirnova T.G., Zemskova Z.S., Larionova E.E. Biological properties of *M. tuberculosis* strains cluster W. *Problemy tuberkuleza i bolezni legkih = Problems of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2008, no. 10, pp. 45–50. (In Russ.)]
 22. Bifani P., Mathema B., Kurepina N., Kreiswirth B.N. Global dissemination of the *M. tuberculosis* W/Beijing family strains. *Trends Microbiol.*, 2002, vol. 10, no. 1, pp. 45–52.
 23. Casali N., Nikolayevskiy V., Balabanova Y., Harris S.R., Ignatyeva O., Kontsevaya I., Corander J., Bryant J., Parkhill J., Nejentsev S., Horstmann R.D., Brown T., Drobniewski F. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population. *Nat. Genet.*, 2014, vol. 46, no. 3, pp. 279–286. doi: 10.1038/ng.2878
 24. Cohen T., Becerra M.C., Murray M.B. Isoniazid resistance and the future of drug-resistant tuberculosis. *Microb. Drug Resist.*, 2004, vol. 10, no. 4, pp. 280–285. doi: 10.1089/mdr.2004.10.280
 25. Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs-worldwide, 2000–2004. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 2006, vol. 55, no. 11, pp. 301–305.
 26. Glynn J.R., Whiteley J., Bifani P.J., Kremer K., Van Soolingen D. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. *Emerg. Infect. Dis.*, 2002, vol. 8, no. 8, pp. 843–849. doi: 10.3201/eid0808.020002
 27. Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A., Van Agterveld M., Van Soolingen D., Kuijper S., Bunschoten A., Molhuizen H., Shaw R., Goyal M., Van Embden J. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, vol. 35, no. 4, pp. 907–914. doi: 0095-1137/97/\$04.0010

28. Kong Y., Cave M.D., Zhang L., Foxman B., Marrs C.F., Bates J.H., Yang Z.H. Association between Mycobacterium tuberculosis Beijing/W lineage strain infection and extrathoracic tuberculosis: insights from epidemiologic and clinical characterization of the three principal genetic groups of M. tuberculosis clinical isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 2007, vol. 45, no. 2, pp. 409–414. doi: 10.1128/JCM.01459-06
29. Lai C.C., Liu W.L., Tan C.K., Huang Y.C., Chung K.P., Lee M.R., Hsueh P.R. Differences in drug resistance profiles of Mycobacterium tuberculosis isolates causing pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in a medical centre in Taiwan, 2000–2010. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2011, vol. 38, no. 2, pp. 125–129. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2011.03.016
30. Lasunskaja E., Ribeiro S.C., Manicheva O., Gomes L.L., Suffys, P.N., Mokrousov I., Ferrazoli L., Andrade M.R., Kritski A., Otten T., Kipnis T.L., Da Silva W.D., Vishnevsky B., Oliveira M.M., Gomes H.M., Baptista I.F., Narvskaya O. Emerging multi-drug resistant Mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing genotype circulating in Russia express a pattern of biological properties associated with enhanced virulence. *Microbes Infect.*, 2010, vol. 12, no. 6, pp. 467–475. doi: 10.1016/j.micinf.2010.02.008
31. Maurya A.K., Kant S., Nag V.L., Kushwaha R.A., Kumar M., Dhole T.N. Comparative evaluation of IS6110 PCR via conventional methods in rapid diagnosis of new and previously treated cases of extrapulmonary tuberculosis *Tuberk. Toraks*, 2011, vol. 59, no. 3, pp. 213–220. doi: 10.5578/tt.2680
32. Mokrousov I., Vyazovaya A., Otten T., Zhuravlev V., Pavlova E., Tarashkevich L., Krishevich V., Vishnevsky B., Narvskaya O. Mycobacterium tuberculosis population in northwestern Russia: an update from Russian-EU/Latvian border region. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 7, e:41318. doi: 10.1371/journal.pone.0041318
33. Parwati I., Van Crevel R., Van Soolingen D. Possible underlying mechanisms for successful emergence of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype strains. *Lancet Infect. Dis.*, 2010, vol. 10, no. 2, pp. 103–111. doi: 10.1016/S1473-3099(09)70330-5
34. Pawar U.M., Kundnani V., Agashe V., Nene A. Multidrug-resistant tuberculosis of the spine — is it the beginning of the end? A study of twenty-five culture proven multidrug-resistant tuberculosis spine patients. *Spine*, 2009, vol. 34, no. 22, pp. 806–810. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181af7797
35. Sankar M.M., Singh J., Diana S.C., Singh S. Molecular characterization of Mycobacterium tuberculosis isolates from North Indian patients with extrapulmonary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 2013, vol. 93, no. 1, pp. 75–83. doi: 10.1016/j.tube.2012.10.005
36. Suarez-Garcia I., Noguerado A. Drug treatment of multidrug-resistant osteoarticular tuberculosis: a systematic literature review. *Int. J. Inf. Dis.*, 2012, vol. 16, no. 11, pp. 774–778. doi: 10.1016/j.ijid.2012.07.011
37. Van Embden J.D., Cave M.D., Crawford J.T., Dale J.W., Eisenach K.D., Gicquel B., Hermans P., Martin C., McAdam R., Shinnick T.M. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, vol. 31, no. 2, pp. 406–409.
38. Yablonskii P.K., Vigel A.A., Galkin V.B., Shulgina M.V. Tuberculosis in Russia. Its history and its status today. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2015, vol. 191, no. 4, pp. 372–376. doi: 10.1164/rccm.201305-0926OE

Авторы:

Яблонский П.К., д.м.н., профессор, декан медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета; директор НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Вишневский Б.И., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Соловьева Н.С., зав. бактериологической лабораторией НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Маничева О.А., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории этиологической диагностики НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Догондзе М.З., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории этиологической диагностики НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Мельникова Н.Н., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории этиологической диагностики НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Журавлев В.Ю., к.м.н., зав. отделом лабораторной диагностики НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Yablonskii P.K., PhD, MD (Medicine), Professor, Dean of the Medicine Faculty, St. Petersburg State University; Director of the Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Vishnevskiy B.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostic, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Solovyeva N.S., Head of the Bacteriological Laboratory, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Manicheva O.A., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of the Etiological Diagnostics, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Dogonadze M.Z., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of the Etiological Diagnostics, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Melnikova N.N., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of the Etiological Diagnostics, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Zhuravlev V.Yu., PhD (Medicine), Head of the Department of Laboratory Diagnostics, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation.

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ СОЧЕТАННОЙ ИНФЕКЦИИ ВГВ/ВГД В КЫРГЫЗСТАНЕ

А.В. Семенов^{1,2,3}, Ю.В. Останкова¹, К.А. Ногойбаева⁴, К.Т. Касымбекова⁴,
И.Н. Лаврентьева¹, С.Т. Тобокалова⁴, Арег А. Тотолян^{1,2}

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ГБОУ ВПО Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Киргизский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика

Резюме. Одной из серьезнейших проблем здравоохранения в мире остаются гепатотропные вирусы, вызывающие хронические заболевания печени. Вирус гепатита В распространен во всем мире, около 5% носителей инфицированы также вирусом гепатита дельта. Коинфекция или суперинфекция вирусов гепатита В и D достоверно ассоциированы со значительно более тяжелыми заболеваниями печени по сравнению с инфицированием только вирусом гепатита В, что повышает внимание эпидемиологов к путям передачи и источникам вируса гепатита D. Однако обследование носителей вируса гепатита В на наличие вируса гепатита D в большинстве регионов мира не является обязательным. Следует отметить, что полного генотипического картирования вирусов гепатитов В и D, выделяемых на территории СНГ и стран бывшего СССР, все еще нет, несмотря на постоянно ведущиеся работы, посвященные генотипированию гепатотропных вирусов на территории Российской Федерации и в сопредельных государствах. В связи с тем, что одним из предполагаемых путей распространения вирусов является «трудовая миграция» жителей стран Средней Азии в другие страны и, в том числе, в Российскую Федерацию, появляется необходимость обратить внимание на ситуацию с вирусными гепатитами в этом регионе. Целью нашей работы было оценить распространенность генетических вариантов и особенности молекулярной эпидемиологии сочетанной инфекции хронического вирусного гепатита В + D в Кыргызстане. Обследовано 30 образцов плазмы от пациентов с хроническим вирусным гепатитом В и D из различных регионов Кыргызстана. На основании филогенетического анализа изолятов показано, что среди обследованных больных хроническим вирусным гепатитом В выявлен только генотип D. Показано преобладание вируса гепатита В субтипа D1 (73,34%) по сравнению с D2 (3,33%) и D3 (23,33%). Выявлен вирус гепатита D генотипа I с высокой вариабельностью участка гена, кодирующего дельта-антиген. Высокое сходство некоторых изолятов с изолятами, характерными для стран-соседей, эндемичных по гепатотропным вирусам, а также плотная кластеризация других изолятов, свидетельствуют как о множественных завозах, так и об эволюционном процессе в географически изолированном регионе, каковым является Кыргызстан. Выявление особенностей распространения и роль эндемичности в циркуляции генотипов вирусов гепатита В и гепатита D имеют большое значение.

Ключевые слова: гепатит D, гепатит В, сочетанная инфекция, молекулярная эпидемиология, секвенирование, Кыргызстан.

Адрес для переписки:

Останкова Юлия Владимировна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 233-20-92 (служебн).
E-mail: shenna1@yandex.ru

Contacts:

Julia V. Ostankova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 233-20-92 (office).
E-mail: shenna1@yandex.ru

Библиографическое описание:

Семенов А.В., Останкова Ю.В., Ногойбаева К.А., Касымбекова К.Т., Лаврентьева И.Н., Тобокалова С.Т., Тотолян Арег А. Особенности молекулярной эпидемиологии сочетанной инфекции ВГВ/ВГД в Кыргызстане // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 141–150. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-141-150

Citation:

Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Nogoybaeva K.A., Kasymbekova K.T., Lavrentieva I.N., Tobokalova S.T., Totolian Areg A. Molecular epidemiology features of HBV/HDV co-infection in Kyrgyzstan // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 141–150. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-141-150

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY FEATURES OF HBV/HDV CO-INFECTION IN KYRGYZSTAN**Semenov A.V.^{a,b,c}, Ostankova Yu.V.^a, Nogoybaeva K.A.^d, Kasymbekova K.T.^d, Lavrentieva I.N.^a, Tobokalova S.T.^d, Totolian Areg A.^{a,b}**^a *St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation*^b *Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation*^c *North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation*^d *Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Skills, Bishkek, Kyrgyz Republic*

Abstract. One of the most serious health problems in the world are hepatotropic viruses that cause chronic liver disease. Hepatitis B virus is distributed globally; around 5% of the carriers are also infected with hepatitis delta virus. Co-infection or superinfection of hepatitis viruses B and D significantly associated with a much more severe liver disease, compared with infection only hepatitis B virus. However, examination of hepatitis virus B carriers for the presence of hepatitis D virus in most regions of the world is not mandatory. It should be noted that the complete genotype mapping of viruses hepatitis B and D isolated on the territory of the CIS and the countries of the former Soviet Union, there is not yet, despite the constantly ongoing works devoted genotyping hepatotropic virus in the territory of the Russian Federation and neighboring countries. Due to the fact that one of the prospective ways of spreading viruses is the “labor migration” the inhabitants of Central Asia in other countries, including the Russian Federation, there is a need to pay attention to the situation of viral hepatitis in the region. The aim of our study was to estimate the prevalence of genetic variants and characteristics of molecular epidemiology of chronic viral hepatitis co-infection B + D in Kyrgyzstan. The study involved 30 plasma samples from patients with chronic viral hepatitis B and D from different regions of Kyrgyzstan. Based on the phylogenetic analysis of the isolates showed that among patients examined HBV identified only D genotype. Based on the phylogenetic analysis of the isolates indicated that among the examined patients with chronic viral hepatitis B revealed only genotype D. It is shown prevalence of HBV subtype D1 (73.34%) compared to the HBV subtype D2 (3.33%) and D3 (23.33%). Revealed HDV genotype I with highly variable region of the gene encoding the delta antigen. The high similarity of some isolates with strains specific to neighboring countries endemic for hepatotropic viruses, as well as a dense clustering of other isolates may be an indication of numerous independent drifts of strains into the territory of the country. Also it can talk about the speed of evolution of the virus in a geographically isolated region as Kyrgyzstan. Identification of the propagation characteristics and endemics role in circulation of genotype of hepatitis B and D is great importance.

Key words: *hepatitis D, hepatitis B, co-infection, molecular epidemiology, sequencing, Kyrgyzstan.*

Введение

Одной из серьезнейших проблем здравоохранения в мире остаются гепатотропные вирусы, вызывающие хронические заболевания печени. Вирусный гепатит В (ВГВ) широко распространен во всем мире и является эндемичным для многих популяций. Различные регионы мира демонстрируют высокую распространенность ВГВ (> 8%) — страны Африки и Азии, и низкую распространенность вирус (< 2%) — страны Европы и Северной Америки. Общее количество инфицированных в мире, по оценкам ВОЗ, составляет почти 2 млрд человек, для 400 млн из них показан хронический вирусный гепатит В (ХВГВ), являющийся одной из причин тяжелых заболеваний печени, к которым относятся цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома [4]. Наиболее склонны к развитию хронических инфекций дети, инфицированные ВГВ до 6 лет. Инфицирование в зрелом возрасте приводит к развитию хронического гепатита менее чем в 5% случаев, однако среди этой группы пациентов показана высокая частота развития цирроза или рака печени. Предположительно почти 80% случаев гепатоцеллюлярной карциномы во всем мире обусловлено ВГВ. Клинические проявления ХВГВ многообразны и зависят от многих факторов,

в том числе от биологических свойств вируса, длительности заболевания, уровня вирусной нагрузки, мутаций вируса, экологических и генетических факторов.

Так, например, генотип ВГВ связан с ответом на лечение интерфероном, а также является предиктором клинического исхода инфекции. Генотип D ассоциирован с HBeAg отрицательным ХВГВ, а также с высокими темпами развития цирроза [14]. Генотипы А и В более чувствительны к лечению интерфероном, чем генотипы D и С [3].

В связи с использованием обратной транскриптазы в процессе репликации вируса, ВГВ свойственна высокая степень генетической гетерогенности. На основании филогенетического анализа ВГВ подразделяют на десять генотипов, распространенных в различных географических регионах мира и отличающихся друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей более чем на 8% и на 34 субтипа, для которых показано расхождение полных нуклеотидных последовательностей в 4–7,5% [32].

Около 5% носителей ВГВ, по средней оценке 15–20 млн человек, инфицированы также вирусом гепатита дельта (ВГД), неполным РНК-содержащим вирусом, способным реплицироваться только в присутствии ВГВ. Коинфекция

или суперинфекция ВГВ и ВГД достоверно ассоциированы со значительно более тяжелыми заболеваниями печени по сравнению с моноинфекцией ВГВ, что повышает внимание эпидемиологов к путям передачи и источникам ВГД, в особенности к гиперэндемичным регионам и странам [11, 12]. Так, например, для гиперэндемичной по ВГД Румынии показано значительное преобладание больных с коинфекцией ВГВ ВГД с циррозом печени (43,4%) по сравнению с больными без цирроза (19%) [18]. В другой работе риск развития гепатоцеллюлярной карциномы при ВГД-инфицировании в 3,2 раза превышал риск развития при моноинфекции [15]. Также следует отметить, что уровень РНК ВГД выше 600 000 копий/мл является предсказательным маркером развития тяжелых патологий печени, а после развития цирроза значимость вирусной нагрузки как предиктора уменьшается [26].

Оценка маркеров репликации ВГД у больных с ХВГВ с активным течением инфекции и выраженными биохимическими маркерами повреждения печени показала высокую частоту встречаемости ВГД с серонегативным течением [7]. Выявление антител к ВГД может указывать не только на продолжающуюся или перенесенную инфекцию с ВГД, но и на инфицирование ВГВ. Однако обследование носителей ВГВ на наличие ВГД в большинстве регионов мира не является обязательным, несмотря на то, что совместное инфицирование с ВГД связано с ускоренным прогрессированием фиброза и повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы.

Несмотря на то, что ВГД демонстрирует значительную генетическую изменчивость, на настоящее время охарактеризовано 8 генотипов. Расхождение в нуклеотидных последовательностях между описанными генотипами составляет 19–38%, а внутри генотипов до 15,7%. Генотип 1 представлен практически во всех географических регионах мира. Генетическое разнообразие ВГД генотипов 2–8 связано с географическим происхождением изолятов: генотипы 2 и 4 распространены в Японии, Тайване, а 2 генотип, кроме того, был обнаружен в Якутии. Генотип 4 характерен для района Амазонки, генотипы 5, 6, 7 — для Африки.

Очевидно, что, как и другие гепатотропные вирусы, ВГД распространен по всему миру, однако частота встречаемости в разных странах различается. Следует отметить, что распространенность ВГД в тех или иных географических регионах не зависит от распространенности ВГВ, несмотря на его обязательность для естественного течения ХВГД. При этом динамика распространения вируса имеет сложную структуру и приводит к расширению ареалов эндемичности за счет высокой генетической вариабельности.

Хотя введение в клиническую практику в промышленно развитых странах эффективной вакцины против ВГВ значительно снизило не только распространенность ВГВ, но и циркуляцию ВГД, в последние годы наблюдается тенденция к смещению распространенности тех или иных генотипов ВГВ в различных географических ареалах, а также возвращение ВГД в Западную Европу путем иммиграции из высокоэндемичных регионов мира, таких как Африка, Азия, Южная Америка, при этом филогеография распространенности субтипов ВГВ и ВГД может служить маркером миграции человека [9, 27].

Следует отметить, что полного генотипического картирования изолятов ВГВ, а тем более ВГД, выделяемых на территории СНГ и стран бывшего СССР все еще нет, несмотря на постоянно ведущиеся работы, посвященные генотипированию гепатотропных вирусов на территории РФ и в сопредельных государствах. Однако на большей части территории бывшего СССР и в странах Балтийского региона преобладает ВГВ субтипа D2, показаны субтипы A2 и D3 [31]. Данные о генотипическом разнообразии ВГД малочисленны и свидетельствуют о распространении на интересующих нас территориях преимущественно ВГД генотипа 1. Кроме того в Республике Саха (Якутия) выявлен ВГД генотипа 2.

В связи с тем, что одним из предполагаемых путей распространения вируса является «трудовая миграция» жителей стран Средней Азии в другие страны и, в том числе, в Российскую Федерацию, появляется необходимость обратить внимание на ситуацию с вирусными гепатитами в этом регионе.

В 2010 г. страны средней Азии вошли в десятку стран с наибольшей смертностью от вирусного цирроза, пятое место занимает Кыргызстан, а Узбекистан и Туркменистан — седьмое и восьмое соответственно [24]. При этом уровень заболеваемости ХВГВ и ХВГД в Кыргызстане сходен: 23 и 21 на 100 тыс. человек соответственно; наблюдается рост заболеваемости ВГВ (до 71 на 100 тыс. человек в Иссык-Кульской области) и ВГД (до 62 на 100 тыс. человек в г. Оше) [5].

Анализ генотипов ВГВ в Таджикистане показал преобладание генотипа D (94,1%) по сравнению с генотипом A (5,8%) [22]. ВГВ генотипа D также преобладал в Узбекистане (87%), по сравнению с гепатитом A (13%) [20].

Следует отметить, что в РФ лидирующие позиции по уровню заболеваемости хроническим гепатитом В принадлежат Северо-Западному и Дальневосточному округам, куда направлены основные потоки миграции из Средней Азии [2]. При этом прибывающие мигранты в большинстве случаев не знают о своих заболеваниях и избегают медицинского обследования на опасные инфекции, так как опасаются депортации. Более того, было показано, что 46,4% приезжих из Уз-

бекистана, Таджикистана, Казахстана, Кыргызстана вообще не слышали о гепатите, а среди тех, кто слышал — только 37,3% правильно ответили на вопрос: какой орган поражается при этом заболевании; 28,8% назвали один, два или три пути заражения [1].

Таким образом, представляется очевидной необходимость оценки молекулярно-эпидемиологической ситуации не только в РФ, но и в территориально и социально близких высокоэндемичных по вирусному гепатиту странах.

Определение генотипов и субтипов ВГВ и ВГД важно для лучшего понимания эпидемиологических и вирусологических особенностей заболевания, а также предоставляет дополнительную информацию для принятия решения о выборе тактики противовирусной терапии.

Целью нашей работы было изучение особенностей генетической структуры сочетанной инфекции ХВГВ+D в гиперэндемичном по вирусному гепатиту регионе Кыргызстана.

Материалы и методы

Исследование было одобрено комитетом по этике Санкт-Петербургского ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

В работе были использованы образцы плазмы крови 30 больных с верифицированным вирусным гепатитом В и гепатитом D, полученные от коренных жителей Кыргызстана.

Для первичного выявления ВГВ и ВГД из плазмы крови выделяли нуклеиновые кислоты (НК) с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Для всех образцов проводили предварительное концентрирование вируса ультрацентрифугированием плазмы крови в течение 1 ч при 24 000g, +4°C. Обратную транскрипцию для ВГД проводили на неспецифичных праймерах с использованием коммерческого набора реагентов «Реверта-Л» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва) для синтеза первой цепи кДНК согласно инструкции производителя. Реакцию останавливали нагреванием в течение 5 мин при 70°C. Анализ присутствия вируса проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с помощью наборов «АмплиСенс® HBV-FL», «АмплиСенс® HDV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва) соответственно.

Для углубленного анализа ВГВ проводили выделение ДНК из плазмы крови в соответствии с методикой, приведенной в руководстве Самбрук и др. с некоторыми модификациями [29].

Выделение РНК ВГД из крови проводили методом гуанидин тиоцианат-фенол-хлороформной экстракции с использованием тризола (TRIzol® Reagent, Invitrogen, США) в соответ-

ствии с измененным нами протоколом методики Хомчинского и др. [13].

Для ПЦР в общем виде использовали следующий состав амплификационной смеси: 15 пМ каждого олигопраймера, 1,0 мМ каждого нуклеозидтрифосфата, 6,7 мМ MgCl₂, 1 ед. рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (Fermentas), буфер для Taq ДНК-полимеразы (750 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 200 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,1% (v/v) твин 20), 10% DMSO, 1 мкг матрицы, вода без нуклеаз до конечного объема 25 мкл. Амплификацию в общем виде проводили при следующих условиях: после денатурации при 95°C в течение 5 мин устанавливали 30–40 циклов амплификации в режиме: 95°C — 20–40 с; 55–65°C — 20–30 с; 72°C — 30–90 с; затем финальная элонгация при 72°C — 5 мин. Качество ПЦР определяли визуально в 2% агарозном геле (120 В, 40 мин; 1 × TBE), окрашенном бромистым этидием.

Для амплификации, секвенирования и детекции продукта использовали специфические праймеры (Синтол, Россия), последовательность которых брали из литературных источников, а также подбирали с помощью программы NCBI/Primer-BLAST согласно общепринятым рекомендациям.

Для ВГВ использовали перекрывающиеся пары праймеров, совместно фланкирующие фрагмент протяженностью 1475 пар оснований (п.о.), включающий рекомендованный для генотипирования ВГВ регион Pre-S1/Pre-S2/S протяженностью 1169 п.о., область 2848–3182...1–835 нт, согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту Mart-B47 (HE974377.1) [10].

Для ВГД использовали праймеры, фланкирующие фрагмент кДНК гипервариабельного участка гена, кодирующего дельта-антиген, длиной 397 нт, с 890 по 1287 нт, согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту (X04451) [21].

Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору GenomeLab™ DTCS — Quick Start Kit (Beckman Coulter Inc., США), в трех повторях, на прямых и обратных праймерах. Реакционная смесь для секвенирующей реакции включала: DTCS Quick Start Master Mix (8 мкл), прямой или обратный праймер (1,6 мкМ), очищенный продукт амплификации (объем зависел от концентрации), воду до конечного объема 20 мкл. Постановку реакции осуществляли на термоциклере BIO-RAD CFX384 в режиме: 30 циклов амплификации 96°C — 20 с; 50°C — 20 с; 60°C — 4 мин.

Продукты первичной амплификации и секвенирующей реакции очищали по следующей методике: смесь из 2 мкл 3М ацетата натрия, 2 мкл 0,125М EDTA и 1 мкл гликогена вносили в 20 мкл продукта амплификации и инкубировали при комнатной температуре в присутствии охлажденного 96% этилового спирта 15 мин.

Центрифугировали при 14 000 об./мин, 4°C, 15 мин. Супернатант удаляли и дважды промывали осадок охлажденным 70% этиловым спиртом, повторяя процедуру центрифугирования на холоде. Промытый осадок сушили.

Для контроля качества очищения продуктов амплификации осадок растворяли в 30 мкл воды и проводили оценку в 1,5% агарозном геле с добавлением раствора бромистого этидия (0,5 мкг/мл), визуализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе. Очищенный фрагмент достаточной концентрации использовали для постановки секвенирующих реакций.

Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок растворяли в SLS-буфере, содержащем формамид, и помещали в генетический анализатор GenomeLab GXp (Beckman Coulter).

Первичный анализ полученных в ходе секвенирования фрагментов проводили с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA версия 5, используя алгоритм ClustalW [19]. Поскольку для всех выбранных для секвенирования регионов вирусных гепатитов показана высокая скорость эволюции, для построения филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа рассматривали расстояния между последовательностями методом присоединения соседей, позволяющим оптимизацию дерева в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции» (Neighbor-joining), для оценки достоверности построенных деревьев проведен бутстреп (bootstrap) анализ для 500 повторов [28].

Результаты

Во всех 30 образцах ВГВ был выявлен. Для всех выявленных вирусов была получена нуклеотидная последовательность Pre-S1/Pre-S2/S региона удовлетворительного качества, пригодная для дальнейшего анализа. Для всех образцов были определены генотип и субтип. На основании филогенетического анализа 30 изолятов показано, что среди обследованных больных выявлен только генотип D, являющийся наиболее распространенным генотипом ВГВ в Центральной Азии. При этом преобладает ВГВ субтипа D1 (73,34%) по сравнению с ВГВ субтипа D2 (3,33%) и субтипа D3 (23,33%) (рис. 1).

При анализе последовательностей фрагмента процент нуклеотидной идентичности в группе составил $98,06 \pm 0,5\%$.

Ранее, при исследовании этой группы на ВГД, был выявлен только ВГД наиболее распространенного в мире генотипа I [6]. Однако в связи с некоторым расширением группы, а также для

совместного рассмотрения с ВГВ был проведен дополнительный анализ последовательностей ВГД (рис. 2).

Обсуждение

Показано, что половая принадлежность не является значимым фактором для распределения субтипов ВГВ в исследованной группе, в отличие от Центральной Африки, где преобладает распространенность ВГВ и ВГД у детей женского пола в первые 10 лет жизни, а у лиц мужского пола — в возрасте 11–20 лет [17]. Вероятнее всего, причиной этого отличия является значительно более развитое санитарное просвещение в Азии по сравнению с Центральной Африкой, так как исследователи показывали преимущественную внутрисемейную передачу вирусов между детьми через различные жидкости тела, что, по всей видимости, не характерно для более развитых стран.

Мы не выявили в распределении субтипов связи с географическими регионами. Так, например, пациенты с ВГВ субтипа D3, внутригрупповой процент нуклеотидной идентичности которых составил более 98,71%, происходили

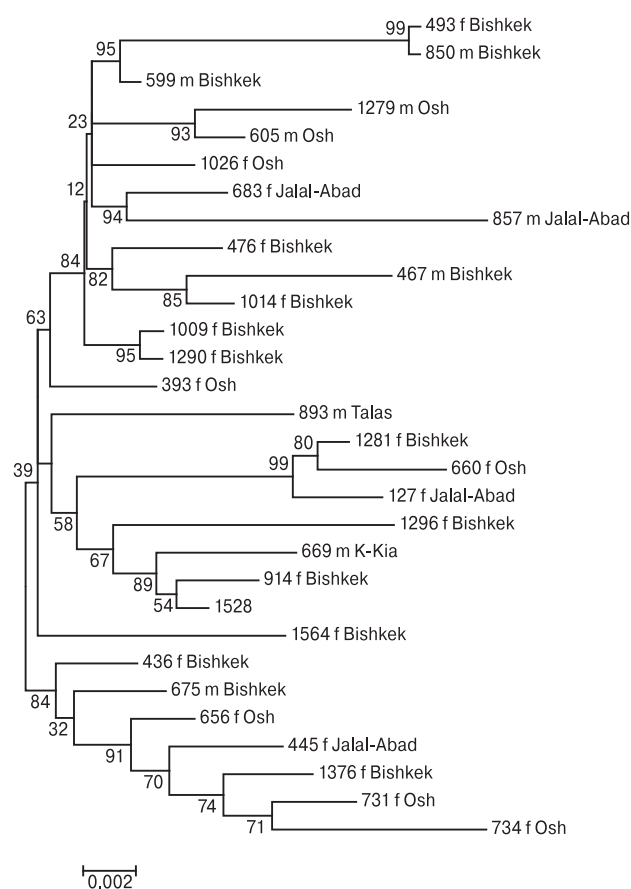


Рисунок 1. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ, выделенных от пациентов с ХВГВ+D из разных регионов Кыргызстана

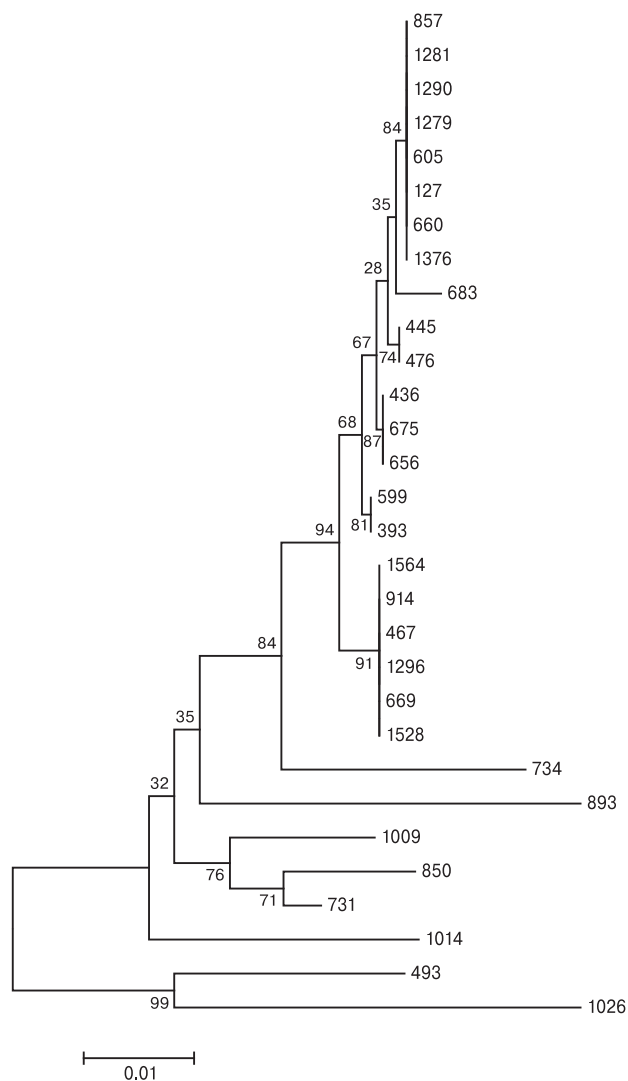


Рисунок 2. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГD, выделенных от пациентов с ХВГВ+D из разных регионов Кыргызстана

из разных регионов республики: Бишкека, Оша, Джалал-Абада. Это подтверждает связь распространенности тех или иных генотипов и/или субтипов в различных группах с путями передачи, а не с географической близостью регионов.

Несмотря на то, что ранее несколько исследовательских групп в Средней Азии выявляли не только ВГВ генотипа D, но также и генотипы A и C, распространенность тех или иных генотипов в отдельных странах и регионах этого ареала мало изучена. Генотипирование и глубокое субтипирование изолятов ВГВ в Кыргызстане проведено впервые в данной работе.

Как известно, ВГВ генотипа D широко распространен во всем мире, при этом субтипы D1–D3 в той или иной степени встречаются повсеместно. Эпидемиологически история эволюции D-генотипа и его субтипов по-прежнему неясны из-за недостаточности соответствующих исследований. Однако некоторые ученые считают

Центральную Азию наиболее вероятным регионом происхождения общего предка ВГВ субтипов D1–D3, впоследствии распространившихся в Европу и Средиземноморье [34].

Существенной причиной для исключительного преобладания в исследованной нами группе ВГВ генотипа D может являться вакцинация населения. Представленные в группе пациенты не делали прививок против ВГВ и, вероятнее всего, были инфицированы преимущественно горизонтальным путем передачи вируса, тогда как ранее было показано, что после введения вакцинации в Средней Азии четко разделились пути передачи вируса и его генотипы. То есть ВГВ генотипа C передавался только перинатальным путем, в то время как генотип D у не привитых людей распространялся горизонтально [8].

Говоря о путях заражения, следует отметить, что, согласно представленной дендрограмме, выделяются три кластера происхождения вируса. При этом ВГВ характерного для Центральной Азии субгенотипа D1 имеет не только более широкое распространение, но и несколько независимых источников инфицирования. При анализе последовательностей общей группы изолятов субтипа D1 процент идентичности нуклеотидов составил $98,18 \pm 0,4\%$, однако процент идентичности был выше, а количество нуклеотидных модификаций меньше при изолированной оценке идентичности кластеров D1.

Обращает на себя внимание группа, включающая образцы 436, 445, 656, 675, 731, 734, 1376, так как, несмотря на разные географические регионы, очевиден общий инфекционный предок. При этом образцы 731 и 734 являют собой, вероятнее всего, случай вертикальной передачи вируса от матери к дочери. Подтверждают это предположение выявленные в нуклеотидных последовательностях различия, суммарно составившие 13 нуклеотидных замен, которые, учитывая скорость мутирования, не могли бы появиться при сравнительно недавней внутрисемейной горизонтальной передаче вируса. Тем не менее, в данном случае такой вариант мы не можем исключить. Косвенным подтверждением нашего предположения является семейный анамнез, согласно которому все пятеро детей пациентки (образец 731) больны ХВГВ. Интересно отметить, что из всех детей только у двоих выявлен ВГD, при этом при анализе нуклеотидной идентичности ВГD образцов 731 и 734 сходство составило 95%. Таким образом, в то время как ВГВ в семье передавался вертикальным путем, ВГD в данной социальной ячейке появился значительно позже, и не исключено, что из независимых источников.

Еще один семейный случай инфицирования, представленный в нашей работе, свидетельствует о сравнительно недавнем горизонтальном переносе ВГВ между партнерами, так как при анализе нуклеотидных последователь-

ностей образцов 493 (жена) и 850 (муж) процент идентичности составил 99% при единственной однонуклеотидной замене. При этом инфицирование ВГД более позднее и из независимых источников — нуклеотидная идентичность последовательности ВГД образцов 493 и 850 составила 93%.

В отличие от субтипа D1, для ВГВ субтипа D3 показано преимущественное распространение с инъекционными наркотиками [30]. При анализе последовательностей изолятов субтипа D3 процент идентичности нуклеотидов составил 98,71%. Наше предположение о возможном пути заражения подтверждается не только очевидным происхождением вируса от общего источника, согласно дендрограмме, но и косвенно подтверждается разделением ВГД в данной группе на две подгруппы, соответствующие подгруппам ВГВ D3 (рис. 2). Почти все пациенты из данной группы социально обеспеченные женщины, что, казалось бы, противоречит предположению о заражении в среде употребляющих наркотики. Однако по некоторым

данным, в настоящее время возраст большего числа наркоупотребляющих в Кыргызстане составляет около 30–45 лет, большинство из них дети обеспеченных родителей, инфицированные на рубеже XX–XXI вв., когда употребление инъекционных наркотиков получило широкое распространение в странах бывшего СССР. При этом показано, что смертность женщин среди употребляющих инъекционные наркотики значительно выше, чем мужчин [33]. По всей видимости, ВГД в среде употребляющих наркотики в данном регионе появился сравнительно недавно и, судя по кластеризации, из близких эндемичных источников, что не позволяет исключить вероятность по крайней мере вторичного инфицирования в медицинских учреждениях Кыргызстана.

Выявление близких по нуклеотидному составу изолятов в пределах субтипа у больных из разных географических регионов может означать общее происхождение изолятов, а также свидетельствовать о поздних эпидемиологических связях.



Рисунок 3. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ генотипа D из Кыргызстана, проанализированных в настоящем исследовании в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank последовательностями ранее полученных изолятов ВГВ

При сравнительном филогенетическом анализе изолятов ВГВ генотипа D, выявленных в нашей работе, и изолятов из Средней Азии и других стран, представленных в международной базе данных GenBank, становится очевидно, что и среди изолятов D1, и среди изолятов D3 происходит разделение на группы (рис. 3).

При этом для одной из групп сходные по нуклеотидному составу изоляты обнаруживаются на обширных территориях, а высокое сходство изолятов с описанными в международной базе данных образцами, характерными для Монголии, Судана, Китая могут свидетельствовать о многочисленных независимых завозах патогена, в том числе в ходе крупных миграционных волн из этого обширного региона на территорию Центральной Азии в целом и на территорию Кыргызстана в частности. Другая группа представлена изолятами, практически не показанными где бы то ни было ранее, что, по всей видимости, демонстрирует независимую гомологичную эволюцию вируса в данном регионе.

Полученные данные о единовременности циркуляции занесенных из различных источников патогенов и изолятов, характерных только для данного региона, являются генетическим и эпидемиологическим свидетельством не только высокой эндемичности региона по ВГВ и ВГД, но и существования особых путей передачи гиперэндемичных изолятов ВГВ, распространенных в разных городах Кыргызстана, и по каким-то причинам не выходящих за пределы данного сравнительно закрытого географического ареала.

Единственный выявленный в нашем исследовании изолят ВГВ субтипа D2 образец 893 представляет собой интересный случай завоза. При первичном анализе выявление практически не встречающегося в Центральной Азии субтипа D2, а также изолированность от остальных образцов не только ВГВ, но и ВГД данного образца, было высказано предположение о завозе изолята с территории РФ. Однако при дальнейшем анализе было показано относительное сходство образца не только с изолятами, описанными на территории РФ, но и с ранее обнаруженным в Таджикистане. Учитывая упоминавшиеся ранее высокие частоты распространяемости гепатотропных вирусов в ходе миграций, в том числе так называемых «трудовых миграций», представляется очевидным завоз вируса извне. Однако, учитывая низкую распространенность ВГВ субтипа D2 в Центральной Азии и, напро-

тив, высокую в РФ, — мы, вероятно, имеем дело с «обратным» завозом, и не можем исключить возможность «опосредованного» завоза. Тем не менее, данный случай подтверждает необходимость дальнейших молекулярно-эпидемиологических исследований ВГВ и ВГД не только в РФ, но и в странах ближнего зарубежья для выявления путей инфицирования.

Следует отметить, что, несмотря на уже упоминавшееся выше предположение о значимости уровня РНК ВГД выше 600 000 копий/мл для предсказания развития тяжелой патологии печени, при разделении исследованной нами группы по вирусной нагрузке ВГД, не было выявлено корреляции между уровнем РНК ВГД, состоянием печени больных и субтипами ВГВ и/или ВГД. Однако, согласно данным других исследователей, сочетанная инфекция ВГВ + ВГД повышает риск развития повреждения печени по сравнению с моноинфекцией ВГВ, независимо от уровня вирусной нагрузки [16].

Возможно, это объясняется тем, что, независимо от наличия ко- или суперинфекции с ВГД, ВГВ генотипа D в целом коррелирует с более тяжелыми заболеваниями печени, и более высоким уровнем лекарственной устойчивости по сравнению с другими генотипами этого вируса [23]. При этом для субтипа D1 характерна низкая вирусная нагрузка и ранняя сероконверсия HBeAg, что может создавать проблемы для своевременного выявления вируса у пациентов и, в свою очередь, приводит к развитию более тяжелого заболевания печени и, несомненно, усугубляется наличием ВГД [25].

Заключение

Выявление особенностей распространения и роль эндемичности в циркуляции определенных генотипов сочетанной инфекции ВГВ + ВГД имеют существенное значение как для регионов РФ, так и для наших ближайших соседей, где распространенность гепатотропных вирусов высока, а структура генома и пути их распространения недостаточно изучены.

Масштабный скрининг ВГВ и ВГД в Центральной Азии позволило бы оценить пути распространения и время эволюционного разделения изолятов вируса. Понимание эпидемиологии инфекционного процесса важно для разработки программ по профилактике и лечению инфекции.

Список литературы/References

1. Иванова Л.Ю. Информированность трудовых мигрантов из разных регионов об опасных инфекционных заболеваниях: ВИЧ, ИППП, туберкулез, гепатит (на материалах опроса иностранных работников в Санкт-Петербурге // Социальные аспекты здоровья населения. 2015. Т. 4, № 44. [Ivanova L.Yu. Awareness of labor migrants from different regions about dangerous infectious diseases: HIV, STID, tuberculosis, hepatitis (based on survey of foreign workers in St. Petersburg). *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya = Social Aspects of Public Health*, 2015, vol. 4, no. 44. (In Russ.)]. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/702/30/lang.ru>

2. Мукомолов С.Л., Михайлов М.И. Применение иммуноглобулина против гепатита В для профилактики этой инфекции // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2014. № 1. С. 47–54. [Mukomolov S.L., Mikhailov M.I. Use of immunoglobulin against hepatitis B to prevent this infection. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Russian Journal of Epidemiology and Infectious Diseases. Topical issues*. 2014, no. 1, pp. 47–54. (In Russ.)]
3. Мукомолов С.Л., Левакова И.А. Эпидемиологическая характеристика хронических вирусных гепатитов в Российской Федерации в 1999–2009 гг. // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 3. С. 255–262. [Mukomolov S.L., Levakova I.A. Epidemiological characteristics of chronic viral hepatitis in the Russian Federation in 1999–2009. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 3, pp. 255–262. doi:10.15789/2220-7619-2011-3-255-262 (In Russ.)]
4. Нечаев В.В., Мукомолов С.Л., Назаров В.Ю., Пожидаева Л.Н., Чахарьян В.В. Хронические вирусные гепатиты: прошлое, настоящее, будущее // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2013. № 3. С. 4–10. [Nechaev V.V., Mukomolov S.L., Nazarov V.Yu., Pozhidaeva L.N., Chakhar'yan V.V. Chronic viral hepatitis: past, present, future. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Russian Journal of Epidemiology and Infectious Diseases*, 2013, vol. 3, pp. 4–10. (In Russ.)]
5. Ногойбаева К.А., Тобокалова С.Т., Касымбекова К.Т., Заирова Г.М. Динамика заболеваемости хроническим гепатитом В в форме моноинфекции и в сочетании с гепатитом D в Кыргызской Республике за период 2010–2012 гг. // Казанский медицинский журнал. 2014. Т. 95, № 6. С. 921–924. [Nogoybaeva K.A., Tobokalova S.T., Kasymbekova K.T., Zairova G.M. Trends for incidence of chronic hepatitis B monoinfection and chronic hepatitis B+D co-infection in the Kyrgyz Republic for the period of 2010–2012. *Kazanskii meditsinskii zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2014, vol. 95, no. 6, pp. 921–924. (In Russ.)]
6. Останкова Ю.В., Ногойбаева К.А., Семенов А.В., Тотолян Арег А. К вопросу о молекулярной эпидемиологии гепатита D в Кыргызстане // Медицинский академический журнал. 2015. Т. 15, № 2. С. 73–78. [Ostankova Yu.V., Nogoybaeva K.A., Semenov A.V., Totolian A.A. On molecular epidemiology of hepatitis D in Kyrgyzstan. *Meditsinskii akademicheskii zhurnal = Medical Academic Journal*, 2015, vol. 15, no. 2, pp. 73–78. (In Russ.)]
7. Семенов А.В. Распространенность серонегативного гепатита D среди пациентов с хроническим вирусным гепатитом В // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012. № 6. С. 106–109. [Semenov A.V. Prevalence of seronegative hepatitis D among patients with chronic viral hepatitis B. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2012, no. 6, pp. 106–109. (In Russ.)]
8. Avazova D., Kurbanov F., Tanaka Y., Sugiyama M., Radchenko I., Ruziev D., Musabaev E., Mizokami M. Hepatitis B virus transmission pattern and vaccination efficiency in Uzbekistan. *J. Med. Virol.*, 2008, vol. 80, no. 2, pp. 217–224. doi: 10.1002/jmv.21035
9. Bissinger A.L., Fehrl C., Werner C.R., Lauer U.M., Malek N.P., Berg C.P. Epidemiology and genotyping of patients with chronic hepatitis B: genotype shifting observed in patients from Central Europe. *Pol. J. Microbiol.*, 2015, vol. 64, no. 1, pp. 15–21.
10. Brichler S., Lagathu G., Chekaraou M.A., Le Gal F., Edouard A., Dény P., Césaire R., Gordien E. African, amerindian and european hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique. *J. Gen. Virol.*, 2013, vol. 94, no. 10, pp. 2318–2329. doi: 10.1099/vir.0.055459-0
11. Casey J.L., Brown T.L., Colan E.J., Wignall F.S., Gerin J.L. A genotype of hepatitis D virus that occurs in northern South America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, no. 19, pp. 9016–9020.
12. Chien R.N., Chiu K.W., Chu C.M., Liaw Y.F. Acute hepatitis in HBsAg carriers: comparisons among clinical features due to HDV superinfection and other etiologies. *Chinese J. Gastroenterol.*, 1991, vol. 8, pp. 8–12. doi: 10.1016/S0168-8278(02)00419-1
13. Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat. Protoc.*, 2006, vol. 1, no. 2, pp. 581–585. doi:10.1038/nprot.2006.83
14. Erhardt A., Blondin D., Hauck K., Sagir A., Kohnle T., Heintges T., Haussinger D. Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut*, 2005, vol. 54, pp. 1009–1013. doi: 10.1136/gut.2004.060327
15. Fattovich G., Giustina G., Christensen E., Pantalena M., Zagni I., Realdi G., Schalm S.W. Influence of hepatitis delta virus infection on morbidity and mortality in compensated cirrhosis type B. The European concerted action on viral hepatitis (Eurohep). *Gut*, 2000, vol. 46, no. 3, pp. 420–426. doi: 10.1136/gut.46.3.420
16. Fouad R., Abdo M., Gamal E.H., Sabry D., Atef M., Ahmed R., Zayed N. Influence of delta virus infection on the virologic status in Egyptian patients with chronic hepatitis B virus genotype D. *J. Med. Virol.*, 2016, vol. 88, no. 5, pp. 837–842. doi: 10.1002/jmv.24412
17. François-Souquière S., Makuwa M., Bisvigou U., Kazanji M. Epidemiological and molecular features of hepatitis B and hepatitis delta virus transmission in a remote rural community in central Africa. *Infect. Genet. Evol.*, 2015, vol. 39, pp. 12–21. doi: 10.1016/j.meegid.2015.12.021
18. Gheorghe L., Csiki I.E., Iacob S., Gheorghe C., Trifan A., Grigorescu M., Motoc A., Suceveanu A., Curescu M., Caruntu F., Sporea I., Brisc C., Rogoveanu I., Cerban R., Tugui L., Alexandrescu A. Hepatitis Delta virus infection in Romania: prevalence and risk factors. *J. Gastrointest. Liver Dis.*, 2015, vol. 24, no. 4, pp. 413–421. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.244.dtv
19. Higgins D.G., Bleasby A.J., Fuchs R. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *Comput. Appl. Biosci.*, 1992, vol. 8, no. 2, pp. 189–191.
20. Kato H., Ruzibakiev R., Yuldasheva N., Hegay T., Kurbanov F., Achundjanov B., Tuichiev L., Usuda S., Ueda R., Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes in Uzbekistan and validity of two different systems for genotyping. *J. Med. Virol.*, 2002, vol. 67, no. 4, pp. 477–483. doi: 10.1002/jmv.10126
21. Kawakami J., Kumar P.K., Suh Y.A., Nishikawa F., Kawakami K., Taira K., Ohtsuka E., Nishikawa S. Identification of important bases in a single-stranded region (SSrC) of the hepatitis delta (delta) virus ribozyme. *Eur. J. Biochem.*, 1993, vol. 217, no. 1, pp. 29–36. doi: 10.1111/j.1432-1033.1993.tb18214.x
22. Khan A., Kurbanov F., Tanaka Y., Elkady A., Sugiyama M., Dustov A., Mizokami M. Epidemiological and clinical evaluation of hepatitis B, hepatitis C, and delta hepatitis viruses in Tajikistan. *J. Med. Virol.*, 2008, vol. 80, no. 2, pp. 268–276. doi: 10.1002/jmv.21057

23. Khedive A., Saneji-Moghaddam I., Alavian S.M., Saberfar E., Norouzi M., Judaki M., Ghamari S., Jazayeri S.M. Hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) mutations are rare but clustered in immune epitopes in chronic carriers from Sistan-Balouchestan Province, Iran. *Arch. Iran Med.*, 2013, vol. 16, no. 7, pp. 385–389. doi: 10.13167/AIM.005
24. Mokdad A.A., Lopez A.D., Shahrzad S., Lozano R., Mokdad A.H., Stanaway J., Murray C.J., Naghavi M. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Med.*, 2014, vol. 12, e:145. doi: 10.1186/s12916-014-0145-y.
25. Ozaras R., Inanc B.I., Yemisen M., Tabak F. Epidemiology of HBV subgenotypes D. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, 2015, vol. 39, no. 1, pp. 28–37. doi: 10.1016/j.clinre.2014.06.005
26. Romeo R., Foglieni B., Casazza G., Spreafico M., Colombo M., Prati D. High serum levels of HDV RNA are predictors of cirrhosis and liver cancer in patients with chronic hepatitis delta. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 3, e92062. doi: 10.1371/journal.pone.0092062
27. Romeo R., Perbellini R. Hepatitis delta virus: making the point from virus isolation up to 2014. *World J. Hepatol.*, 2015, vol. 7, no. 22, pp. 2389–2395. doi: 10.4254/wjh.v7.i22.2389
28. Saitou N., Nei M. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 1987, vol. 4, no. 4, pp. 406–425.
29. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 2230 p.
30. Stanojević B., Osioy C., Schaefer S., Bojović K., Blagojević J., Nešić M., Yamashita S., Stamenković G. Molecular characterization and phylogenetic analysis of full-genome HBV subgenotype D3 sequences from Serbia. *Infect. Genet. Evol.*, 2011, vol. 11, no. 6, pp. 1475–1480. doi: 10.1016/j.meegid.2011.05.004
31. Tallo T., Tefanova V., Priimagi L., Schmidt J., Katargina O., Michailov M., Mukomolov S., Magnius L., Norder H. D2: major subgenotype of hepatitis B virus in Russia and the Baltic region. *J. Gen. Virol.*, 2008, vol. 89, no. 8, pp. 1829–1839. doi: 10.1099/vir.0.83660-0
32. Yuen M.F., Lai C.L. Hepatitis B virus genotypes: natural history and implications for treatment. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2007, vol. 1, no. 2, pp. 321–328. doi: 10.1586/17474124.1.2.321
33. Zabransky T., Mravcic V., Talu A., Jasaitis E. Post-Soviet Central Asia: a summary of the drug situation. *Int. J. Drug. Policy*, 2014, vol. 25, no. 6, pp. 1186–1194. doi: 10.1016/j.drugpo.2014.05.004
34. Zehender G., Shkjezi R., Ebranati E., Gabanelli E., Abazaj Z., Tanzi E., Kraja D., Bino S., Ciccozzi M., Galli M. Reconstruction of the epidemic history of hepatitis B virus genotype D in Albania. *Infect. Genet. Evol.*, 2012, vol. 12, no. 2, pp. 291–298. doi: 10.1016/j.meegid.2011.11.009

Авторы:

Семенов А.В., к.б.н., зав. лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; доцент кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Останкова Ю.В., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Ногойбаева К.А., к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней, дерматовенерологии, ВИЧ/СПИД Киргизского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика;

Касымбекова К.Т., д.м.н., зав. кафедрой эпидемиологии Кыргызского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика;

Лаврентьева И.Н., д.м.н., зав. лабораторией детских вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Тобокалова С.Т., д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней, дерматовенерологии, ВИЧ/СПИД Киргизского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика;

Тотоян А.А., член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Semenov A.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Virology and Immunology HIV, St. Petersburg Pasteur Institute; Associate Professor, Pavlov First St. Petersburg State Medical University; Associate Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Ostankova Ju.V., Researcher, Laboratory of Molecular Immunology and Seroepidemiology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Nogoybaeva K.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Dermatology, HIV/AIDS, Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Skills, Bishkek, Kyrgyz Republic;

Kasymbekova K.T., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Centre of Molecular-Genetic and Microbiological Investigations, Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Skills, Bishkek, Kyrgyz Republic;

Lavrentieva I.N., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Childhood Virus Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Tobokalova S.T., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Dermatology, HIV/AIDS, Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Skills, Bishkek, Kyrgyz Republic;

Totolian Areg A., Corresponding Member of RAS, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology and Seroepidemiology, St. Petersburg Pasteur Institute; Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ТРОПИЧЕСКОЙ МАЛЯРИЕЙ В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

М.И. Буаро¹, С. Бумбали¹, О.К. Константинов¹, С. Каливоги¹, М. Кулибали², А.С. Ба¹

¹ Институт Пастера Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика

² Международный исследовательский центр тропических инфекций (CIRIT), г. Н'Зерекоре, Гвинейская Республика

Резюме. Малярия в Гвинейской Республике — основная причина заболеваемости и смертности. По обращаемости в медицинские учреждения она занимает первое место (30–40% от всех обращений) и является основной причиной смерти в больницах. Ежегодно регистрируется до 8 640 000 случаев заболевания и около 60 000 смертей из-за малярии среди детей. В статье представлены результаты изучения изменений показателей иммунитета на разных стадиях заболевания малярией при лечении местного населения с одной стороны, и иммунный статус европейцев на фоне лечения препаратами хлорокина — с другой. Показано, что иммунный статус (клеточный и гуморальный иммунитет) населения Гвинеи, эндемичной по малярии, отличается от иммунитета европейцев, временно проживающих в тропиках. При легком течении малярии отмечается нарастание числа Т-лимфоцитов и количества иммуноглобулинов IgG, тогда как при тяжелых формах малярии отмечено резкое снижение этих показателей. Существенное увеличение числа В-лимфоцитов происходит вне зависимости от лечения малярии и не зависит от тяжести заболевания. Отмечено также, что появление антител LSA1-41 происходило в большей степени у взрослых по сравнению с детьми. У взрослых пациентов и у детей установлена положительная корреляция между иммуноглобулинами IgM и IgG.

Ключевые слова: тропическая малярия, *Plasmodium falciparum*, антитела, иммуноглобулины, Гвинея.

INDICES OF IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS OF FALCIPARUM MALARIA IN REPUBLIC OF GUINEA

Boiro M.Y.^a, Boumbali S.^a, Konstantinov O.K.^a, Kalivogui S.^a, Koulibali M.^b, Bah A.C.^a

^a Pasteur Institute of Guinea, Kindia, Republic of Guinea

^b International Research Center of Tropical Infections, Nzerekore, Republic of Guinea

Abstract. Malaria in the Republic of Guinea is the main cause of morbidity and lethality. It takes the first place in number of all visits in medical service (30–40%) and is the main cause of hospital death. One records annually more than 8 millions malaria cases, and about 60 000 children deaths. Results of study of immune response changing on different disease phases in treatment of autochthon population and immune status of Europeans are presented. It was shown that immunity status (cellular and humoral) in population of Guinea (an endemic country on falciparum malaria) differs from one in Europeans living in tropics. During light forms of malaria one records an increase of T-lymphocyte and IgG number, whereas in grave cases one observed the acute decrease of these indices. The essential increase of B-lymphocyte number does not depends from gravity of disease and from malaria treatment. It was established that appearance of LSA1-41 antibodies was in a more degree in adult patients than in children. The positive correlation between IgM and IgG was established in adult patients as in children.

Key words: falciparum malaria, antibodies, immunoglobulins, Republic of Guinea.

Адрес для переписки:

Константинов Олег Константинович
Республика Гвинея, г. Киндия, ПЯ 146, Институт Пастера Гвинеи.
Тел.: (224) 655-09-88-33.
E-mail: olegkonst@mail.ru

Contacts:

Oleg K. Konstantinov
Republic of Guinea, Kindia, BP146, Pasteur Institute of Guinea.
Phone: (224) 655-09-88-33.
E-mail: olegkonst@mail.ru

Библиографическое описание:

Буаро М.И., Бумбали С., Константинов О.К., Каливоги С., Кулибали М., Ба А.С. Показатели иммунитета у больных тропической малярией в Гвинейской Республике // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 151–156. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-151-156

© Буаро М.И. и соавт., 2016

Citation:

Boiro M.Y., Boumbali S., Konstantinov O.K., Kalivogui S., Koulibali M., Bah A.C. Indices of immune response in patients of falciparum malaria in Republic of Guinea // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 151–156. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-151-156

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2016-2-151-156>

Введение

Малярия — это трансмиссивное природно-очаговое паразитарное заболевание, вызываемое простейшими рода *Plasmodium*, которое характеризуется лихорадкой, эритроцитопатией и гемолизом. Переносится комарами рода *Anopheles*. Для стран тропического пояса Африки, Азии и Южной Америки малярия представляет серьезную проблему здравоохранения. Ежегодная заболеваемость малярией во всем мире составляет 300–500 млн случаев при летальности 1,5–2,7 млн случаев в год [21]. Экономические и социальные потери от этого заболевания в Африке оцениваются в размере 1,8 млрд долларов ежегодно [19]. В Гвинейской Республике малярия — основная причина заболеваемости и смертности. По обращаемости в медицинские учреждения она занимает первое место (30–40% от всех обращений) и является основной причиной больничной смертности. Ежегодно регистрируется до 8 640 000 случаев малярии и около 60 000 смертей из-за этого заболевания среди детей [16].

Основным переносчиком инфекции в Гвинее являются кровососущие комары подсемейства *Anophelinae* рода *Anopheles*: *A. gambiae*, *A. melas*, *A. funestus* и *A. nillii*. Среди 4-х видов возбудителя малярии человека — простейших рода *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax*, *P. malariae* — в Гвинее наиболее широко распространен первый вид, — *P. falciparum*, — возбудитель тропической малярии. Это также преобладающий вид паразита в тропическом поясе земного шара, вызывающий наиболее тяжелые формы заболевания [3]. Пятый вид паразита — *P. knowlesi*, близкий к *P. falciparum*, известный ранее как возбудитель малярии у обезьян, недавно обнаружен и у человека (Юго-Восточная Азия) [10]. Клиническая картина при первых приступах малярии характеризуется гастритными явлениями, лихорадкой, головной болью и миалгией. Иногда отмечается гепатомегалия; приступы отличаются периодичностью и включают следующие фазы: озноб, подъем температуры, падение температуры, обильное потоотделение [12]. Наблюдаются тяжелые (злокачественные) формы малярии, такие как: церебральная форма, почечная и печеночная недостаточности, спленомегалия, гепатомегалия, гипогликемия, желтуха, тяжелая анемия, отек легких, малярийная кома [12, 16, 20].

Важную роль в формировании иммунитета при малярии играют антитела, о чем свидетельствуют: гуморальный ответ на заражение с преобладанием IgM и IgG у местного населения эндемичных зон [18], профилактика заболевания путем пассивной сывороточной иммунизации неиммунного населения [14] и защита ребенка в течение первых 6 месяцев жизни материнскими антителами [8]. Приобретенный противо-малярийный иммунитет формируется медлен-

но; он неполный, нестерильный, нестабильный и может быстро исчезнуть. Он возникает лишь при регулярном повторном заражении. Иммунитет состоит из 2-х основных компонентов: клеточного и гуморального. Антигены на стадии развития паразита в печени LSA-1-41 (Liver Stage Antigen) провоцируют продукцию Т-лимфоцитов IFN γ [17].

Целью работы было:

- определить иммунный статус здорового населения Гвинеи (при отсутствии национальных норм);
- оценить ряд параметров иммунитета у больных малярией среди местного и европейского населения;
- подсчитать общее количество IgM, IgG anti-LSA-1-41;
- определить соотношение между уровнем IgM и IgG anti-LSA-1-41 и уровнем паразитемии.

Материалы и методы

Краткая физико-географическая и социально-экономическая характеристика Гвинеи. Гвинея расположена в центре Западной Африки. Ее площадь составляет 245 857 кв. км. Часть ее территории, протяженностью 320 км, выходит на побережье Атлантического океана. Различают 4 физико-географические области [1]: Нижняя (Приморская) Гвинея, Верхняя Гвинея — горный массив Фута-Джаллон, Верхняя Гвинея — приподнятые равнины бассейна реки Нигер, и Лесная Гвинея — гористая местность, покрытая остатками дождевых тропических лесов. Численность населения Гвинеи, по данным переписи 2014 г., составляет 10 500 000 жителей. По сравнению с 1996 г. она возросла в 1,5 раза. Плотность населения — 42,7 чел. на 1 кв. км. Территории с наибольшей плотностью населения расположены вдоль атлантического побережья (максимальна она в столице, г. Конакри) и в Лесной Гвинее на юго-востоке страны. Средняя продолжительность жизни составляет 53,9 года. Обеспеченность медицинской помощью низка: на 100 тыс. населения приходится 11 врачей. В административном плане страна делится на 8 крупных областей и 33 префектуры. В каждой области имеется областная больница, а в каждой префектуре — больницы префекторального уровня. В столице, помимо частных больниц, находится крупнейший в стране национальный университетский госпиталь «Донка».

Пациенты. Первый этап работ поведен в 2007–2010 гг. Обследовали 299 пациентов, больных малярией, из которых было 157 гвинейцев и 41 европеец. 101 человек служил контролем, из которых 51 гвинеец и 50 европейцев. Единственным биоматериалом была кровь пациентов. В качестве контроля взяты люди, не болевшие за послед-

ние 3 месяца никакими бактериальными и паразитарными инфекциями, эндемичными для Гвинеи. Для наблюдения за динамикой показателей иммунитета кровь брали 3 раза. Первый — во время первого обращения к врачу до начала лечения; второй — на 2–3-й день болезни (или лечения); третий — на 7–10-й день после начала лечения, либо на 3–6-й день после химиотерапии хинином.

Второй этап исследования проводили в 2011–2014 гг. Целью его было оценить содержание IgM и IgG anti-LSA-1-41 и выявить соотношение этих показателей и уровня паразитемии. Эта группа пациентов состояла из 144 больных малярией (без злокачественных форм). Среди них было 59 взрослых в возрасте ≥ 15 лет и 85 детей моложе 15 лет.

Отбор проб. Каждая проба крови разделялась на 2 части. Первая использовалась для гематологических исследований, вторую центрифугировали при 2000 об./мин в течение 10 мин. Полученную плазму хранили при -20°C в форме аликвоты — 500 мкл/мл.

Диагностика. Наличие паразитов определяли в толстой капле крови (окрашенной по методу Романовского–Гимзы) под микроскопом, мазок крови служил для определения вида *Plasmodium*. Выявление антигенов на печеночной стадии (LSA-1-41) выполняли иммуноферментным методом (ELISA).

Результаты

Результаты работы представлены в таблицах 1–5. Из таблицы 1 следует, что устойчивость к возбудителю малярии у местного населения выше: 77,1% легких форм и 16,5% форм средней тяжести по сравнению с 12,2% легких форм и 82,2% форм средней тяжести у европейцев. В Гвинее, как и во всех африканских странах к югу от Сахары, иммунологических норм нет, поэтому данное исследование — это первая попытка их определения.

Представленные в таблице 2 результаты позволяют уточнить параметры иммунитета у больных малярией в Гвинее на основе сравнения с контролем.

При легкой форме малярии отмечена тенденция к увеличению количества Т-лимфоцитов, при тяжелом течении заболевания наблюдается его резкое падение (табл. 3).

Вместе с тем, соотношение Th/Ts при различной степени тяжести заболевания изменялось незначительно. Иммуноглобулины не столь подвержены воздействию болезни, особенно IgA. Более чувствительны IgM и особенно IgG, количество которых при средних и тяжелых формах достоверно снижается (табл. 4).

Данные таблицы 5 указывают на прямое «вмешательство» нейтрофилов в патогенез малярии.

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ ПО ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ МАЛЯРИИ

Степень тяжести	Местное население			Европейцы		
	Количество	%	Паразитемия	Количество	%	Паразитемия
Легкая форма	121	77,1	От 1–2 до 5–7 в 100 полях зрения	5	12,2	От 1–2 до 7–9 в 100 полях зрения
Средняя тяжесть	26	16,5	От 8–10 до 70–80 в 100 полях зрения	24	82,8	1–2 в 1 поле зрения
Тяжелая форма	10	6,4	80 и выше в 1 поле зрения	2	5,0	30 и выше в 1 поле зрения
Всего	157	100	–	31	100	–

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ

Показатели		Контрольные группы		Европейские нормы
		Гвинейцы (n = 51)	Европейцы (n = 50)	
Иммуноглобулины	IgA, г/л	1,73 \pm 0,05	1,71 \pm 0,01	2,2 \pm 0,2
	IgM, г/л	1,34 \pm 0,2	1,23 \pm 0,02	1,1 \pm 0,1
	IgG, г/л	13,52 \pm 1,35	21,52 \pm 0,27	12,5 \pm 2,5
Т-лимфоциты	%	52,2 \pm 1,1	50,6 \pm 1,0	55,2 \pm 1,2
	Клеток на 1 мл	1205 \pm 61,9	1223,4 \pm 61,1	1210,0 \pm 64,9
В-лимфоциты	%	30,8 \pm 0,59	31,8 \pm 1,3	17,1 \pm 1,1
	Клеток на 1 мл	698,9 \pm 28,4	699,8 \pm 41,6	320,0 \pm 25,5
Нулевые лимфоциты	%	30,5 \pm 0,9	17,6 \pm 1,1	18,0 \pm 1,2
	Клеток на 1 мл	406,2 \pm 29,2	390,0 \pm 32,3	245,6 \pm 26,4
Клеточные розетки	%	45,7 \pm 1,1	45,9 \pm 0,9	57,2 \pm 2,13
	Клеток на 1 мл	992,6 \pm 57,2	996,4 \pm 61,5	1199,2 \pm 64,7
Вспомогательные лимфоциты	% Т-хелперов (Th)	40,4 \pm 1,9	43,5 \pm 1,2	48,0 \pm 3,0
	% Т-супрессоров (Ts)	10,4 \pm 1,04	12,4 \pm 1,3	13,0 \pm 2,5
Соотношение	Th/Ts	3,9	3,5	3,7

Таким образом, у больных реакция иммунитета становится более заметной по сравнению с контролем. Наблюдалось присутствие нейтрофилов, число частичек латекса также существенно увеличивалось. Кроме того, латекс способствует увеличению числа активных лимфоцитов в 1,3 раза и указывает на способность нейтрофилов продуцировать бактерициды (свободные окисленные радикалы, пероксиды). В результате наблюдается резкий подъем титра пероксидов. Стадия заболевания и лечение малярии существенно не влияют на иммунный ответ больного. Наличие различий в уровне ответа антител против LSA-1-41 у взрослых и детей показано на рисунке 1, где видна амплитуда ответа антител у детей и взрослых. Иммунный ответ на уровне IgM у детей и взрослых отличается ($P = 0,029$): у детей количество этих иммуноглобулинов меньше. Кроме того, сравнение ответов IgM против LSA-1-41 указывает на значительное снижение амплитуды у взрослых ($P < 0,05$).

Необходимо было также найти связь между ответами IgG и IgM, чтобы выявить синхронизм этих двух иммуноглобулинов. Была установлена положительная корреляция между ответами IgG и IgM ($P < 0,001$, коэффициент корреляции $R = 0,82$) у взрослых и у детей ($P < 0,001$, $R = 0,78$) (рис. 2).

Обсуждение

Серологические методы не могут быть использованы для диагностики острых приступов малярии, так как выработка антител начинается лишь спустя некоторое время после появления паразитов в крови. Трудно также интерпрети-

ровать результаты серологического анализа. Действительно, присутствие специфических антител может указывать либо на развитие заболевания малярией в данный период, либо на заболевание в прошлом, так как антитела могут существовать в течение 2–3-х лет после перенесенной малярии [4]. Серологический анализ целесообразен для ретроспективной оценки заболевания в случае химиопрофилактики или самолечения [18]. Кроме того, он крайне полезен при обследовании доноров крови в целях предотвращения посттранфузивной малярии, а также для эпидемиологических исследований [4, 11, 13]. Развитие иммунного ответа не требует ни большого количества заражений, ни наличия паразитов в крови, которые его вызывают.

Иммунитет на клеточном уровне приобретает на относительно короткое время и обеспечивает защиту путем угнетения размножения паразитов [15]. Ряд антигенов плазмодия способствуют выработке антител в рамках совместного действия с продукцией Т- и В-лимфоцитов, включая лимфоциты CD4⁺. Механизм этого раннего иммунного ответа против антигенов *P. falciparum* у человека характеризуется пролиферацией лимфоцитов Th1 (CD4⁺ и CD8⁺) в отсутствие антител [15]. Этот процесс сопровождается выработкой (продукцией) цитокина типа Th1, IFN [7, 15]. Действие IFN и активность окиси азота продуцируются многоядерными клетками периферической крови и играют ключевую роль в этом иммунном ответе [15]. Т-лимфоциты продуцируют также IFN, как ответ на антигены на печеночной стадии (LSA) [17]. Клетки T_Hδ способны распознать молекулы, принадлежащие *P. falciparum*. Они активируются неперпид-

ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ МАЛЯРИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Степень тяжести	Т-лимфоциты		В-лимфоциты		Нулевые лимфоциты		Т-хелперы (Th)	Т-супрессоры (Ts)	Соотношение Th/Ts
	%*	клеток/мкл	%	клеток/мкл	%	клеток/мкл			
Легкая форма, n = 78	55,2±1,6	1354,0±38,5	23,6±1,8	617,8±21,3	21,0±1,7	488,5±43,2	41,2±2,3	12,8±0,6	3,2
Средние и тяжелые формы, n = 23	51,1±1,7	953,6±44,3	24,2±1,5	442,5±12,6	25,2±1,8	479,0±35,0	34,7±1,2	11,1±0,9	3,1
Реконвалесценты, n = 16	58,5±1,4	1529,0±50,4	19,6±0,8	448,0±31,1	21,9±2,0	553,3±27,8	34,8±1,1	9,8±0,4	3,5
Контроль, n = 51	52,2±1,1	1205,3±41	38,8±0,6	698,9±28,4	17,5±0,9	406,2±29,2	40,4±1,9	10,4±1,0	3,9

Примечание. * процент от общего числа всех типов лимфоцитов.

ТАБЛИЦА 4. ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ МАЛЯРИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Степень тяжести	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
Легкая форма, n = 78	1,77±0,06	1,42±0,07	21,1±1,17
Средние и тяжелые формы, n = 23	1,49±0,14	1,14±0,10	16,1±1,5
Реконвалесценты, n = 16	1,36±0,08	1,09±0,04	15,52±1,30
Контроль, n = 51	1,73±0,05	1,34±0,2	13,52±1,35

ТАБЛИЦА 5. ДИНАМИКА ПАРАМЕТРОВ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ТРОПИЧЕСКОЙ МАЛЯРИЕЙ ДО, ВО ВРЕМЯ И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

Показатели		До лечения	В ходе лечения (2–3-й день после заболевания)	Рековалесценты (7–10-й день после заболевания)	Контроль (местное население)
Активность окисления	титр	240±69	210±38	220±16,7	62±12
Катинический потенциал	%	54,6±1,6	66,0±2,4	71,1±2,0	82±0,8
	ССМ	1,19±0,09	1,57±0,1	1,66±0,08	1,83±0,1
Фагоцитоз (%)	Латекс-тест	80,0±2,4	78,8±1,8	73,7±1,4	52,3±1,4
	NBT	31,2±2,3	41,6±3,2	38,2±2,8	8,9±0,6
	Act. NTB	44,2±3,2	49,5±1,9	45,1±1,8	18,7±0,9
Т-лимфоциты	%	56,2±2,3	53,2±1,5	58,5±1,6	52,2±1,1
	клеток/мкл	955±73	947,8±54	1321±46	1205±61,9
В-лимфоциты	%	19,8±1,9	17,4±1,4	17,3±1,3	30,8±0,59
	клеток/мкл	342,7±44,5	348±25,4	418,0±31	698,9± 28,4
Лимфоциты Т-хелперы (Th)	%	37,6±1,2	36,2±0,9	32,3±1,1	40,4±1,9
Лимфоциты Т-супрессоры (Ts)	%	13,0±0,8	13,9±0,7	12,3±0,8	10,4±1,0
Соотношение Th/Ts		2,9	2,6	2,6	3,9
Иммуноглобулины	IgA	1,25±0,06	1,25±0,04	1,82±0,16	1,73±0,5
	IgM	0,67±0,08	0,98±0,06	1,0 ±0,11	1,34±0,2
	IgG	13,4±0,03	12,7±0,52	12,6±0,28	13,5±1,35

ными антигенами и могут зависеть от другого типа клеточной активности, например, от моноцитов и дендритных клеток [19]. Они выделяют противовоспалительные цитокины, способные ингибировать бесполое формы *Plasmodium* [6]. Моноциты (макрофаги), активированные гликозилфосфатидилинозитолами (GPI), провоцируемыми *P. falciparum* [9], играют роль в очищении от паразитов посредством механизма, называемого ADCI (антитела, зависящие от ингибирования клеток) [2].

Выводы

– Иммунный статус населения Гвинеи (эндемичной зоны по малярии) отличается от такового у европейцев, временно пребывающих

в этой стране, как на уровне клеточного, так и гуморального иммунитета.

– При легкой форме малярии наблюдается тенденция увеличения количества Т-лимфоцитов и резкое его падение при тяжелых формах болезни.

– Увеличение количества В-лимфоцитов происходит независимо от тяжести заболевания.

– Количество иммуноглобулинов IgG зависит от тяжести болезни. Оно составляет 21, Ig/l при легких формах и 16, Ig/l при тяжелых.

– Уровень ответа антител против LSA-1-41 выше у взрослых по сравнению с детьми, имеются различия и в уровне IgM ($P = 0,029$).

– Имеется положительная связь между ответами IgM и IgG как у взрослых ($P < 0,001$, $R = 0,82$), так и у детей ($P < 0,001$, $R = 0,78$).

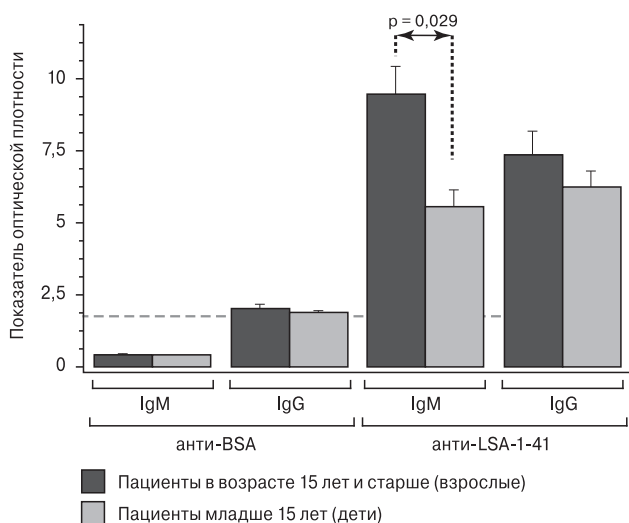


Рисунок 1. Соотношение антител IgM и IgG и на стадии развития паразита в крови (BSA) и в печени (LSA-1-41) у взрослых и детей

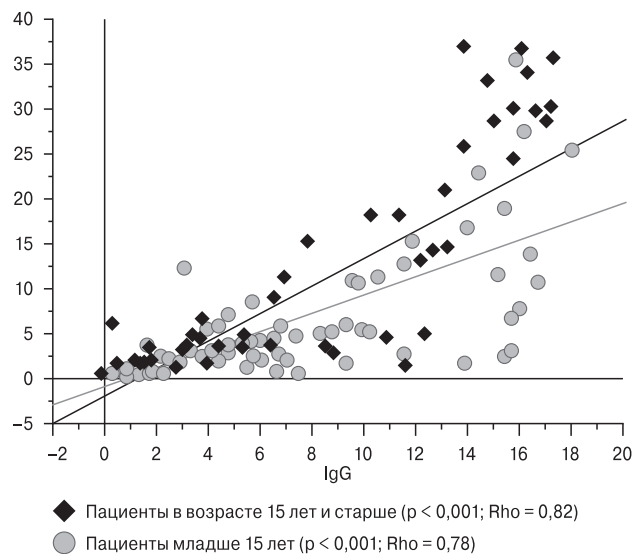


Рисунок 2. Соотношение процентного содержания антител IgM и IgG в крови взрослых и детей

Список литературы/References

1. Гвинея. Справочник. Москва: Наука, 1980. 270 с. [Guinea. Spavochnik. [Guinea. Guide]. Moscow: Nauka, 1980, 270 p.
2. Bouharoun-Tayoun H., Oeuvaray C., Lunel F., Druilhe P. Mechanisms underlying the monocyte-mediated antibody-dependent killing of Plasmodium falciparum asexual blood stages. *J. Exp. Med.*, 1995, vol. 182, no. 2, pp. 409–418.
3. Bruneel F. Paludisme grave. *Anesthésie-réanimation*, 2009, 36-984-B-10, doi: 10.1016/S0246-0289(09)50990-5
4. Camara B., Kantambadouno J.B., Martin-Blondel G., Berry A., Alvarez M., Benoit-Vical F., Delmont J., Bouchaud O., Marchou B. Splénomégalie palustre hyperimmune : à propos de trois cas cliniques et revue de la littérature. *Méd. Mal. Infect.*, 2009, vol. 39, no. 1, pp. 29–35, doi: 10.1016/j.medmal.2008.09.002
5. Cooper E.L., Kauschke E., Cossarizza A. Annelid humoral immunity: cell lysis in earthworms. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2001, vol. 484, pp. 169–183.
6. Farouk S.E., Mincheva-Nilsson L., Krensky A.M., Dieli F., Troye-Blomberg M. Gamma delta T cells inhibit in vitro growth of the asexual blood stages of Plasmodium falciparum by a granule exocytosis-dependent cytotoxic pathway that requires granulysin. *Eur. J. Immunol.*, 2004, vol. 34, no. 8, pp. 2248–2256.
7. Good M.F. Towards a blood-stage vaccine for malaria: are we following all the leads? *Nat. Rev. Immunol.*, 2001, vol. 1, no. 2, pp. 117–125.
8. Impact — malaria. URL: http://en.sanofi.com/csr/patient/priorities/access_to_care/access_to_medicines/malaria/malaria.aspx (20.12.2014)
9. Krishnegowda G., Hajjar A.M., Zhu J., Douglass E.J., Uematsu S., Akira S., Woods A.S., Gowda D.C. Induction of proinflammatory responses in macrophages by the glycosylphosphatidylinositols of Plasmodium falciparum: cell signaling receptors, glycosylphosphatidylinositol (GPI) structural requirement, and regulation of GPI activity. *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, no. 9, pp. 8606–8616.
10. Lee K.S., Cox-Singh J., Brooke G., Matusop A., Singh B. Plasmodium knowlesi from archival blood films: Further evidence that human infections are widely distributed and not newly emergent in Malaysian Borneo. *Int. J. Parasitol.*, 2009, vol. 39, no. 10, pp. 1125–1128, doi: 10.1016/j.ijpara.2009.03.003
11. Makler M., Palmer C.J., Ager A.L. A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1998, vol. 92, no. 4, pp. 419–433.
12. Malvry D., Djossou F., Thiebaut R., Le Bras M. Plasmodies-Malaria. Formes cliniques, diagnostic. In: *Encycl. Méd. Chir., Maladies Infectieuses*, 8-507-A-20, 2000, 16 p.
13. Minodier P. Dépistage du paludisme: tests rapides. *J. Pédiatr. Puériculture*. 2005, vol. 18, pp. 386–388.
14. Pages F., Orlandi-Pradines E., Corbel V. Vecteurs du paludisme: biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Méd. Mal. Infect.* 2007, vol. 37, no. 3, pp. 153–161.
15. Pombo D.J., Lawrence G., Hirunpetcharat C., Rzepczyk C., Bryden M., Cloonan N., Anderson K., Mahakunkijcharoen Y., Martin L.B., Wilson D., Elliott S., Eisen D.P., Weinberg J.B., Saul A., Good M.F. Immunity to malaria after administration of ultra-low doses of red cells infected with Plasmodium falciparum. *Lancet*, 2002, vol. 360, no. 9333, pp. 610–617.
16. Popov A.F., Lamah N.E., Konstantinov O.K., Baldé M.C., Camara S.K., Boiro M.Y. Manuel sur le paludisme. Conakry, 2007.
17. Schofield L., Villaquiran J., Ferreira A., Schellekens H., Nussenzweig R., Nussenzweig V. Gamma interferon, CD8+ T cells and antibodies required for immunity to malaria sporozoites. *Nature*, 1987, vol. 330, no. 6149, pp. 664–666.
18. Sergeant E., Definition of immunity and premunition. *Arch. Inst. Pasteur. Alger.*, 1950, vol. 28, no. 4, pp. 429–440.
19. Siala E., Ben Abdallah R., Bouratbine A., Aoun K. Actualités du diagnostic biologique du paludisme: current biological diagnosis of malaria. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 2010, vol. 4, pp. 5–9.
20. Société de pathologie infectieuse de langue française (SPLIF). Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à Plasmodium falciparum recommandations pour la pratique clinique (Revision 2007 of the 1999 Consensus conference). *Réanimation*, 2008, vol. 17, pp. 1–54.
21. World Health Organization. Severe falciparum malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2000, vol. 94, suppl. 1, pp. 1–90.

Авторы:

Буаро М.И., к.б.н., профессор, генеральный директор Института Пастера Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;
Бумбали С., к.б.н., профессор, директор докторской школы Института Пастера Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;
Константинов О.К., к.б.н., научный сотрудник Института Пастера Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;
Каливоги С., к.б.н., зам. директора Института Пастера Гвинеи по научной работе, г. Киндия, Гвинейская Республика;
Кулибали М., к.б.н., директор Международного исследовательского центра тропических инфекций, г. Н'Зерекоре, Гвинейская Республика;
Ба А.С., научный сотрудник Института Пастера Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика.

Authors:

Boiro M.Y., PhD (Biology), Professor, General Director of Pasteur Institute of Guinea, Kindia, Republic of Guinea;
Boumbali S., PhD (Biology), Professor, Director of Doctor's School, Pasteur Institute of Guinea, Kindia, Republic of Guinea;
Konstantinov O.K., PhD (Biology), Researcher, Pasteur Institute of Guinea, Kindia, Republic of Guinea;
Kalivogui S., PhD (Biology), Vice-Director of Pasteur Institute of Guinea, Nzerekore, Republic of Guinea;
Koulibali M., PhD (Biology), Director of International Research Center of Tropical Infections, Kindia, Republic of Guinea;
Bah A.C., Researcher, Pasteur Institute of Guinea, Kindia, Republic of Guinea.

Поступила в редакцию 15.02.2016
 Принята к печати 15.03.2016

Received 15.02.2016
 Accepted 15.03.2016

ВОЗМОЖНЫЕ КОЛЛИЗИИ В ИММУНОДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ВАКЦИНАЦИИ

Е.П. Харченко

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Антитела (АТ), особенно естественные, проявляют полиспецифичность не только из-за свойственной им конформационной динамичности. С помощью компьютерного анализа исследовано распространение среди поверхностных белков ДНК- и РНК-содержащих вирусов, вызывающих наиболее распространенные инфекции у человека, идентичных и гомологичных пептидов. Выявлено, что каждый вирусный белок содержит фрагменты, гомологичные фрагментам других вирусных белков, что позволяет предполагать наличие пептидного континуума родства белков (ПКРБ) вирусов. В числе возможных проявлений ПКРБ вирусов вклад его в полиреактивность и аутореактивность АТ, и, следовательно, иммунологические подходы идентификации вирусов нельзя рассматривать как высоко надежные из-за высокой вероятности перекрестных реакций. Существование ПКРБ вирусных белков исключает возможность существования 100%-ной специфичности иммунодиагностикомов для идентификации вирусов. Из-за ПКРБ коллизии с иммунодиагностикой могут возникать как в случае идентификации самого вируса, так и при идентификации циркулирующих в организме АТ к вирусу. Кроме того, ПКРБ может служить причиной гетерологичного иммунитета и, соответственно, тяжелого течения инфекции. Специальный компьютерный анализ пептидного родства нуклеопротеина (НП) вируса гриппа А с различными белками человека позволил обнаружить у НП, помимо описанного ранее для него общего мотива с рецептором гипокретина 2, пептиды, гомологичные таковым в мелатониновом и глутаматном рецепторах и в трех белках ионных каналов. Обнаружение пептидного родства НП с этими белками человека позволяет полагать, что вызванный прививкой противогриппозной вакцины Pandemrix (GlaxoSmithKline) в период пандемии гриппа 2009–2010 гг. всплеск нарколепсии у детей и подростков может быть обусловлен образованием АТ не только к пептиду с общим для НП и рецептора гипокретина 2 мотивом, но и к этим новым выявленным пептидам НП, гомологичным к другим белкам. При иммунном ответе на инфекцию или вакцину, как известно, образуются АТ ко множеству преимущественно иммунодоминантных эпитопов. Уменьшить и даже избежать риски осложнений вакцинаций возможно, выполнив предварительный компьютерный анализ на наличие в белках вакцинальных вирусов эпитопов, гомологичных таковым в белках человека, и особенно преклинический анализ специфичности индуцируемых вакциной АТ на микропанелях с многотысячным набором образцов белков человека.

Ключевые слова: компьютерный анализ, вирусные белки, гомология, иммунодиагностика, вакцинация, вирус гриппа А.

THE POSSIBLE COLLISIONS IN VIRUS INFECTION IMMUNODIAGNOSTICS AND VACCINATION

Kharchenko E.P.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Antibodies (Ab), especially natural, display multiple specificity not only due to intrinsic conformational dynamics. With computational analysis the distribution of identical and homologous peptides has been studied in surface proteins from RNA and DNA viruses of widely distributed infections. It was established that each virus protein shared

Адрес для переписки:

Харченко Евгений Петрович
194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Мориса Тореза, 44,
ИЭФБ им. И.М. Сеченова РАН.
Тел./факс: 8 (812) 552-70-31 (служебн.); 8 904 338-22-80 (моб.).
E-mail: neuro.children@mail.ru

Contacts:

Eugene P. Kharchenko
194223, Russian Federation, St. Petersburg, Toreza pr., 44,
Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry.
Phone/Fax: +7 (812) 552-70-31 (office); +7 904 338-22-80 (mobile).
E-mail: neuro.children@mail.ru

Библиографическое описание:

Харченко Е.П. Возможные коллизии в иммунодиагностике вирусных инфекций и вакцинации // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 157–164. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-157-164

Citation:

Kharchenko E.P. The possible collisions in virus infection immunodiagnosics and vaccination // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 157–164. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-157-164

the fragments homologous to other virus proteins that allowed to propose the existence of the peptide continuum of the protein relationship (PCPR). Possible manifestations of PCPR are multiple reactivity and autoreactivity in Ab and therefore it is not possible to consider the immune methods of virus identification as high reliable because of crossing interactions. The PCPR excludes the existence of 100% specificity in immune tests for virus identification. Immunodiagnostic collisions may occur either in identification of virus itself or identification of Ab to viruses. Also PCPR may be responsible for heterologous immunity and consequently the infection associated with severe pathology. The comparative analysis of peptide relationship of H1N1 influenza virus nucleoprotein and human proteins found out, beyond early described its common motif with human hypocretin receptor 2, peptides homologous to those in melanotonin and glutamate receptors and three ion channels. It allows to propose that the sleep disorder narcolepsy associated with Pandemrix vaccination (an adjuvanted, influenza pandemic vaccine) and also with infection by influenza virus during the 2009 A(H1N1) influenza pandemic may be determined not only by Ab to the peptide motif common to influenza nucleoprotein and hypocretin receptor but also Ab to melanotonin and glutamate receptors and ion channels. Decreasing and even avoiding risks of complications from vaccination may be feasible by means of a computer analysis of vaccine proteins for the occurrence of epitopes homologous to the human protein those and particularly by an analysis of Ab profiles induced by vaccine using microarrays with the large number of human protein antigens.

Key words: computer analysis, viral proteins, homology, immunodiagnostics, vaccination, influenza virus A.

Как известно, иммунодиагностические методы основаны на взаимодействии антигенов (АГ) с антителами (АТ). В клинической практике идентификация компонентов вируса осуществляется с помощью «специфических» (стандартных) АТ, а идентификацию АТ к вирусу выполняют с помощью соответствующих вирусных препаратов.

Обязательными характеристиками иммунодиагностического теста являются специфичность и чувствительность. Оба показателя определяются специфичностью АТ и, соответственно, уникальностью АГ. Независимо от их источника, общим свойством АТ являются полиреактивность и аутореактивность, особенно в случае естественных АТ [9]. Еще 30 лет назад было признано, что и моноклональные АТ всегда полиспецифичны [13]. Для более тонкого анализа специфичности АТ уже разработаны диагностические панели, содержащие в качестве АГ до 10 000 разных белков [7]. Соответственно, возникает вопрос: обусловлена ли полиаутореактивность АТ только их конформационной мобильностью, или она определяется также свойствами самих белков, с которыми АТ наиболее часто взаимодействуют как с источниками АГ? Эта проблема особенно остро стоит в случае иммунодиагностики вирусных инфекций.

Замечательной особенностью эволюционной иерархии всех живых организмов и сопутствующих им вирусов является единство механизмов их белок-синтезирующего аппарата и принципов структурной организации самих белков. Примечательно, что реализованное в эволюции многообразие белковых последовательностей существенно меньше потенциально возможного. Принципиально важным моментом в механизмах возникновения разнообразия белков является то, что в числе основных способов увеличения размеров и числа белков оказались генные дубликации и мозаичные комбинации, причем большинство генов белков являются разорванными и составленными из разного числа

экзонов и интронов [2]. Сопоставление первичных структур белков различных организмов показало, что они обнаруживают блочное родство; то есть их последовательности родственны не по всей длине, а лишь по отдельным протяженным блокам, причем разветвленная сеть блочного родства охватывает белки, глубоко различающиеся по своим функциям. Это дало нам основание ввести понятие пептидного континуума родства белков (ПКРБ) и рассмотреть возможные его проявления [1].

Исходя из универсальности принципов организации белков, можно предположить существование ПКРБ и среди вирусных белков, что может приводить к неподозреваемым ранее ошибкам в иммунодиагностике природы вирусных инфекций. Другим возможным проявлением ПКРБ может быть возникновение аутоиммунного заболевания при инфекции, обусловленное наличием в белках инфицирующего вируса родственных белкам хозяина пептидных фрагментов. Индукция иммунного ответа на вирус ведет к появлению в организме АТ, способных распознавать и блокировать, соответственно, те белки хозяина, которые содержат родственные белкам вируса пептидные фрагменты. Этот сценарий патогенеза аутоиммунитета возник в результате вакцинации против пандемии гриппа 2009–2010 гг. Прививка вакциной Pandemrix (GlaxoSmithKline) обернулась всплеском частоты нарколепсии у детей и подростков в разных странах. Сопоставление характеристик разных вакцин показало существование возможной связи возникновения нарколепсии с высоким содержанием в вакцине Pandemrix (GlaxoSmithKline) нуклеопротеина (НП) вируса гриппа и образованием к нему АТ, перекрестно реагировавших с рецептором гипокретина (орексина) 2. Последний содержит в своей внеклеточной петле мотив, присутствующий и в составе НП [3].

Поэтому цель настоящего исследования состояла в выявлении с помощью компьютерного

анализа блочного родства белков (то есть ПКРБ) среди разных вирусов, которое может быть источником сложностей и ошибок при идентификации вирусов методами, основанными на использовании иммунологических принципов. Так как противогриппозная вакцинация осуществляется в мире ежегодно, охватывая значительную часть населения нашей планеты, был предпринят также сравнительный анализ родства НП с другими белками человека, чтобы выяснить дополнительные возможные риски противогриппозной вакцинации, связанные с присутствием в НП других антигенных детерминант, родственных белкам человека, АТ к которым могли бы соучаствовать в аутоиммунных нарушениях.

Методы

Для компьютерного анализа были использованы последовательности поверхностных белков из 19 РНК- и ДНК-содержащих вирусов: вирус иммунодефицита человека 1 (ВИЧ-1), вирус гриппа А, гепатитов А, В и С, кори, паротита, краснухи, полиомиелита, клещевого энцефалита, желтой лихорадки, лихорадки Денге и Эбола, бешенства, цитомегаловирус, аденовирус, вирус папилломы, вирус простого герпеса, респираторно-синцитиальный вирус.

Родственные фрагменты в белках вирусов устанавливали как по наличию в них протяженных идентичных блоков длиной не менее 6 аминокислот (рис. 1), так и гомологичных фрагментов длиной в 10 аминокислот (декапептиды), имеющих не менее 7 позиций идентичных аминокислот (рис. 2). Названия вирусных белков в таблицах приводятся по сигнатуре, приводимой в <http://viralzone.expasy.org>. Для компьютерного анализа пептидного родства НП вируса гриппа А/CALIFORNIA/08/2009(H1N1) с белками человека были использованы последовательности 10 200 белков человека, охватывающие все ткани и органы, клеточные органеллы и межклеточное вещество, ферменты путей синтеза и метаболизма. Поиск родства осуществляли по пептидным фрагментам длиной в 12 аминокислот. Последовательности фрагментов признавались родственными при наличии у них не менее 8 идентичных позиций. Источником первичных структур белков служили доступные в Интернете базы данных (www.ncbi.nlm.nih.gov, www.nextprot.org, <http://viralzone.expasy.org>).

Результаты

Примеры выявленных идентичных и гомологичных последовательностей в белках разных пар вирусов представлены на рисунках 1 и 2. Обнаружение протяженных идентичных последовательностей (рис. 1) в белках близкородственных вирусов, как это имеет место, например, для

вирусов рода *Flavivirus* (вирус желтой лихорадки, вирус лихорадки Денге, вирус клещевого энцефалита) было предсказуемым. Неожиданным оказалось наличие длинных идентичных фрагментов в белках, соответственно, у вируса кори и вируса паротита, вируса Эбола и вируса полиомиелита, а также у цитомегаловируса и вируса папилломы. Как и следовало ожидать, встречаемость гомологичных фрагментов в белках разных вирусов многократно превосходит таковую для идентичных фрагментов. (На рис. 2 представлены только примеры пар декапептидов вирусных белков с не менее 8 позициями идентичных аминокислот.)

Наличие гомологичных пептидов среди вирусных белков не зависело от природы генома вирусов. Поскольку каждый из исследованных вирусных белков, как правило, содержал декапептиды, гомологичные таковым нескольких белков других вирусов, то это дает основание предполагать существование ПКРБ вирусов, которое можно было бы схематично представить в виде графа, узлами которого являются (точки на графе) сами вирусные белки. Каждый узел (белок) в графе может быть идентифицирован длиной (L) белка либо его первичной структурой. Соединяющие узлы графа ребра указывают на наличие у них родственных пептидов, а числовые значения N над ребрами (на рис. 3 в качестве примера условно представлены N только на 3 ребрах) отражают число таких родственных пептидов у соответствующей пары вирусных белков. Полезность такого представления ПКРБ вирусов в виде математического объекта в компьютерном исполнении заключается не только в наглядности, но и в том, что оно позволяет прогнозировать сложную сеть возможных перекрестных реакций АТ при иммунной диагностике, с одной стороны, и предвидеть возможности развития иммунопатологии или же перекрестных защитных реакций организма — с другой стороны [1].

Анализ существования родства белков вируса гриппа, ограниченный данным сообщением только НП, показал наличие в нем фрагментов, родственных фрагментам разных белков человека. Из большого множества выявленных гомологичных пар на рисунке 4 представлены лишь фрагменты некоторых рецепторов и ионного канала, так как частично их молекулы в клетках нервной системы обращены во внеклеточное пространство и поэтому доступны для взаимодействия с АТ. С выявлением пептидного родства НП с другими белками человека наличие в НП общего мотива с рецептором гипокретина 2 не является в контексте ПКРБ уникальным, что порождает, соответственно, вопрос: почему этот мотив оказался иммунодоминантным и какие другие иммунные эпитопы сопутствуют ему как иммунодоминантные при вакцинации?

A A L G V A T A A Q V T A A A L G V A T A A Q I T A	(111–123) белок слияния, вирус паротита (122–134) белок слияния, вирус кори
A T N P L V A T N P L V	(51–56) поверхностный белок VP1, вирус полиомиелита (128–133) поверхностный белок VP40, вирус Эбола
I S T S E T T S K N I S T S E T T Y K N	(38–47) мембранный белок, цитомегаловирус (374–383) главный капсидный белок, вирус папилломы
D R G W G N G C G L F G K G D R G W G N G C G L F G K G	(98–111) белок E, вирус желтой лихорадки (98–111) белок E, вирус Денге
D R G W G N H C G L F G K G D R G W G N G C G L F G K G	(98–111) белок E, вирус клещевого энцефалита (98–111) белок E, вирус Денге
D R G W G N H C G L F G K G D R G W G N G C G L F G K G	(98–111) белок E, вирус клещевого энцефалита (98–111) белок E, вирус желтой лихорадки

Рисунок 1. Пары вирусных белков с идентичными фрагментами

Обсуждение

Оценивая результаты выполненного анализа, можно утверждать, что они подкрепляют нашу гипотезу о существовании ПКРБ среди организмов различных ступеней эволюционной иерархии [1] и детализируют его реализацию в пределах вирусов. Обсуждение ПКРБ среди вирусов возможно, по крайней мере, в двух аспектах. Первый из них связан с возникновением и формированием ПКРБ вирусов, второй — с возможными проявлениями ПКРБ вирусов и медицинскими его приложениями.

По поводу формирования ПКРБ вирусов следует заметить, что если от прокариот до организмов высших уровней эволюционной иерархии наследование от особи к особи реализуется через ДНК, то в случае вирусов природа позволила себе фантазировать по части выбора для них генетического материала (кольцевые и линейные, фрагментарные, односпиральные, двуспиральные и частично двуспиральные формы РНК и ДНК). И по сей день мы не располагаем данными о путях возникновения такого разнообразия геномов вирусов. Можно лишь полагать, что наблюдаемое в эволюционной иерархии эукариот

соответствие размеров экзонов в разорванных генах функциональным доменам белков дает основание считать, что белки представляют собой наборы фрагментов с различными функциями, которые эволюция по непонятным пока правилам собирает как одно структурно-функциональное целое [2].

Что касается возможных проявлений ПКРБ вирусов и медицинских его приложений, то прежде всего ПКРБ следует рассматривать как фактор, который может обуславливать полиреактивность и аутореактивность АТ, и, следовательно, иммунологические подходы к идентификации вирусов нельзя относить к высоко надежным из-за высокой вероятности возможных перекрестных реакций. 100%-ная специфичность иммунного теста в принципе недостижима, что отчасти объясняет все большее распространение идентификации вирусов по их геномам на основе использования полимеразной цепной реакции, хотя и этот подход не гарантирует безошибочной идентификации. Об ошибочности идентификации вируса как возбудителя инфекционной болезни можно заподозрить в случае расхождения клинической картины, специфично вызываемой определенным вирусом, и ре-

L L G V G S A I A S L Y G V G S S I A S	(141–150) белок FG, респираторный синцитиальный вирус человека (319–328) белок E2, вирус гепатита С
K P K K K P T I K P K P Q K K P V I K P	(193–202) белок MGP, респираторный синцитиальный вирус человека (375–384) пентон, аденовирус С
V P W I S D T P Y R V P W I S N T T Y R	(173–182) белок VP3, вирус гепатита А (168–177) белок VP3, полиовирус
I S T S E T T Y K N I S T S E T T S K N	(374–383) главный капсидный белок Р, вирус папилломы (38–47) мембранный белок М, цитомегаловирус

Рисунок 2. Пары вирусных белков с гомологичными фрагментами

зультатом иммунологической идентификации вируса. Коллизии с иммунодиагностикой могут возникать как в случае идентификации самого вируса, так и при идентификации циркулирующих в организме АТ к вирусу, поскольку проявление полиспецифичности последних дополняется аутореактивностью, что продемонстрировано особенно убедительно на примере широко нейтрализующих АТ к вирусу иммунодефицита человека [6, 14, 17].

Исследованная нами встречаемость линейных протяженных идентичных и гомологичных последовательностей в белках дает основание объяснить прежде всего полиреактивность и аутореактивность тех АТ, которые узнают линейные эпитопы. В случае же конформационных эпитопов, которые формируются участием нескольких сайтов пространственной структуры белка, узнавание их АТ происходит по коротким фрагментам. Распространенность идентичных коротких пептидов среди большинства белков общеизвестна, чем и объясняется еще большая непредсказуемость диапазона полиреактивности АТ, узнающих конформационные эпитопы. Использование диагностических панелей, содержащих в качестве АГ до 10 000 разных белков, позволило выявить высокую перекрестную реактивность АТ, охватывающую функционально различные белки, иммунная связность которых даже отдаленно не казалась возможной [7]. Скрининг перекрестной иммунной реактивности белков на таких панелях позволяет получать близкие к истинным показатели чувствительности и специфичности используемого иммунологического теста. Можно надеяться, что в будущем будут разработаны и аналогичные микропанели с наборами белков различных вирусов.

Не застрахованы от коллизий полиреактивности АТ и нанотехнологические диагностикумы, основанные на выявлении индикаторной молекулы, транспортируемой и связываемой с мишенью посредством АТ. В иммунологической практике всегда следует иметь в виду, что

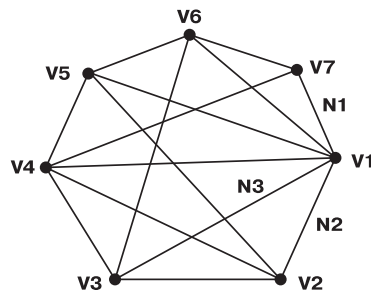


Рисунок 3. Схематичное представление в виде графа пептидного континуума родства вирусных белков

моноклональность АТ не есть синоним моноспецифичности АТ. Кроме того, как и АТ, белки, предстающие в качестве источника их АГ, подвержены конформационным изменениям в процессе их взаимодействия с АТ.

Помимо коллизий с идентификацией вируса, ПКРБ может служить причиной гетерологичного иммунитета, под которым понимается феномен реактивации вторым, неродственным вирусом Т-клеток памяти, генерированным в ответ на ранее перенесенную инфекцию другим (первым) вирусом. Этот феномен первоначально был выявлен и охарактеризован на серии хорошо контролируемых исследований вирусных инфекций у мышей. Позднее продемонстрирована его потенциальная значимость в патогенезе вирусных инфекций и у человека, в частности, при анализе пациентов, зараженных вирусом гепатита С [16]. Феноменами ПКРБ и гетерологичного иммунитета, возможно, обуславливается более тяжелое протекание инфекций вирусом кори, паротита, Эпштейна–Барр и других, возникших в более позднем возрасте. Участие гетерологичного иммунитета и ПКРБ можно заподозрить при болезнях с высокой вариабельностью патологии (туберкулез, гепатиты), при болезнях, вызываемых вирусами из групп, содержащих генетически родственные человечес-

R R S G A A G A A V K G	(174–185) НП (A/California/08/2009(H1N1))
M L S G A A G A A R R G	(1–12) кислоточувствительный ионный канал 4
K S C L P A C V Y G L A	(273–284) НП (A/California/08/2009(H1N1))
N S C L N A I V Y G L L	(300–311) рецептор мелатонина, тип 1B
G S T L P R R S G A A G	(169–180) НП (A/California/08/2009(H1N1))
T S T L P R N S G A G A	(856–867) глутаматный рецептор 1
E L I L Y D K E E I R R	(107–118) НП (A/California/08/2009(H1N1))
E L E D E N K E E I R R	(583–594) α-2 субъединица потенциал-зависимого Ca-канала
T R A L V R T G M D P R	(151–162) НП (A/California/08/2009(H1N1))
T R G L S R T S M K P R	(512–523) α-субъединица Na-канала, тип 5

Рисунок 4. Пары гомологичных фрагментов НП вируса гриппа и белков человека

кие патогены (семейства флавивирусов, папилломавирусов, пикорнавирусов), при вирусных инфекциях, связанных с генерацией мутантов (epitope-escape mutants), например, вирус гепатита С и ВИЧ; у пожилых людей, которые часто подвергаются инфекциям из-за снижения числа Т-наивных клеток и увеличенного количества Т-клеток памяти к ранее перенесенным инфекциям. Гетерологичный иммунный ответ может также обуславливать отторжение трансплантатов и предрасположенность к возникновению аутоиммунных болезней при перенесении некоторых инфекций. В частности, он может разрушить пул Т-клеток памяти, изменить сложность Т-клеточного репертуара, изменить паттерны Т-клеточной иммунодоминантности, привести к селекции вариантов вирусных эпитопов, избегающих иммунное узнавание, изменить патогенез вирусной инфекции и специфику ее протекания, изменить необходимость в определенных цитокинах для контроля инфекции [10, 11, 12, 16].

Как частное проявление гетерологичного иммунитета можно рассматривать известный феномен первородного греха, проявляющийся в том, что при вторичных инфекциях (например, при повторяющихся сезонных эпидемиях гриппа) быстро мутирующими вирусами реактивируемые ими кросс-реагирующие Т-клетки памяти к предшествующей инфекции обладают низкой аффинностью к вирусу вторичной инфекции. Эти Т-клетки обладают слабой антивирусной активностью, но активно высвобождаемые ими цитокины ведут к усилению инфекционного процесса и воспаления.

Эпидемиологические данные по проявлению гетерологичного иммунитета при вакцинации детей показали, что живые вакцины, подобно живой вакцине BCG или аттенуированной коревой вакцине, имели протективный эффект, снижая заболеваемость и смертность от неродственных патогенов, что, возможно, было связано со снижением чувствительности к инфекциям. Напротив, убитая вакцина против дифтерии, столбняка и коклюша ассоциировалась с вредными эффектами, как, например, с увеличением смертности от возбудителей, неродственных патогенам вакцины. Искоренение оспы послужило для ВОЗ обоснованием прекратить иммунизацию против нее, поскольку эта иммунизация генерировала очень сильные гетерологичные иммунные реакции. Однако наблюдения сельских местностей Гвинеи-Бисау показали, что наличие вакцинальных рубцов от оспенной вакцинации ассоциировалось с большим уровнем выживаемости среди взрослых. По-видимому противооспенная вакцинация снижала риск астмы и злокачественной меланомы. В Дании противооспенная вакцинация снизила число госпитализаций по поводу инфекционных заболеваний [4]. Эти эффекты противооспенной вакцинации, возможно, обусловлены тем, что вирус оспы яв-

ляется среди вирусов человека самым крупным и поэтому содержит в контексте описываемого ПКРБ вирусов наиболее представительный репертуар иммунных эпитопов, родственных таковым у разных вирусов, и вызывает сложный гетерологичный иммунный ответ. В этой связи нельзя не согласиться с мнением экспертов ВОЗ, признавших, что вакцины могут иметь гетерологичные (положительные и отрицательные) и неспецифические эффекты. Наши знания особенно недостаточны по динамике острых Т-клеточных ответов и образованию Т-клеток памяти на коинфекции, при одновременном введении нескольких вакцин или комбинированных вакцин. Прошедшие после открытия гетерологичного иммунитета два десятилетия еще более утвердили наши представления о распространенности в организме кросс-реактивных Т-клеток к неродственным патогенам, влияющих на протективный иммунитет и иммунопатологию и способных уменьшить эффективность вакцин из-за иммунодоминантного сдвига нежелательного ответа Т-клеток. Иммунный ответ на каждый новый патоген влияет на частоту, активность и распределение Т-клеток памяти к предшествующим инфекциям [4].

Помимо коллизий иммунодиагностики вирусов, связанных с существованием в эволюционной иерархии организмов ПКРБ и соответственно иммуноэпитопного континуума родства белков [1], сама структурно-функциональная организация иммунной системы служит источником трудностей при идентификация АТ к вирусу посредством вирусных препаратов. Как известно, АТ, представленные 5 классами иммуноглобулинов (Ig), синтезируются разными линиями В-клеток и их индукция реализуется различными механизмами. В противоположность В2-клеткам, осуществляющим тимус-зависимый (иммуногенный) синтез Ig с более высокой специфичностью и переключение синтеза с IgM на IgG, В1-клетки секретируют преимущественно IgM без гипермутирования зародышевых генов Ig, а сам синтез Ig является спонтанным и конститутивным и независимым от Т-клеток, что обусловило их название как естественные АТ (ЕА). Особенность ЕА — полиспецифичность и аутореактивность. Экспериментально показано соучастие аутореактивного репертуара ЕА в клеточном гомеостазе организма, противостоянии патогенам и патологических процессах.

Первоначально исследование ЕА было сосредоточено главным образом на преобладающем среди них IgM и им объяснялись многочисленные эффекты ЕА. Новые данные о IgG и IgA ЕА свидетельствуют о том, что их роль в эффектах ЕА нельзя игнорировать. Тестирование специфичности IgG ЕА выявило их взаимодействие с более чем 1000 белками, зависимость состава IgG ЕА от возраста, пола и имеющегося патологического состояния. Пациенты с болезнью

Альцгеймера, болезнью Паркинсона и рассеянным склерозом имели статистически значимое снижение IgA EA по сравнению с контрольными лицами того же возраста и пола. Профиль сывороточных IgG аутоАТ уникален для каждого индивидуума и удивительно стабилен во времени. Количество, разнообразие и явная эволюционная консервативность профиля IgG аутоАТ предполагает существование у них определенной нераспознанной функции [7].

Полиреактивность и аутореактивность EA простирается как на белки самого человеческого организма, так и на вирусы. Примером последнего служит выявление в крови пуповины здоровых новорожденных (от здоровых родителей) EA, распознающих пептид из второй консервативной области gp120 ВИЧ-1 [15]. Помимо самой иммунодиагностики ВИЧ-1, выявленный факт побуждает шире рассмотреть механизмы защиты организма от ВИЧ. Ныне EA рассматриваются в числе участников первой линии обороны хозяина против инфекции. Стимуляция Toll-подобных рецепторов сильно влияет на их титры в циркуляции [5]. Уникальность их состава будет обуславливать особенности резистентности каждого индивидуума к инфекционным патогенам, среди которых отсутствие у некоторых лиц заражения при половом контакте с ВИЧ-пораженным субъектом и контроль над ВИЧ у контроллеров. Вполне возможно, что, помимо известного сочетания вирусной, генетической и иммунологической составляющих в естественном контроле за ВИЧ-инфекцией [8], у контроллеров принимают участие и EA, распознающие иммунные эпитопы поверхностных белков ВИЧ.

В контексте ПКРБ, обнаружение АТ к определенному вирусу у пациентов с развившимся аутоиммунным заболеванием настораживает относительно возможной связи этих АТ с патогенезом заболевания, поскольку у вирусных белков и белков организма могут быть сходные иммуоэпитопы и индуцированные АТ к вирусу могут провоцировать развитие аутоиммунного заболевания. Иллюстрацией развития такого сценария служит упомянутая выше резко повышенная частота возникновения нарколепсии в ряде стран Европы у детей и подростков, привитых при пандемии гриппа вакциной Pandemrix (GlaxoSmithKline). При параллельном использовании при пандемии вакцины Focetria (Novartis Vaccines) случаи нарколепсии были редкими. Обе вакцины были получены к штаммам пандемии гриппа 2009 г. Различия их заключались в том, что вторая вакцина, по сравнению с первой, содержала низкие количества НП вируса гриппа. Анализ показал, что НП вируса гриппа и внеклеточная петля рецептора человеческого гипокретина 2 содержат фрагменты со сходным мотивом, соответственно YDKEEIRRIWR и YDDEEFLRYLWR, и АТ к рецептору гипокретина 2, перекрестно связывавшиеся с пеп-

тидным фрагментом НП, выявлялись в сыворотках нарколептических пациентов, имевших в анамнезе вакцинацию Pandemrix. В сыворотках ненарколептических субъектов, вакцинированных Focetria, АТ к НП практически не выявлялись. Это дало основание сделать вывод, что связь нарколепсии с вакцинацией Pandemrix, вероятно, обусловлена высоким содержанием в вакцине НП и соответствующим иммунным ответом на него [3].

Однако чаще всего патогенез патологического состояния формируется сочетанием разных во времени и пространстве механизмов, и выявленное в данном исследовании наличие в НП вируса гриппа фрагментов, гомологичных таковым глутаматного и мелатонинового рецепторов и ионных каналов, подводит к вопросу: являются ли АТ к YDKEEIRRIWR в НП единственными виновниками нарколепсии, ибо невозможно отвергнуть участие глутаматного и мелатонинового рецепторов в физиологических механизмах бодрствования и засыпания, как и образование АТ к гомологичным к ним фрагментам НП при вакцинации. Гуморальный иммунный ответ на инфекционный агент обычно полиспецифичен и направлен против нескольких иммунодоминантных эпитопов. Наши знания о феномене иммунодоминантности пока еще слишком скудны, и поэтому последствия вакцинации трудно предсказуемы. Нарколепсия, возможно, не единственное тревожное последствие вакцинации, и ее выявление способствовало, по видимому, легкость ее клинического распознавания, не требующего каких-либо специальных методов обследования.

Несомненно, состав вакцин будет влиять на спектр иммунодоминантных эпитопов и характер иммунного ответа, как и способы иммунизации и генетические особенности иммунизируемых субъектов, в числе которых состав гаплотипов их главных комплексов гистосовместимости. Уменьшить и даже избежать риски осложнений вакцинаций возможно, проводя превентивный компьютерный анализ белков вакцинальных вирусов на наличие в них эпитопов, гомологичных таковым в белках человека, и — особенно — преклинический анализ специфичности индуцируемых вакциной АТ на микропанелях с многотысячным набором образцов белков человека. На современном этапе развития научных технологий, когда возникли возможности многомерного анализа, позволяющего единовременно обозреть большие множества объектов, мы выявляем новые сложные феномены, которые ранее казались редкими либо исключительными случаями, и должны предьявлять более строгие критерии для идентификации вирусов и вырабатываемых к ним АТ и к сертификации вакцин.

В заключение хотелось бы еще раз подчеркнуть, что поверхностные белки РНК- и ДНК-

вирусов содержат в своих последовательностях идентичные и гомологичные друг другу фрагменты, образуя ПКРБ вирусов, который может служить источником перекрестных иммунных взаимодействий и исключает возможность существования 100%-ной специфичности иммунодиагностикумов для идентификации вирусов. ПКРБ человека и вирусов может быть источником осложнений вакцинаций из-за возможности индуцирования к разным эпитомам ви-

русных белков АТ, перекрестно реагирующих с белками человека, что продемонстрировано на примере НП вируса гриппа А.

Благодарности

Автор благодарит д-ра С.С. Ахмеда (S.S. Ahmed, Novartis Vaccines, Italy) за возможность познакомиться с данными по анализу причин поствакцинальной нарколепсии.

Список литературы/References

1. Харченко Е.П. Иммуноэпитопный континуум родства белков и полиреактивность и аутореактивность антител // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 4. С. 335–346 [Kharchenko E.P. Immune Epitope continuum of the protein relationships, poly- and autoreactivity of antibodies] *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, vol. 17, no. 4, pp. 335–346. doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-335-346 (In Russ.)
1. Харченко Е.П. Эволюционные аспекты оценки возможного числа и источников белковых регуляторов в организме // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 1988. Т. 24. С. 240–249. [Kharchenko E.P. Evolutionary aspects of evaluation of possible number and sources of protein regulators in the organism. *Zhurnal evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii = Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 1989, vol. 25, no. 2, pp. 176–181. (In Russ.)]
2. Ahmed S.S., Volkmut W., Duca J., Corti L., Pallaoro M., Pezzicoli A., Karle A., Rigat F., Rappuoli R., Narasimhan V., Julkunen I., Vuorela A., Vaarala O., Nohynek H., Pasini F.L., Montomoli E., Trombetta C., Adams C.M., Rothbard J., Steinman L., Antibodies to influenza nucleoprotein cross-react with human hypocretin receptor 2. *Sci. Transl. Med.*, 2015, vol. 7, no. 294:ra105. doi: 10.1126/scitranslmed.aab2354
3. Gil A., Kenney L.L., Mishra R., Watkin L.B., Aslan N., Selin L.K. Vaccination and heterologous immunity: educating the immune system. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2015, vol. 109, no. 1, pp. 62–69. doi: 10.1093/trstmh/tru198
4. Gunti S., Messer R.J., Xu C., Yan M., Coleman W.G., Peterson K.E., Hasenkrug K.J., Notkins A.L. Stimulation of Toll-like receptors profoundly influences the titer of polyreactive antibodies in the circulation. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5:15066. doi: 10.1038/srep15066
5. Haynes B.F., Moody M.A., Alam M., Bonsignori M., Verkoczy L., Ferrari G., Gao F., Tomaras G.D., Liao H.X., Kelsoe G. Progress in HIV-1 vaccine development. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, vol. 134, pp. 3–10. doi: 10.1016/j.jaci.2014.04.025
6. Nagele E.P., Han M., Acharya N.K., DeMarshall C., Kosciuk M.C., Nagele R.G. Natural IgG autoantibodies are abundant and ubiquitous in human sera, and their number is influenced by age, gender, and disease. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 4:e60726. doi: 10.1371/journal.pone.0060726
7. Poropatch K., Sullivan D.J. Jr. Human immunodeficiency virus type I long-term non-progressors: the viral genetic and immunological basis for disease non-progression II. *J. Gen. Virol.*, 2011, vol. 92, pt. 2, pp. 247–268. doi: 10.1099/vir.0.027102-0
8. Rothstein T.L., Griffin D.O., Holodick N.E., Quach T.D., Kaku H. Human B-1 cells take the stage. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2013, vol. 1285, pp. 97–114. doi: 10.1111/nyas.12137
9. Selin L.K., Wlodarczyk M.F., Kraft A.R., Nie S., Kenney L.L., Puzone R., Celada F. Heterologous immunity: immunopathology, autoimmunity and protection during viral infections. *Autoimmunity*, 2011, vol. 44, pp. 328–347. doi: 10.3109/08916934.2011.523277
10. Sharma S., Thomas P.G. The two faces of heterologous immunity: protection or immunopathology. *J. Leukoc. Biol.*, 2014, vol. 95, pp. 405–416. doi: 10.1189/jlb.0713386
11. Shen Z.T., Nguyen T.T., Daniels K.A., Welsh R.M., Stern L.J. Disparate epitopes mediating protective heterologous immunity to unrelated viruses share peptide-MHC structural features recognized by cross-reactive T cells. *J. Immunol.*, 2013, vol. 191, no. 10, pp. 5139–5152. doi: 10.4049/jimmunol.1300852
12. Van Regenmortel M. An outdated notion of antibody specificity is one of the major detrimental assumptions of the structure-based reverse vaccinology paradigm, which prevented it from helping to develop an effective HIV-1 vaccine. *Front Immunol.*, 2014, vol. 5:593. doi: 10.3389/fimmu.2014.00593
13. Verkoczy L., Diaz M., Holl T.M., Ouyang Y.B., Bouton-Verville H., Alam S.M., Liao H.X., Kelsoe G., Haynes B.F. Autoreactivity in an HIV-1 broadly reactive neutralizing antibody variable region heavy chain induces immunologic tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, vol. 107, pp. 181–186. doi: 10.1073/pnas.0912914107
14. Vujčić A.D., Gemović B., Veljković V., Glisic S., Veljković N. Natural autoantibodies in healthy neonatals recognizing a peptide derived from the second conserved region of HIV-1 gp120. *Vojnosanit Pregl.*, 2014, vol. 71, no. 4, pp. 352–361.
15. Welsh R.M., Che J.W., Brehm M.A., Selin L.K. Heterologous immunity between viruses. *Immunol. Rev.*, 2010, vol. 235, no. 1, pp. 244–266. doi: 10.1111/j.0105-2896.2010.00897.x
16. Yang G., Holl T.M., Liu Y., Li Y., Lu X., Nicely N.I., Kepler T.B., Alam S.M., Liao H.X., Cain D.W., Spicer L., VandeBerg J.L., Haynes B.F., Kelsoe G. Identification of autoantigens recognized by the 2F5 and 4e10 broadly neutralizing HIV-1 antibodies. *J. Exp. Med.*, 2013, vol. 210, no. 2, pp. 241–256. doi: 10.1084/jem.20121977

Автор:

Харченко Е.П., д.б.н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия.

Author:

Kharchenko E.P., PhD, MD (Biology), Senior Researcher, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 11.01.2016
Отправлена на доработку 20.01.2016
Принята к печати 25.02.2016

Received 11.01.2016
Revision received 20.01.2016
Accepted 25.02.2016

ВЛИЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ОТВЕТА ИММУНИТЕТА НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

Д.В. Шадуро, В.А. Белоглазов, А.И. Гордиенко

Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым

Резюме. *Введение.* Системная красная волчанка (СКВ) — тяжелое аутоиммунное заболевание с высоким уровнем инвалидизации и летальности. С каждым десятилетием уровень заболеваемости СКВ возрастает. Современные исследования не позволяют выявить этиологию данного заболевания. В патогенетической картине заболевания преобладают процессы поликлональной стимуляции Т- и В-лимфоцитов. В качестве одного из мощных триггеров может выступать липополисахарид (ЛПС), или эндотоксин (ЭТ), грамотрицательных бактерий. Активность воздействия которого регулируется специфическим гуморальным и клеточным антиэндотоксиновым ответом иммунитета. *Материалы и методы.* В исследовании участвовало 48 больных СКВ, контрольную группу составили 40 относительно здоровых доноров. Материалом исследования послужила венозная кровь. Были определены следующие показатели: уровни специфических антиэндотоксиновых антител (анти-ЛПС-IgA, IgM и IgG) — методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА); концентрация общих иммуноглобулинов IgA, IgM и IgG — микротурбидиметрическим методом; концентрация С-реактивного белка (СРБ) — «сэндвич»-вариантом тИФА; эндогенная интоксикация (ЭИ) — методом определения молекул средней массы по спектру поглощения в ультрафиолете; циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) — методом преципитации в полиэтиленгликоле. Статистическую обработку проводили при помощи лицензионного программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007 и MedStat®. *Результаты.* В ходе исследования было выявлено статистически значимое увеличение анти-ЛПС-IgG у больных СКВ в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой, незначительное увеличение общего IgG на 5%. Индекс эндогенной интоксикации у больных СКВ был выше на 13,9%, ЦИК — на 150%. Уровень СРБ в группе исследования был увеличен в 6,8 раз по сравнению с контролем. Также были выявлены: обратная корреляционная связь между анти-ЛПС-IgG и СРБ и между анти-ЛПС-IgG и ЭИ, прямая корреляционная связь между анти-ЛПС-IgA и возрастом больных. *Обсуждение.* Полученные результаты свидетельствуют о дисфункции антиэндотоксинового иммунного ответа (АЭО) у больных СКВ, а именно об увеличении концентрации специфических анти-ЛПС-Ig. Выявленные увеличения показателей системного воспаления коррелировали с показателями АЭО, что подтверждает их взаимное влияние, что способствует поражению органов мишеней и может усугублять проявление и течение СКВ. Нормализация АЭО и элиминация ЛПС может стать новым направлением терапии больных СКВ.

Ключевые слова: эндотоксин, системная красная волчанка, иммуноглобулины, антиэндотоксиновые антитела, эндогенная интоксикация, циркулирующие иммунные комплексы.

Адрес для переписки:

Шадуро Денис Владимирович
295003, Республика Крым, г. Симферополь, б-р Ленина, 5/7,
Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО
«Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».
Тел.: 8 978 823-99-76.
E-mail: shadden@mail.ru

Contacts:

Denis V. Shaduro
295003, Republic of Crimea, Simferopol, Lenin Avenue, 5/7,
Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Crimean Federal
University named after V.I. Vernadsky.
Phone: +7 978 823-99-76.
E-mail: shadden@mail.ru

Библиографическое описание:

Шадуро Д.В., Белоглазов В.А., Гордиенко А.И. Влияние гуморального антиэндотоксинового ответа иммунитета на показатели системного воспаления у больных системной красной волчанкой // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 165–172. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-165-172

Citation:

Shaduro D.V., Beloglazov V.A., Gordienko A.I. The influence of humoral immunity antiendotoxin response to indicators of systemic inflammation in patients with systemic lupus erythematosus // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 165–172. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-165-172

THE INFLUENCE OF HUMORAL IMMUNITY ANTIENDOTOXIN RESPONSE TO INDICATORS OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Shaduro D.V., Beloglazov V.A., Gordienko A.I.

Medical Academy named after S.I. Georgievsky of "Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky", Simferopol, Republic of Crimea

Abstract. *Introduction.* Systemic lupus erythematosus (SLE) — severe autoimmune disease that has a high level of morbidity and mortality. With each decade the SLE incidence rate grows up. Current researches do not allow to identify the etiology of this disease. The polyclonal stimulation of T and B lymphocytes processes are prevailed in pathogenetic picture of the disease. One of the most powerful triggers of stimulation may be a gram-negative bacteria lipopolysaccharide (LPS) or endotoxin (ET). The impact activity is regulated by a specific humoral and cellular antiendotoxin immune response. *Materials and methods.* The study group involved 48 patients with SLE, the control group consisted of 40 healthy donors. The material of the study was the venous blood. The following indicators have been identified: the levels of specific anti-endotoxin antibodies (anti-LPS IgA, IgM and IgG), by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA); concentration of total immunoglobulins IgA, IgM and IgG — microturbidimetric method; the concentration of C-reactive protein (CRP) — ELISA; endogenous intoxication (EI) — a method of determining the average molecular weight for the absorption in the ultraviolet spectrum; circulating immune complexes (CIC) — the method of precipitation in polyethylene glycol. Statistical processing was performed using Microsoft Office Excel 2007 software and MedStat®. *Results.* The study showed a statistically significant increase in anti-LPS-IgG SLE patients by 2.5 times compared with the control group. A slight increase in total IgG by 5%. Endogenous intoxication index in SLE patients was higher by 13.9%, CIC by 150%. The level of CRP in the study group was 6.8 times higher compared with the control. There were also identified the inverse correlation between anti-LPS-IgG and CRP, the inverse correlation between anti-LPS-IgG and EI, direct correlation between anti-LPS-IgA and the age of patients. *Discussion.* These results indicate the presence of dysfunction in the antiendotoxin immune response (AEIR) in SLE patients, namely increasing concentrations of specific anti-LPS-Ig. Identified growth of indicators of systemic inflammation correlated with indicators of AEIR, that confirms their mutual influence, which contributes to the lesion of organ-targets and can aggravate the manifestation and course of SLE. Normalization of AEIR, elimination of LPS may be a new way of treatment for SLE patients

Key words: endotoxin, systemic lupus erythematosus, immunoglobulins, anti-endotoxin antibodies, endogenous intoxication, circulating immune complexes.

Введение

Системная красная волчанка (СКВ) является одним из наиболее тяжелых аутоиммунных воспалительных заболеваний соединительной ткани, приводящих к летальному исходу. Известно, что в течение 10 лет 28% больных СКВ умирают от поражения жизненно важных органов [14]. Частота встречаемости СКВ возрастает с каждым десятилетием: в период с 1950 по 1979 гг. она составляла 1,51 на 100 тыс. населения, с 1980 по 1992 гг. — 5,56 на 100 тыс. населения [16]. В Республике Крым заболеваемость СКВ за 2011–2014 гг. составила 5,6 на 100 тыс. населения. Рост заболеваемости в последнее десятилетие может быть следствием улучшения диагностической базы, расширения лабораторных критериев, увеличения выявляемости слабовыраженных форм данного заболевания [14].

В настоящее время существует множество противоречивых теорий, объясняющих этиологию данного заболевания, но современные исследования подтверждают мультифакториальность специфического волчаночного воспаления [15]. В качестве мощного триггера и индуктора аутоиммунного воспаления может выступать эндотоксин (ЭТ), или липополиса-

харид (ЛПС), грамотрицательной энтерофлоры, а также процессы усиления его транслокации по оси «слизистые оболочки — внутренние среды организма». Как известно в условиях патологии ЭТ является мощным провоспалительным фактором, поликлональным активатором Т- и В-лимфоцитов. Клинический спектр проявлений его воздействия на организм находится в диапазоне от лихорадочного состояния до эндотоксического шока [12, 17].

Интегральный эффект воздействия ЭТ на организм зависит как от его количества, так и от состояния эндотоксинсвязывающих гуморальных и клеточных систем организма.

Цель данной работы заключалась в изучении состояния гуморального звена антиэндотоксического ответа иммунитета (АЭИ) и его влияния на состояние общего гуморального звена иммунитета у больных СКВ и в исследовании показателей системного воспаления и эндогенной интоксикации.

Материалы и методы

Нами было обследовано 48 пациентов ревматологического отделения КРУ КБ им. Н.А. Семашко г. Симферополя с диагнозом системная красная волчанка в период с 2011 по 2014 гг.

Контрольную группу составили 40 относительно здоровых доноров. Материалом исследования послужила свежемороженая сыворотка крови, полученная методом центрифугирования цельной крови, взятой с письменного разрешения пациентов и доноров. После заморозки сыворотка доставлялась в лабораторию клинической иммунологии Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской академии им. С.И. Георгиевского, с соблюдением холодовой цепочки. Средний возраст больных составил $36,4 \pm 1,8$ года, минимальный возраст 19 лет, максимальный — 72 года, средний стаж заболевания составил $8,0 \pm 1,4$ года, катамнез заболевания составил от полугода до 25 лет. Женщины преобладали в исследовании и составили 89,6%. Распределение больных по степени активности заболевания было следующим: с первой степенью активности — 41,7%, со второй — 58,3%.

Антиэндотоксиновые антитела классов А, М и G (соответственно анти-ЛПС-IgA, анти-ЛПС-IgM и анти-ЛПС-IgG) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. В качестве антигена использовали коммерческий препарат ЛПС *Escherichia coli* K235 (Sigma Chem. Co., США). Уровни анти-ЛПС-IgA, анти-ЛПС-IgM и анти-ЛПС-IgG выражали в условных единицах оптической плотности (ед. ОП) при длине волны 492 нм (E492), используя протоколы, разработанные на базе лаборатории клинической иммунологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского [3].

Концентрацию общих иммуноглобулинов определяли микротурбидиметрическим методом с использованием моноспецифических овечьих сывороток к иммуноглобулинам человека класса А, М и G (IgA, IgM и IgG), полученные в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.И. Гамалеи (Москва, Россия).

Содержание С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови больных определяли «сэндвич»-вариантом тИФА с использованием биотин-стрептавидиновой системы усиления сигнала. Содержание СРБ выражали в мг/мл.

Для оценки эндогенной интоксикации (ЭИ) определяли содержание молекул средней массы, которое оценивали по спектру поглощения в ультрафиолете безбелковых фракций плазмы или сыворотки крови [7]. Количество средних молекул оценивали по поглощению при длине волн 260 и 280 нм.

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) определяли методом преципитации в 4,2% растворе полиэтиленгликоля (PEG) [4].

Количество ЦИК в сыворотке крови выражали в условных единицах.

Расчеты и статистическую обработку данных осуществляли лицензионным пакетом Microsoft Office Excel 2007 и лицензионной программой MedStat (г. Донецк, Украина). При этом проводили проверку выборок на нормальность с последующим расчетом достоверности параметрическим методом по t-критерию Стьюдента и критерию Шаффе, непараметрическими методами по T-критерию Вилкоксона (для связанных выборок) и H-критерию Крускала–Уоллиса (являющимся обобщением U-критерия Манна–Уитни для несвязанных выборок), расчет корреляционных связей по коэффициенту Пирсона и Спирмена, а также построение уравнения линейной регрессии [11].

Результаты

В ходе исследования уровня специфических антиэндотоксиновых антител классов А, М и G были получены результаты, представленные на рисунке 1.

При изучении специфических антиэндотоксиновых антител классов А, М и G в периферической крови было установлено, что достоверно уровень анти-ЛПС-IgA у больных СКВ не отличался от такового в контрольной группе и составил $0,186 \pm 0,011$ ед. ОП ($p = 0,211$). Медиана уровня анти-ЛПС-IgM у больных СКВ составила $0,155 \pm 0,024$ ед. ОП и достоверно не отличался от такового в группе контроля ($p = 0,072$). При этом статистически значимые отличия уровней антител у больных СКВ в сравнении с контрольной группой были выявлены только при изучении анти-ЛПС IgG, средний уровень которого составил $0,744 \pm 0,041$ ед. ОП. Медиана уровня анти-ЛПС-IgG у больных СКВ оказалась достоверно выше (в 2,5 раза), чем в группе сравнения ($p < 0,001$).

При определении уровней общих сывороточных иммуноглобулинов были получены результаты, представленные на рисунке 2. Все вариационные ряды не отличались от нормального распределения, а уровни общих IgA и IgM достоверно не отличались от таковых в группе сравнения. Концентрация IgG достоверно была выше у больных СКВ всего на 5%.

При изучении уровня эндогенной интоксикации организма больных СКВ, выявлено увеличение эндогенной интоксикации на 13,9% (статистическая значимость составила $p = 0,002$). Уровень концентрации молекул средней массы и индекс ЭИ представлены в таблице.

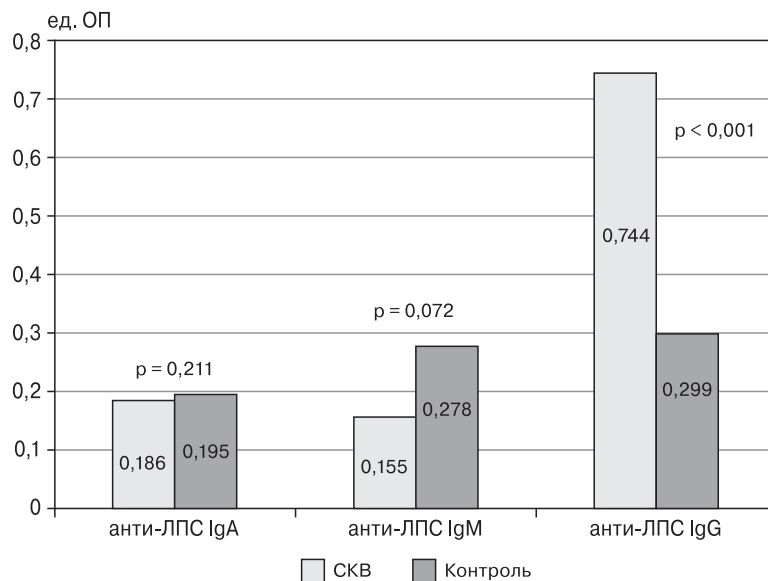


Рисунок 1. Уровни специфических антиэндотоксиновых антител у больных СКВ и лиц контрольной группы

Так же нами выявлено увеличение количества циркулирующих иммунных комплексов у больных СКВ в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой, что составило $19,29 \pm 1,55$ у.е. (критерий Стьюдента $p < 0,001$, критерий Шеффе $p < 0,01$). В среднем уровень СРБ в группе исследования был увеличен в 6,8 раз по сравнению с контролем, медиана составила $16,55 \pm 4,51$ мг/мл (I квартиль — 7,75 мг/мл, III квартиль — 32,79 мг/мл), W-критерий Вилкоксона составил $p < 0,001$, H-критерий Крускала–Уоллиса: $p < 0,001$. Данные об уровне СРБ и циркулирующих иммунных комплексов представлены в таблице.

Обсуждение

Анализируя данные исследования, нами обнаружено увеличение уровня Анти-ЛПС-IgG, увеличение уровня СРБ, эндогенной интоксикации и ЦИК, незначительное увеличение общего IgG у больных СКВ по сравнению с контрольной группой. В ходе изучения корреляционных связей между вышеперечисленными показателями была обнаружена обратная корреляционная связь между анти-ЛПС-IgG и СРБ, коэффициент корреляции Пирсона $R = -0,341$ на уровне статистической значимости $p = 0,018$. Линейную зависимость можно

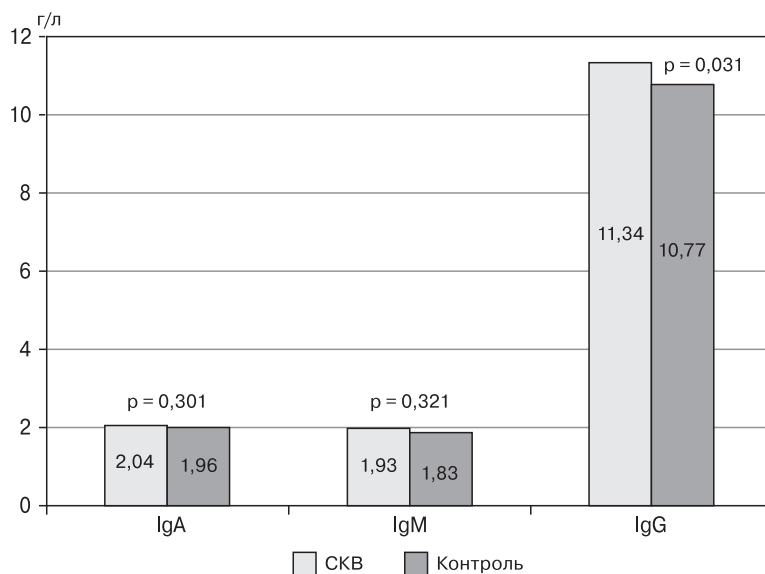


Рисунок 2. Уровни общих IgA, IgM и IgG у больных СКВ и лиц контрольной группы

ТАБЛИЦА. УРОВЕНЬ И ИНДЕКС ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ, СРБ И ЦИК В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ СКВ И ЛИЦ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ

Значение	Группа	Среднее значение/ медиана (I–III квантили)	Ошибка среднего/ медианы	Статистическая значимость
Эндогенная интоксикация, при 260 нм (ед. ОП)	СКВ	0,060 М (0,051–0,086)	±0,004 М	p = 0,157 Н
	контроль	0,0718 С	±0,002 С	
Эндогенная интоксикация, при 280 нм (ед. ОП)	СКВ	0,125 М (0,11–0,143)	±0,007 М	p = 0,657 Н
	контроль	0,122 М (0,108–0,137)	±0,006 М	
Индекс эндогенной интоксикации (ед. ОП)	СКВ	2,064 С	±0,063 С	p = 0,002 S
	контроль	1,812 С	±0,047	
СРБ (мг/мл)	СКВ	16,55 М (7,75–32,79)	±4,52 М	p < 0,001 Н
	контроль	2,44 С	±0,3 С	
ЦИК (у.е.)	СКВ	19,29 С	±1,55 С	p < 0,001 S
	контроль	12,67 С	±1,12 С	

Примечание. С – среднее значение, М – медиана, Н – критерий Крускала–Уоллиса, S – критерий Стьюдента.

представить формулой: СРБ = 46,512 – (29,73 × Анти-ЛПС-IgG), коэффициент детерминации составил 0,117. Также обнаружена обратная зависимость между анти-ЛПС-IgG и индексом эндогенной интоксикации. Коэффициент корреляции Пирсона R = –0,290, на уровне значимости p = 0,045. Линейная модель регрессии можно представить формулой: ЭИ = 2,393 – (0,442 × Анти-ЛПС-IgG), коэффициент детерминации составил 0,084.

Исходя из вышеописанной формулы – уменьшение анти-ЛПС-IgG приводит к увеличению СРБ, что является показателем системного воспаления. Данная зависимость свидетельствует о том, что специфические антиэндоксинные антитела значимы в общей картине волчаночного воспаления и имеют протекторную функцию.

Полученная связь между анти-ЛПС-IgG и эндогенной интоксикацией показывает, что с увеличением ЭИ организма снижается специфическая гуморальная антиэндоксинная защита. Логично предположить, что недостаточная нейтрализация ЭТ специфическими антителами закономерно приводит к росту уровня системного воспаления и эндогенной интоксикации, усиливает эндотоксинзависимую поликлональную активацию аутореактивных клеток, стимулирует поражение органов-мишеней. Следовательно, при СКВ определение концентрации анти-ЛПС-IgG в периферической крови приобретает важное диагностическое значение как дополнительный лабораторный критерий тяжести течения

заболевания. С другой стороны, можно сделать предположение, что именно ЛПС грамотрицательных бактерий является фактором риска развития эндогенной интоксикации и формирования высокого системного и аутоиммунного воспаления при СКВ.

Отсутствие изменения концентрации специфического анти-ЛПС-IgM на фоне резкого увеличения титра анти-ЛПС-IgG отражает хронический характер чрезмерной транслокации ЭТ во внутренние среды организма. Следует отметить, что Потаповым А.Л. (2011 г.) при изучении гуморального звена антиэндоксинного ответа иммунитета и показателей системного воспаления в периоперационный период было обнаружено усиление продукции анти-ЛПС-IgM, где им отводится протекторная роль, влияющая даже на выживаемость пациентов [9]. Связав их результаты с нашими данными, можно предположить, что при острых воспалительных заболеваниях и состояниях протекторной функцией обладает анти-ЛПС-IgM, а при хронических и длительно текущих – анти-ЛПС-IgG.

Отсутствие ожидаемого изменения концентрации антиэндоксинных антител класса А, которые должны избыточно образовываться первыми на пути транслокации эндотоксина в направлении кишечник–слизистые–портальный и системный кровотоки на фоне гиперпродукции анти-ЛПС-IgG у больных СКВ, возможно является сочетанным результатом нескольких факторов. Известно, что IgA-зависимые плазмоциты повторно заселяясь

в селективные слизистые различных органов и систем, подвергаются терминальной дифференцировке под действием тканевого окружения и цитокинов и первыми реагируют на противовоспалительную терапию снижением своей активности [13]. Поэтому отсутствие достоверного увеличения специфического IgA можно трактовать как реакцию на пероральный прием цитостатических препаратов и глюкокортикостероидов, применяемых нашими больными. Достоверно известно, что при СКВ поражаются слизистые оболочки практически всех органов и систем, усиливается их ишемия и микротромбообразование. Учитывая, что сывороточный IgA является строительным материалом для синтеза секреторного IgA, мы считаем, что отсутствие достоверных изменений уровня сывороточного IgA является закономерной сочетанной реакцией на морфологические, иммунные и терапевтические изменения, происходящие в слизистых оболочках пациентов. Также следует принять во внимание, что отсутствие увеличения антиэндотоксиновых IgA и IgM может являться следствием их усиленного потребления в ответ на хроническую транслокацию ЭТ. Похожие результаты были получены коллективом авторов, у больных хронической почечной недостаточностью, где было выявлено увеличение только специфического анти-ЛПС-IgG при нормальных значениях других классов антител на фоне эфферентной терапии [1]. Данное сходство полученных результатов можно трактовать тем, что почки, как при СКВ, так и при хронической болезни почек, являются важными органами-мишенями, участвующими в воспалительном процессе.

Также при СКВ нами была обнаружена слабая прямая корреляционная связь между возрастом больного и уровнем анти-ЛПС-IgA, коэффициент корреляции Пирсона составил: $R = 0,294$, на уровне значимости $p = 0,042$. При построении линейной модели (коэффициенте детерминации 0,086) зависимость можно представить формулой: Анти-ЛПС-IgA = $0,121 + (0,0018 \times \text{Возраст})$.

Корреляционная связь показывает, что с увеличением возраста пациента увеличивается количество анти-ЛПС-IgA. Данную закономерность можно трактовать как возрастное истощение возможностей естественных слизистых барьеров и соответственное усиление защитных иммунологических механизмов, способствующих нивелированию избыточного поступления эндотоксина в системный кровоток.

Также следует отметить закономерность увеличения как общего IgG, так и анти-ЛПС-

IgG без достоверно значимых изменений иных гомологичных иммуноглобулинов. Учитывая, что при определении уровня общего IgG исследовались все иммуноглобулины данного класса, то выявленное резкое увеличение анти-ЛПС-IgG и могло повлиять на увеличение общей фракции данных иммуноглобулинов.

Увеличение индекса ЭИ можно трактовать с различных точек зрения, так как эндогенная интоксикация является многофакторным синдромом. Учитывая это, ЭИ является синдромом, который негативно влияет на трофику и функциональное состояние слизистых оболочек, кожных покровов [4], гломерулярного аппарата почки, микрососудистого русла, бронхолегочной ткани [5], ткани центральной и периферической нервной системы [7], то есть именно тех органов, которые и являются мишенями при СКВ. Увеличение анти-ЛПС-IgG, описанное выше, подтверждает, что одной из основных причин ЭИ у больных СКВ может выступать именно липополисахарид грамотрицательной кишечной флоры. Поэтому для достижения управляемой ремиссии у больных СКВ следует использовать не только базисную, но и детоксикационную и элиминационную терапию, а также восстановление нормальной микрофлоры кишечника. Схожие положительные результаты от вспомогательной терапии были получены другими авторами при коррекции антиэндотоксинового гуморального иммунитета при остром воспалительном заболевании [2], а также в терапии воспалительных заболеваний кишечника [10].

Увеличение количества циркулирующих иммунных комплексов у больных СКВ является характерным для течения данного заболевания. Хотя немаловажным является тот факт, что в формировании ЦИК имеет место хроническая грамотрицательная кишечная инфекция, которая может существенно повышать уровень ЦИК и усугублять степень поражения органов-мишеней.

Выводы

1. У больных СКВ выявлено резкое увеличение титра специфических анти-ЛПС-IgG и индекса ЭИ на фоне нормативного значения анти-ЛПС-IgA и анти-ЛПС-IgM, что свидетельствует о хронической эндотоксиновой агрессии.
2. Обнаруженные корреляционные связи между специфическим анти-ЛПС-IgG с одной стороны, и СРБ и ЦИК — с другой, подтверждают непосредственное влияние дисбаланса антиэндотоксинового ответа иммунитета на системное воспаление

у больных СКВ, поэтому можно считать, что данный дисбаланс играет весомую роль в поддержании аутоиммунного волчаночного воспаления.

3. Наличие высокого уровня ЦИК, СРБ, молекул средней массы является сочетанным результатом как аутоиммунного процесса, так и эндотоксинемии, что спо-

собствует поражению органов-мишеней, усугубляя клиническое течение СКВ. Поэтому элиминация ЛПС, нормализация состава кишечной биофлоры и усиление барьерных функций слизистых оболочек является новым приоритетным и патогенетически обоснованным направлением лечения больных СКВ.

Список литературы/References

1. Белоглазов В.А., Климчук А.В. Антиэндотоксиновый иммунитет и уровень С-реактивного белка у больных хронической болезнью почек, находящихся на диализе // Таврический медико-биологический вестник. 2013. Т. 16, № 4. С. 25–28. [Biloglazov V.A., Klimchuk A.V. Antiendotoxin immunity and the level of C-reactive protein in patients with chronic kidney disease on dialysis. *Tavrisheskiy mediko-biologicheskiy vestnik = Taurian Biomedical Bulletin*, 2013, vol. 16, no. 4, pp. 25–28. (In Russ.)]
2. Волков Д.Е., Сафина Н.А., Терещенко В.Ю., Зинкевич О.Д., Воронин В.Н., Устинов В.В., Мингазов Р.Г., Ситдииков Р.И. Системная эндотоксинемия и напряженность антиэндотоксинового гуморального иммунитета при использовании энтеросорбции в комплексном лечении острого холецистита и механической желтухи // Казанский медицинский журнал. 2002. Т. 83, № 6. С. 411–413. [Volkov D.E., Safina N.A., Tereshchenko V.Yu., Zinkevich O.D., Voronin V.N., Ustinov V.V., Mingazov R.G., Sitdikov R.I. Systemic endotoxemia and stress of antiendotoxin humoral immunity during enterosorption in combined treatment of acute cholecystitis and mechanical jaundice. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2002, vol. 83, no. 6, pp. 411–413. (In Russ.)]
3. Гриневиц Ю.А., Каменец Л.Я. Основы клинической иммунологии опухолей. Киев: Здоровье, 1986. С. 56–57. [Grinevich Yu.A., Kamenets L.Ya. *Osnovy klinicheskoi immunologii opukhlei* [Basics of clinical immunology of tumors]. Kiev: Zdorov'e, 1986, pp. 56–57]
4. Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений // Клиническая лабораторная диагностика. 2004. № 3. С. 3–8. [Karyakina E.V., Belova S.V. Medium mass molecules as an integral indicator of metabolic disorders. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*, 2004, no. 3, pp. 3–8. (In Russ.)]
5. Киселева Р.Е. Современные аспекты эндотоксикоза // Успехи современного естествознания. 2006. № 6. С. 74–75. [Kiseleva R.E. Modern aspects of endotoxicosis. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = The Successes of Modern Science*, 2006, no. 6, pp. 74–75. (In Russ.)]
6. Копытова Т.В. Молекулы средней массы как субстрат эндогенной интоксикации при тяжелых дерматозах // Успехи современного естествознания. 2006. № 9. С. 7–10. [Kopytova T.V. Mean mass molecules as substrate of endogenous intoxication in patients with strong dermatoses. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = The Successes of Modern Science*, 2006, no. 9, pp. 7–10. (In Russ.)]
7. Парахонский А.П., Цыганок С.С. Роль иммунопатологических механизмов в развитии синдрома эндогенной интоксикации // Фундаментальные исследования. 2008. № 4. С. 28. [Parakhonskiy A.P., Tsyganok S.S. Role of the immunopathological mechanisms in the development endogenous intoxication syndrome. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research*, 2008, no. 4, p. 28. (In Russ.)]
8. Патент 70193А Украина, МПК А61К 31/01 (2006.01). Способ определения антител к липополисахаридам грамотрицательных бактерий / Гордиенко А.И., Белоглазов В.А.; заявитель и патентообладатель Крымский государственный медицинский университет (RU). № 70193А; заявл. 29.12.2003; опубл. 15.09.2004, бюл. № 9 [Patent 70193A Ukraine, IPC A61K 31/01 (2006.01). Sposob opredeleniya antitel k lipopolisakharidam gramotritsatel'nykh bakterii [Method for assaying antibodies against lipopolysaccharides of gram-negative bacteria] / Hordiienko A.I., Bilohlazov V.O.; appl. and patent holder Crimea State Medical University (RU). No. 70193A; stat. 29.12.2003; publ. 15.09.2004, Bul. # 9]
9. Потапов А.Л. Влияние различных подходов к ведению периоперационного периода на проявления системной воспалительной реакции после операций на почке и верхней трети мочеточника // Запорожский медицинский журнал. 2011. Т. 13, № 5. С. 47–49. [Potapov A.L. Effect of different approaches to management in perioperative period of manifestation of systemic inflammatory response after surgery on the kidney and third upper of ureter. *Zaporozhskii meditsinskiy zhurnal = Zaporozhye Medical Journal*, 2011, vol. 13, no. 5, pp. 47–49. (In Russ.)]
10. Федорова О.В., Федулова Э.Н., Тутина О.А., Коркоташвили Л.В. Эндогенная интоксикация при воспалительных заболеваниях кишечника у детей: обоснование эфферентной терапии // Современные технологии в медицине. 2011. № 3. С. 94–97. [Fedorova O.V., Fedulova E.N., Tutina O.A., Korkotashvili L.V. Endogenous intoxication in inflammatory bowel diseases in children: substantiation of efferent therapy. *Sovremennye tekhnologii v meditsine = Modern Technologies in Medicine*. 2011, no. 3, pp. 94–97. (In Russ.)]
11. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб.: ВМедА, 2002. 266 с. [Yunkеров V.I., Grigor'ev S.G. *Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannykh meditsinskiy issledovaniy* [Mathematical and statistical processing of medical research data]. St. Petersburg: VMedA, 2002, 266 p.]
12. Diks S.H., Van Deventer S.J., Peppelenbosch M.P. Lipopolysaccharide recognition, internalisation, signalling and other cellular effect. *J. Endotoxin. Res.*, 2001, vol. 7, no. 5, pp. 335–348. doi: 10.1177/09680519010070050101
13. Fujihashi K., Kato H., Van Ginkel F.W., Koga T., Boyaka P.N., Jackson R.J., Kato R., Hagiwara Y., Etani Y., Goma I., Fujihashi K., Kiyono H., McGhee J.R. A revisit of mucosal IgA immunity and oral tolerance. *Acta Odont. Scand.*, 2001, vol. 59, no. 5, pp. 301–308, doi: 10.1080/000163501750541174

14. Gill J.M., Quisel A.M., Rocca P.V., Walters D.T. Diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Am. Fam. Physician*, 2003, vol. 68, no. 11, pp. 2179–2187.
15. Mok C.C., Lau C.S. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Pathol.*, 2003, vol. 56, no. 7, pp. 481–490. doi: 10.1136/jcp.56.7.481
16. Scolding N.J., Joseph F.G. The neuropathology and pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 2002, vol. 28, no. 3, pp. 173–189. doi: 10.1046/j.1365-2990.2002.00406.x
17. Yakovlev M.Yu. Elements of endotoxin theory of human physiology and pathology: systemic endotoxemia, endotoxin aggression and endotoxin insufficiency. *J. Endotoxin. Res.*, 2000, vol. 6, no. 2, p. 120.

Авторы:

Шадуро Д.В., ассистент и аспирант кафедры внутренней медицины № 2 Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым;

Белоглазов В.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренней медицины № 2 Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым;

Гордиенко А.И., к.б.н., ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией клинической иммунологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым.

Authors:

Shaduro D.V., Assistant Professor and PhD Candidate, Department of Internal Medicine No. 2, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea;

Beloglazov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Internal Medicine No. 2, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea;

Gordienko A.I., PhD (Biology), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Clinical Immunology, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea.

Поступила в редакцию 22.03.2016
Принята к печати 18.04.2016

Received 22.03.2016
Accepted 18.04.2016

АНАЛИЗ ИНФИЦИРОВАННОСТИ КЛЕЩЕЙ ВИДОВ *IXODES PERSULCATUS* И *DERMACENTOR RETICULATUS* ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ТРАНСМИССИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ТЕРРИТОРИИ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

С.А. Волков¹, Е.А. Бессолицына¹, Ф.С. Столбова², И.В. Дармов¹

¹ Вятский государственный университет, г. Киров, Россия

² Вятская государственная сельскохозяйственная академия, г. Киров, Россия

Резюме. К трансмиссивным клещевым заболеваниям относятся боррелиоз, энцефалит, анаплазмоз, эрлихиоз и бабезиоз, которые могут быть опасны как для человека, так и для животных. Некоторые из них способны протекать у животных бессимптомно, что может значительно усложнять их обнаружение. В настоящее время в Российской Федерации регистрируется заболеваемость только клещевым энцефалитом и боррелиозом. Распространенность анаплазмоза, эрлихиоза и бабезиоза на отдельных территориях РФ не известна. Цель работы — определение наличия возбудителей клещевых трансмиссивных инфекций у клещей разных видов, собранных на территории Кировской области в 2010–2015 гг. методом ПЦР. Для определения наличия зависимости между долей инфицированных клещей и их видом, были разработаны праймеры и условия проведения полимеразной цепной реакции; разработана и апробирована методика выделения суммарных нуклеиновых кислот из фиксированных и живых клещей. Установлено, что основными векторами на территории Кировской области являются два вида клещей: *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor reticulatus*. Показано, что доля инфицированных особей этих видов варьирует. Не выявлено существенных различий в доле особей, инфицированных вирусом клещевого энцефалита и боррелиями, в то время как для переносчиков анаплазмоза, эрлихиоза и бабезиоза такая разница присутствует.

Ключевые слова: клещевые трансмиссивные инфекции, клещевой энцефалит, болезнь Лайма, боррелиоз, анаплазмоз, эрлихиоз, бабезиоз, полимеразная цепная реакция.

ANALYSIS OF TICKS OF *IXODES PERSULCATUS* AND *DERMACENTOR RETICULATUS* SPECIES WITH TRANSMISSIBLE DISEASES IN KIROV REGION

Volkov S.A.^a, Bessolytsina E.A.^a, Stolbova F.S.^b, Darmov I.V.^a

^a Vyatka State University, Kirov, Russian Federation

^b Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russian Federation

Abstract. Borreliosis, encephalitis, anaplasmosis, ehrlichiosis and babesiosis belongs to tick-borne transmissible diseases. These diseases are dangerous for human and animals as well. Moreover, some animals can have no clinical signs of these diseases. These diseases are widely spread across Russian Federation, although only encephalitis and borreliosis (Lyme disease) are being monitored nowadays. At the same time anaplasmosis, ehrlichiosis and babesiosis (pyroplasmosis) are not being monitored. Thus a goal of monitoring of these diseases appears. The main vector for these diseases are ticks.

Адрес для переписки:

Волков Станислав Александрович
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, 36,
ФГБОУ ВО Вятский государственный университет.
Тел.: 8 (922) 926-61-05 (моб.).
E-mail: volkov210691@mail.ru

Contacts:

Stanislav A. Volkov
610000, Russian Federation, Kirov, Moskovskaya str., 36,
Vyatka State University.
Phone: +7 (922) 926-61-05 (mobile).
E-mail: volkov210691@mail.ru

Библиографическое описание:

Волков С.А., Бессолицына Е.А., Столбова Ф.С., Дармов И.В. Анализ инфицированности клещей видов *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor reticulatus* трансмиссивными заболеваниями на территории Кировской области // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 173–178. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-173-178

Citation:

Volkov S.A., Bessolytsina E.A., Stolbova F.S., Darmov I.V. Analysis of ticks of *Ixodes persulcatus* and *Dermacentor reticulatus* species with transmissible diseases in Kirov region // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 173–178. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-173-178

Ticks can carry and transmit causative agents of the diseases to domestic and wild animals. Thus a goal of monitoring transmissible diseases in different population of ticks gathered in our country appears. In this study PCR was chose. This method is perspective and is widely used to detect infectious diseases nowadays. Moreover this method allows getting results in quite short period of time. The goal of this work is to determine the presence of causative agents of tick-borne diseases in ticks of different species gathered in different areas of Kirov region in 2010–2015 with the help of PCR. Moreover the goal was to determine if there is a relation between a number of infected ticks and its species. To solve these goal a primers, PCR conditions, method of extraction of total nucleic acid from fixed and alive ticks were engineered. Method of extraction of total nucleic acids allowed with the help of a reverse transcriptase to determine tick-borne encephalitis virus in samples. Analyzed ticks were gathered in Kirov region. It was determined that main vectors in these region are of an *Ixodes persulcatus* and a *Dermacentor reticulatus* species. It was proved that the number of infected ticks can vary in time. It was also proved that there is no significant difference in the number of infected with TBEV and Lyme disease causative agents but there is a significant difference in the number of infected ticks with anaplasmosis, ehrlichiosis and babesiosis causative agents.

Key words: tick-borne transmissible infections, tick-borne encephalitis, Lyme disease, borreliosis, anaplasmosis, ehrlichiosis, babesiosis, polymerase chain reaction.

Основными трансмиссивными заболеваниями, распространенными на территории РФ, являются клещевой энцефалит, болезнь Лайма, анаплазмоз, эрлихиоз и бабезиоз. Проблема распространения клещевых трансмиссивных инфекций в настоящее время становится все более актуальной. Эти заболевания наносят значительный ущерб здоровью домашних и сельскохозяйственных животных, а также представляют опасность для человека.

Клещевой энцефалит (tick borne encephalitis, TBE) — природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и поражением серого вещества головного мозга и/или оболочек головного и спинного мозга. Заболевание может привести к стойким неврологическим, психиатрическим осложнениям и даже к летальному исходу.

Вирус клещевого энцефалита (ТБЕВ) — нейротропный, РНК-содержащий. Относится к роду *Flavivirus*, входит в семейство *Flaviviridae* экологической группы арбовирусов [6, 12]. В настоящее время известно три генетических типа (изоформы) вируса, существенно различающихся по симптомам и прогнозу вызываемого ими заболевания: дальневосточный, сибирский и западноевропейский [12].

Болезнь Лайма (клещевой боррелиоз, Лайм-боррелиоз) — инфекционное, преимущественно трансмиссивное заболевание, обладающее большим полиморфизмом клинических проявлений, часто имеющее хроническое и рецидивирующее течение. Поражаются кожные покровы, нервная и сердечно-сосудистая система, опорно-двигательный аппарат [7]. Патогенными для человека в настоящее время считают только три вида боррелий: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii* [7]. На территории Российской Федерации доминирующее распространение имеет *B. garinii* [9]. Клещевой боррелиоз — это системное заболевание, характеризующееся полиморфизмом клинических проявлений

Боррелии — грамотрицательные жгутиковые [20] спиралевидные микроорганизмы, подвиж-

ны, анаэробы. Оптимальная температура роста — 33°C [17]. Боррелии колонизируют различные органы и ткани, включая суставы и сердце, где вызывают воспалительную реакцию [15]; преимущественно поражают клетки соединительной ткани [7].

Анаплазмоз — трансмиссивная, природноочаговая, инфекционная болезнь крупного и мелкого рогатого скота. Характеризуется острой неспецифической лихорадкой, ознобом, сильной головной, мышечной болями, болью в животе, слабостью. Зачастую регистрируется тромбоцитопения и лейкопения, сопровождающиеся нарушением функции печени и почек. Летальность — 3–10% [4].

Анаплазмы — типичные прокариоты, не имеющие клеточной оболочки, близки к риккетсиям (порядок *Rickettsiales*) [18]. Анаплазмы способны поражать разные клетки — нейтрофилы, тромбоциты или эритроциты, являются облигатными внутриклеточными паразитами, неподвижны, являются строгими анаэробами.

Эрлихиозы — природно-очаговая трансмиссивная инфекция, вызываемая микроорганизмами рода *Ehrlichia*: *E. chaffeensis*, *E. muris*. Эрлихиоз как заболевание человека стал регистрироваться лишь с 1986 г. Все заболевания данной группы вызываются представителями рода *Ehrlichia*, основным хозяином которых являются собаки. Случаи заболевания регистрируются весной, летом и осенью, пик приходится на май–июль [2, 8].

Эрлихии представляют собой мелкие грамотрицательные бактерии (в длину от 0,5 до 1,5 мкм). Являются облигатными паразитами, формируют микроколонии в фагосомах [10].

Бабезиозы — инвазионные трансмиссивные болезни животных и человека, вызываемые простейшими рода *Babesia*. Заболевания протекают с проявлениями лихорадки, анемии, желтухи, гемоглобинурии. Наибольшее ветеринарное значение имеют бабезиозы мелкого и крупного рогатого скота, а также собак. Распространены повсеместно в пределах ареалов переносчиков — нескольких видов пастбищных клещей [14].

Бабезия — внутриклеточный эукариотический паразит, поражающий эритроциты крови крупного рогатого скота, лошадей, овец, свиней, собак, человека. Бабезии имеют различную форму и размеры. Чаще встречаются кольцевые формы, располагающиеся вдоль стенок эритроцита. Пары бабезий образуют грушевидные формы. Зараженность эритроцитов составляет от долей процента (бессимптомные формы заболеваний) до десятков процентов (острые формы) [3, 16].

Экологически возбудители клещевых трансмиссивных инфекций тесно связаны с иксодовыми клещами и их прокормителями. Для Евроазиатского континента наиболее важное эпидемиологическое значение имеют клещи *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus*. Природные очаги трансмиссивных заболеваний поддерживаются благодаря циркуляции возбудителей между клещами и позвоночными. Иксодовые клещи служат не только переносчиками возбудителей, но также выполняют функцию их резервуаров [11]. Основными переносчиками клещевых трансмиссивных заболеваний в Кировской области являются таежные клещи *Ixodes persulcatus*. Однако в связи с изменениями климата, отмечаемыми в последние годы, в некоторых районах Кировской области были выделены луговые клещи (*Dermacentor reticulatus*), и, следовательно, появилась задача мониторинга клещей и этого вида [19].

Целью исследования являлось определение с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) процента клещей, инфицированных боррелиозом, анаплазмозом, эрлихиозом и бабезиозом, а также вирусом клещевого энцефалита (с помощью обратной транскрипции [ОТ]), собранных на территории Кировской области, в зависимости от их видовой принадлежности.

Материалы и методы

Сбор клещей и определение вида. Сбор клещей проводили с растительного покрова на движущегося учётчика и флаг или волокушу из вафельной ткани размером 60 x 100 см [5], а также с людей и домашних животных (собак, кошек).

Идентификацию клещей, выделенных из природных источников, проводили по определительным таблицам Н.А. Филипповой [13].

Выделение и амплификация ДНК. Суммарную ДНК экстрагировали с помощью гуанидинтиоизоцианатного метода [1] из клещей, фиксированных в 70% этиловом спирте.

Исследование нуклеиновых кислот, выделенных из клещей, проводили с использованием обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Для проведения реакции был использован праймер TBEV-R 5'-CTC-ATG-TTC-AGG-CCC-AAC-CA-3'.

Для амплификации использовали следующие праймеры:

- TBEV-E(F) 5'-ACA-CCG-GAG-ACT-ATG-TTG-CCG-CA-3';
- TBEV-E(R) 5'-CCG-TTG-GAA-GGT-GTT-CA-CT-3 [20].

Состав реакционной смеси для ПЦР: 1 мкл пробы, однократный буфер для ПЦР без магния («Sybenzyme») — 1 мкл, 3 mM MgCl₂ — 0,6 мкл, 200 мкмоль смеси дезоксирибонуклеозидтрифосфатов («Sybenzyme») — 0,5 мкл, прямой и обратный праймеры по 10 пмоль каждого («Syntol») по 1 мкл, 1,25 ед. а. Таq-полимеразы («Sybenzyme») — 0,75 мкл, вода до конечного объема 10 мкл.

Условия ПЦР: 1 цикл денатурации — 94°C, 5 мин; 40 циклов — 94°C, 30 с; 57°C, 30 с и 72°C, 30 с; 1 цикл достройки — 72°C, 5 мин.

Для проведения реакции ПЦР на наличие ДНК боррелий были использованы следующие праймеры:

- 5S-23S Spacer (F) 5'-GAG-AGT-AGG-TTA-TTG-CCA-GGG-3';
- 5S-23S spacer (R) 5'-ACC-ATA-GAC-TCT-TAT-TAC-TTT-GAC-CA-3'.

Для проведения реакции ПЦР на наличие ДНК анаплазм были использованы следующие праймеры:

- 16S pPHK AnapF 5'-GTG-AGA-GAC-TAT-CAC-GTT-GAT-AGG-3';
- 16S pPHK AnapR 5'-AAT-GTT-ACC-GGG-TGT-TTC-ACT-CC-3'.

Для проведения реакции ПЦР на наличие ДНК эрлихий были использованы следующие праймеры:

- 16S pPHK ErIF — 5'-TTG-ACA-TGA-AGG-TCG-TAT-CCC-TCC-3';
- 16S pPHK ErIR — 5'-TTT-CCT-TAG-AGT-GCC-CAG-CAT-TAC-C-3'.

Для проведения реакции ПЦР на наличие ДНК бабезий были использованы следующие праймеры:

- 18SpPHK Bab F — 5'-TTT-GGA-TCC-GGA-TTG-ACA-GAT-TGA-TAG-CTC-TTT-C-3';
- 18S pPHK Bab R — 5'-TTT-AAG-CTT-TAG-CGC-GCG-TGC-AGC-CAA-GG-3'.

Состав реакционной смеси для ПЦР: 1 мкл пробы, однократный буфер для ПЦР без магния («Sybenzyme»), 1,5 mM MgCl₂ — 1 мкл, 200 мкмоль смеси дезоксирибонуклеозидтрифосфатов («Sybenzyme») — 0,5 мкл, прямой и обратный праймеры по 10 пмоль каждого («Syntol») — по 1 мкл, 1,25 ед. а. Таq-полимеразы («Sybenzyme») — 0,75 мкл, вода до конечного объема 10 мкл.

Условия ПЦР: 1 цикл денатурации — 94°C, 5 мин; 40 циклов — 95°C, 30 с; 42°C, 30 с и 72°C, 30 с; 1 цикл достройки — 72°C, 5 мин.

Продукты амплификации разделяли в 6% нативном полиакриламидном геле, гель окрашивали бромистым этидием [1].

ТАБЛИЦА. ВИДОВАЯ СТРУКТУРА ИНФИЦИРОВАННЫХ ОСОБЕЙ

Год	Вид	Общее количество клещей		Инфицировано боррелиями		Инфицировано ТБЕВ		Инфицировано анаплазмами		Инфицировано эрлихиями		Инфицировано бабезиями	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
2010	<i>I. persulcatus</i>	27	39,1	7	10,1	24	34,8	30	43,5	52	75,4	0	0
	<i>D. reticulatus</i>	11	35,5	6	19,3	0	0	0	0	0	0	0	0
2011	<i>I. persulcatus</i>	10	30,3	9	27,3	9	27,3	16	48,5	19	57,6	0	0
	<i>D. reticulatus</i>	2	25	0	0	0	0	0	0	1	12,5	0	0
2012	<i>I. persulcatus</i>	14	16,5	27	31,8	19	22,3	43	50,6	64	75,3	0	0
	<i>D. reticulatus</i>	3	25	0	0	1	8,3	4	33,3	7	58,3	0	0
2013	<i>I. persulcatus</i>	5	12,8	4	10,3	11	28,2	14	35,9	27	69,2	0	0
	<i>D. reticulatus</i>	6	31,6	1	5,3	0	0	0	0	3	15,8	0	0
2014	<i>I. persulcatus</i>	9	10,3	4	4,6	24	27,6	31	35,6	48	55,2	0	0
	<i>D. reticulatus</i>	36	54,5	14	21,2	0	0	1	1,5	6	9,1	0	0
2015	<i>I. persulcatus</i>	41	39	13	12,4	14	13,3	39	37,1	56	53,3	0	0
	<i>D. reticulatus</i>	3	50	1	16,7	0	0	0	0	0	0	0	0

Результаты и обсуждение

В период с 2010 по 2015 гг. было проанализировано 586 клещей, собранных на территории Кировской области. Наличие возбудителей трансмиссивных инфекций определяли при исследовании суммарных нуклеиновых кислот, выделенных из каждого клеща, с последующей постановкой реакции ПЦР и ОТ-ПЦР. За 2010 г. исследовано 100 клещей, за 2011 г. — 41 клещ, за 2012 г. — 97 клещей, за 2013 г. — 58 клещей, за 2014 г. — 179 клещей, за 2015 г. — 111 клещей.

Было установлено, что основными носителями возбудителей на территории Кировской области являются клещи видов *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor reticulatus*. В ходе исследования было установлено, что количество клещей вида *Ixodes persulcatus* составило 418 особей, количество клещей вида *Dermacentor reticulatus* — 142, количество клещей вида *Ixodes ricinus* — 26. При этом за 2010 г. было исследовано 69 клещей вида *Ixodes persulcatus* и 31 клещ вида *Dermacentor reticulatus*, за 2011 г.: 33 вида клеща вида *Ixodes persulcatus* и 8 — вида *Dermacentor reticulatus*, за 2012 г.: 85 — вида *Ixodes persulcatus* и 12 — вида *Dermacentor reticulatus*, за 2013 г.: 39 — вида *Ixodes persulcatus* и 19 — вида *Dermacentor reticulatus*, за 2014 г.: 87 — вида *Ixodes persulcatus* и 66 — вида *Dermacentor reticulatus*, за 2015 г.: 105 — вида *Ixodes persulcatus* и 6 — вида *Dermacentor reticulatus*. Результаты исследования представлены в таблице.

Средний процент инфицированных боррелиями особей вида *Ixodes persulcatus* составил 24,67%. Для клещей вида *Dermacentor reticulatus* средняя доля инфицированных боррелиозом особей составила 36,93%. Достоверной разницы в доле инфицированных клещей в данных популяциях нет (при уровне значимости 5%), за исключением 2014 г. ($\chi^2 = 35,32$, при уровне значимости 5%): наблюдается постепенное снижение доли инфицированных особей вида *Ixodes persulcatus*, однако в 2015 г. число инфицированных клещей данного вида растет. Для вида *Dermacentor reticulatus* наблюдается постепенный рост численности инфицированных особей с максимумом в 2014 г. При этом количество исследованных клещей вида *Dermacentor reticulatus* в среднем ниже, что могло повлиять на результаты анализа.

Средняя доля инфицированных ТБЕВ клещей вида *Ixodes persulcatus* составила 16,08%, вида *Dermacentor reticulatus* — 10,42%. Достоверной разницы в доле инфицированных клещей в данных популяциях нет (при уровне значимости 5%), кроме 2012 и 2014 гг. ($\chi^2 = 5,28$ и 9,98 соответственно, при уровне значимости 5%). Для клещей вида *Ixodes persulcatus* наблюдается рост с максимумом в 2012 г., затем снижение доли инфицированных особей. Для клещей вида *Dermacentor reticulatus* отмечено колебание численности с постепенным увеличением доли

инфицированных особей. В целом, клещи данного вида имеют заметно меньшую долю инфицированных особей.

Средняя доля клещей вида *Ixodes persulcatus*, инфицированных анаплазмами, составила 25,58%. Доля инфицированных клещей данного вида колеблется примерно на одном уровне с небольшой тенденцией к снижению. Для клещей вида *Dermacentor reticulatus* средняя доля инфицированных анаплазмозом клещей составила 1,38%. При этом, инфицированные анаплазмами особи были зафиксированы только в 2012 г. (8,3%), в другие годы инфицированных особей данного вида зафиксировано не было. В среднем, клещи вида *Dermacentor reticulatus* реже являются носителями анаплазм, так как только в 2011, 2012 и в 2015 гг. нет достоверной разницы согласно критерию Фишера, а для 2010 ($\chi^2 = 14,19$), 2013 ($\chi^2 = 6,61$) и 2014 ($\chi^2 = 21,49$) наблюдается достоверная разница при критерии значимости 5%.

Средний процент инфицированных эрлихиями клещей вида *Ixodes persulcatus* составил 41,87%. Наблюдается колебание численности с максимумом в 2012 г. и последующим снижением доли инфицированных особей. Для клещей вида *Dermacentor reticulatus* средний процент инфицированных эрлихиозом особей составил 5,8%. При этом инфицированные особи были зафиксированы только в 2012 и 2014 гг. В среднем, клещи вида *Dermacentor reticulatus* реже являются носителями эрлихий, так как только в 2012 и в 2015 гг. нет достоверной разницы согласно критерию Фишера, а для 2010 ($\chi^2 = 19,25$), 2011 ($\chi^2 = 6,36$), 2013 ($\chi^2 = 8,99$) и 2014 гг. ($\chi^2 = 26,41$) наблюдается достоверная разница при критерии значимости 5%.

Средний процент инфицированных бабезиями клещей вида *Ixodes persulcatus* составил 64,33%. Для данного вида наблюдается колебание доли инфицированных особей с незна-

чительным ее уменьшением. Для клещей вида *Dermacentor reticulatus* средняя доля инфицированных бабезиозом особей составила 15,95%. Наблюдается максимум доли инфицированных особей в 2012 г., но это может быть связано с малым количеством исследованных в том году клещей данного вида. В среднем, клещи вида *Dermacentor reticulatus* значительно реже являются носителями бабезий, так как только в 2012 г. нет достоверной разницы согласно критерию Фишера, а для 2010 ($\chi^2 = 48,67$), 2011 ($\chi^2 = 8,58$), 2013 ($\chi^2 = 24,61$), 2014 ($\chi^2 = 34,9$) и 2015 ($\chi^2 = 6,46$) наблюдается достоверная разница при критерии значимости 5%.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что клещи вида *Dermacentor reticulatus* в среднем имеют меньшую долю инфицированных особей по сравнению с клещами вида *Ixodes persulcatus*. Доля инфицированных особей вида *Dermacentor reticulatus* практически для всех перечисленных заболеваний ниже, за исключением возбудителей боррелиоза. Доля инфицированных энцефалитом особей в среднем отличается незначительно, а доля инфицированных анаплазмозом, эрлихиозом и бабезиозом значительно ниже представителей вида *Ixodes persulcatus*. Это может быть связано с тем, что вид *Ixodes persulcatus* является домашним для территории Кировской области, а вид *Dermacentor reticulatus* появился на территории области относительно недавно, поэтому доля инфицированных особей для данного вида может значительно варьировать.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Беляевой Татьяне Анатольевне, заведующей ветлечебницей КОГКУ Кировская областная СББЖ и Хмелиной Нине Андреевне, ветеринарному врачу, за предоставление материала для исследования.

Список литературы/References

1. Бессолицына Е.А., Федяков А.В., Мерзляк Е.М., Колесников А.А. Ген шестой субъединицы АТРазы *Leptomonas seymouri* (Trypanosomatidae) транскрибируется и редактируется в составе полицистронной мРНК // Молекулярная биология. 2005. Т. 39, № 1. С. 61–66. [Bessolitsyna E.A., Fedyakov A.V., Merzlyakov E.M., Kolesnikov A.A. ATPase sixth subunit gene *Leptomonas seymouri* (Trypanosomatidae) transcribed and edited as part of polycistronic mRNA. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2005, vol. 39, no. 1, pp. 61–66. (In Russ.)]
2. Горелова Н.Б., Коренберг Э.И., Постик Д., Котти Б.К. Новые для России виды боррелий – возможные возбудители иксодовых клещевых боррелиозов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1999. № 2. С. 3–5. [Gorelova N.B., Korenberg E.I., Postic D., Kotti B.K. Borrelia species new to Russia – possible causative agents of ixodid tick-borne borreliosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*, 1999, no. 2, pp. 3–5. (In Russ.)]
3. Догель В.А., Полянский Ю.И., Хейсин Е.М. Общая протозоология. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 592 с. [Dogel V.A., Polyansky U.I., Heisin E.M. Obshchaya protozoologiya [Total protozoology]. Moscow: Publ. House of USSR Acad. Sci., 1962, 592 p.]
4. Заявка 2008135545/13 Российская Федерация, МПК C12N1/20; A61K39/02 на патент «Штамм анаплазм «Anaplasma Speciosus Omsk» нового генотипа, используемый для идентификации анаплазм и получения диагностических препаратов / Рудаков Н.В. (RU), Кумпан Л.В. (RU), Самойленко И.Е. (RU), Бейсембаев К.К. (RU), Красиков А.П. (RU); заявитель ФГУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций (RU); заявл. 01.09.08; опубл. 27.06.2010; № RU 2393211 ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН [The patent application 2008135545/13 of Russian Federation, IPC C12N1/20; A61K39/02 Strain *Anaplasma* “*Anaplasma Speciosus Omsk*” new genotype that is used to identify *Anaplasma* and to produce diagnostic

- preparations / Rudakov N.V. (RU), Kumpan L.V. (RU), Samojlenko I.E. (RU), Bejsembaev K.K. (RU), Krasikov A.P. (RU); applicant Omsk research Institute of natural focal infections: appl. 01.09.08; publ. 27.06.2010; No. RU 2393211 Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya RAMS]
5. Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит: руководство для врачей. Новосибирск: Наука, 2001. 359 с. [Jerusalymsky A.P. Kleshchevoi entsefalit: rukovodstvo dlya vrachei [Tick-borne encephalitis: guide for physicians]. *Novosibirsk: Nauka, 2001, 359 p.*]
 6. Казанцев А.П., Матковский В.С. Справочник по инфекционным болезням. М: Медицина, 1985. 320 с. [Kazantsev A.P., Matkovskiy V.S. Spravochnik po infektsionnym boleznyam [Handbook of infectious diseases]. *Moscow: Medicine, 1985, 320 p.*]
 7. Мамаев А.Л., Рябченко А.В., Беклемишев А.Б. Генотиповой состав спирохет *Borrelia burgdorferi sensu lato*, циркулировавших в иксодовых клещах, отловленных весной 2008 г. в рекреационной зоне г. Новосибирска // Бюллетень СО РАМН. 2010. Т. 30, № 2. С. 13–16. [Mamaev A.L., Ryabchenko A.V., Beklemishev A.B. Genospecies of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* spirochaete, circulated in ixodes ticks collected in the recreational zone of Novosibirsk in spring. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya RAMN = Bulletin of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Science, 2010, no. 2, pp. 13–16. (In Russ.)*]
 8. Манзенюк И.Н., Манзенюк О.Ю. Клещевые боррелиозы (болезнь Лайма): пособие для врачей. Кольцово: ЗАО Вектор-Бест, 2005. 85 с. [Manzenyuk I.N., Manzenyuk O.U. Kleshchevye borreliozy (bolezny' Laima): posobie dlya vrachei [Lyme borreliosis (Lyme disease). Manual for physicians]. *Koltsovo: JSC Vector-Best, 2005, 85 p.*]
 9. Покровский В.И., Поздеева О.К. Медицинская микробиология. М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. 1184 с. [Pokrovsky V.I., Pozdeyeva D.C. Meditsinskaya mikrobiologiya [Medical microbiology] *Moscow: GEOTAR Medicine, 1999, 1184 p.*]
 10. Рудакова С.А., Оберт А.С., Дроздов В.Н. Иксодовые клещевые боррелиозы в Западной Сибири (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика). Омск: ЦИО, 2004. 39 с. [Rudakova S.A., Aubert A.S., Drozdov V.N. Iksodovye kleshchevye borreliozy v Zapadnoi Sibiri (etiologiya, epidemiologiya, klinika, diagnostika, lechenie i profilaktika) [Ixodes tick borreliosis in Western Siberia (etiology, epidemiology, clinical features, diagnosis, treatment and prevention)]. *Omsk: CIO, 2004, 39 p.*]
 11. Руководство по инфекционным болезням с атласом инфекционной патологии / Под ред. Лобзина Ю.В., Козлова С.С., Ускова А.Н. СПб.: Феникс, 2000. 932 с. [Rukovodstvo po infektsionnym boleznyam s atlasom infektsionnoi patologii. [Guidelines for Infectious diseases with the atlas of infectious diseases / Eds. Lobzin Yu.V., Kozlov S.S., Uskov A.N.]. *St. Petersburg: Feniks, 2000, 932 p.*]
 12. Токаревич К.Н. Важнейшие инфекционные болезни, общие для животных и человека. Л.: Медицина, 1979. 221 с. [Tokarevich K.N. Vazhneishie infektsionnye bolezni, obshchie dlya zhiivotnykh i cheloveka [The most important infectious diseases common to animals and humans]. *Leningrad: Medicine, 1979, 221 p.*]
 13. Филиппова Н.А. Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acraea, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука. 1985. 416 с. [Filippova N.A. Tazhnyi kleshch *Ixodes persulcatus* Schulze (Acraea, Ixodidae): morfologiya, sistematika, ekologiya, meditsinskoe znachenie [Taiga tick *Ixodes persulcatus* Schulze (Acraea, Ixodidae): morphology, systematics, ecology, medical value]. *Leningrad: Nauka, 1985, 416 p.*]
 14. Шевцов А.А., Колабский Н.А., Никольский С.Н. Паразитология. М.: Колос. 1979. 400 с. [Shevtsov A.A., Kolabsky N.A., Nikolsky S.N. Parazitologiya [Parasitology]. *Moscow: Kolos, 1979, 400 p.*]
 15. Garcia R., Gusmani L., Murgia R., Guarnaccia C., Cinco M., Rottini G. Elastase is the only human neutrophil granule protein that alone is responsible for in vitro killing of *Borrelia burgdorferi*. *Infect. Immun., 1998, vol. 66, no. 4, pp. 1408–1412.*
 16. Levine N.D. Protozoan parasites of domestic animals and of man. *Minneapolis, Burgess Pub. Co., 1961, 412 p.*
 17. Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis / Eds.: Oschmann P., Kraiczky P., Halperin J., Brade V. *Bremen: UNI-Med Verlag AG, 1999, 144 p.*
 18. Miklossy J., Kasas S., Zurn D.A., McCall S., Yu S., McGeer L.P. Persisting atypical and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* and local inflammation in Lyme neuroborreliosis *J. Neuroinflammation, 2008, vol. 5: 40. doi: 10.1186/1742-2094-5-40*
 19. Sahai H., Anwer Khurshid H. On analysis of epidemiological data involving A 2X2 contingency table: an overview of fisher's exact test and yates' correction for continuity. *J. Biopharm. Stat., 1995, vol. 5, no. 1, pp. 43–70.*
 20. Schotthoefter A.M., Frost H.M. Ecology and epidemiology of Lyme borreliosis. *Clin. Lab. Med., 2015, vol. 35, no. 4, pp. 723–743. doi: 10.1016/j.cll.2015.08.003*

Авторы:

Волков С.А., аспирант кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, г. Киров, Россия;

Бессолицына Е.А., к.б.н., доцент кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, г. Киров, Россия;

Столбова Ф.С., к.б.н., доцент кафедры зоологии и пчеловодства биологического факультета Вятской государственной сельскохозяйственной академии, г. Киров, Россия;

Дармов И.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, г. Киров, Россия.

Authors:

Volkov S.A., PhD Candidate, Department of Microbiology, Biological Faculty, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation;

Bessolytsina E.A., PhD., MD (Biology), Associate Professor of Microbiology Department of Microbiology, Biological Faculty, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation;

Stolbova F.S., PhD., MD (Biology), Associate Professor, Department of Zoology and Beekeeping, Biological Faculty, Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russian Federation;

Darmov I.V., PhD., MD (Medicine), Professor, Head of Department of Microbiology, Biological Faculty, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation.

Поступила в редакцию 08.10.2015
Отправлена на доработку 13.01.2016
Принята к печати 10.02.2016

Received 08.10.2015
Revision received 13.01.2016
Accepted 10.02.2016

ГЕНОТИПЫ ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* С ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ И КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ

Н.Р. Васильева^{1,2}, А.А. Вязовая³, В.Ю. Журавлев¹, Н.С. Соловьева¹,
И.В. Мокроусов³, О.В. Нарвская^{1,3}

¹ ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Проведен клинико-эпидемиологический анализ 85 случаев туберкулеза легких с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. Установлена принадлежность штаммов *M. tuberculosis* к семи сполиготипам следующих генетических семейств: Beijing (81,2%), что существенно превышает долю данного генотипа (около 50%) в общей популяции возбудителя в России, LAM (14,1%) и Ural (4,7%). Среди обследованных больных, инфицированных штаммами *M. tuberculosis* Beijing, преобладали мужчины со склонностью к вредным привычкам (алкоголизм и табакокурение); основными местами заражения были не только квартирные, но и пенитенциарные очаги. Данную группу характеризовали разнообразие клинических форм поражения легких с преобладанием фиброзно-кавернозного туберкулеза и значительная доля пациентов с отрывами от лечения. Вне зависимости от генотипа штамма *M. tuberculosis* туберкулез легких с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя отличается тяжелое течение с исходом в хроническую рецидивирующую форму, плохо поддающуюся противотуберкулезной химиотерапии, требующую повторных госпитализаций и хирургических методов лечения.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, широкая лекарственная устойчивость, сполиготипирование, генотип Beijing, клинико-эпидемиологическая характеристика.

GENOTYPES OF EXTENSIVELY DRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* STRAINS: CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF PULMONARY TUBERCULOSIS

Vasilieva N.R.^{a,b}, Vyazovaya A.A.^c, Zhuravlev V.Yu.^b, Solovieva N.S.^b, Mokrousov I.V.^c, Narvskaya O.V.^{a,c}

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

^b North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

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

Abstract. Here, we present clinical and epidemiological analysis of 85 Russian cases of pulmonary tuberculosis caused by an extensively drug-resistant *M. tuberculosis* strains. As defined by spoligotyping, *M. tuberculosis* strains belonged to the

Адрес для переписки:

Васильева Нелія Рафаэлевна
191036, Россия, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2-4,
ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ.
Тел.: 8 (812) 579-24-90 (служебн.). Факс: 8 (812) 579-25-73.
E-mail: sagievanr@gmail.com

Contacts:

Nelia R.Vasilieva
191036, Russian Federation, St. Petersburg, Ligovsky av., 2-4,
Research Institute of Phthisiopulmonology.
Phone: +7 (812) 579-24-90 (office). Fax: +7 (812) 579-25-73.
E-mail: sagievanr@gmail.com

Библиографическое описание:

Васильева Н.Р., Вязовая А.А., Журавлев В.Ю., Соловьева Н.С., Мокроусов И.В., Нарвская О.В. Генотипы штаммов *Mycobacterium tuberculosis* с широкой лекарственной устойчивостью и клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза легких // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 179–183. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-179-183

Citation:

Vasilieva N.R., Vyazovaya A.A., Zhuravlev V.Yu., Solovieva N.S., Mokrousov I.V., Narvskaya O.V. Genotypes of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains: clinical and epidemiological features of pulmonary tuberculosis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6 no. 2, pp. 179–183. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-179-183

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грантовое соглашение № 14-14-00292).

© Васильева Н.Р. и соавт., 2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2016-2-179-183>

Культивирование *M. tuberculosis* и определение лекарственной чувствительности изолятов к основным противотуберкулезным препаратам (ПТП) проводили стандартным непрямом методом абсолютных концентраций. ДНК из чистых культур *M. tuberculosis* выделяли согласно [10]; генотипирование осуществляли с помощью метода сполиготипирования [7]. Международный код сполиготипа и принадлежность штаммов к генетическим семействам (генотипам, линиям) определяли согласно компьютерным базам дан-

ных SITVITWEB (<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVITDemo>) и MIRU-VNTRplus (<http://www.miru-vntrplus.org>). Статистические показатели (отношение шансов, доверительный интервал (ДИ), р) рассчитаны с помощью Winperpi 11.47.

Результаты и обсуждение

У 85 ШЛУ штаммов *M. tuberculosis* выявлено семь профилей сполиготипирования (сполиготипов) (табл. 1).

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ШЛУ-ТБ

Признак	Генотип <i>M. tuberculosis</i>		Отношение шансов (95% ДИ)	p
	Beijing (n = 69)	LAM и Ural (n = 16)		
Мужчины	49 (71%)	9 (56,2%)	1,8 (0,58–5,47)	0,5
Женщины	20 (29%)	7 (43,7%)	0,5 (0,17–1,60)	0,5
Средний возраст	35,4±9,2	35,5±8,6		
Возрастные группы (лет):				
< 25	13 (19,4%)	3 (18,7%)	1,0 (0,2–4,0)	0,9
25–34 лет	26 (37,7%)	4 (25,0%)	1,8 (0,5–6,2)	0,5
35–44	15 (22,3%)	5 (31,2%)	0,6 (0,18–2,0)	0,5
45–54	9 (13,0%)	3 (18,7%)	0,7 (0,15–2,7)	0,7
55–64	5 (7,2%)	1 (6,3%)	1,2 (0,12–10,7)	0,9
> 65	1 (1,4%)	–	–	–
Вредные привычки:				
курение	41 (59,4%)	8 (50,0%)	1,5 (0,4–4,5)	0,5
курение+алкоголь	9 (13,0%)	2 (12,5%)	1,1 (0,2–5,4)	0,9
курение+наркотики	3 (4,3%)	–	–	–
Источник и место инфицирования:				
квартирный очаг	15 (21,7%)	5 (31,2%)	0,7 (0,2–2,1)	0,5
место работы	2 (2,8%)	–	–	–
места лишения свободы	18 (26,1%)	–	–	–
неизвестно	34 (49,2%)	11 (68,7%)	–	–
Рецидивирующее течение туберкулеза	42 (60,8%)	13 (81,2%)	0,4 (0,1–1,4)	0,2
Продолжительность заболевания (лет)	6,5±4,2	8,6±4,8		
Число госпитализаций:				
1	14 (20,3%)	4 (25,0%)	0,8 (0,21–2,7)	0,75
> 2	52 (75,4%)	12 (75,0%)	1,2 (0,3–4,4)	0,75
Форма поражения:			–	–
фиброзно-кавернозный	53 (76,8%)	16 (100%)		
очаговый	2 (2,8%)	–		
инфильтративный	8 (11,5%)	–		
туберкулема	3 (4,3%)	–		
генерализованный	2 (2,8%)	–		
рак+туберкулез	1 (1,4%)	–		
Двустороннее поражение легких	46 (66,7%)	10 (62,5%)	1,2 (0,38–3,7)	0,7
Отрывы от лечения и нарушение режима	27 (39%)	4 (25%)	1,9 (0,6–6,6)	0,5
Аллергия на ПТП	22 (31,8%)	6 (37,5%)	0,7 (0,25–2,4)	0,7
Эпидемиологическая оценка эффективности лечения:				
абациллированы	45 (65,2%)	9 (56,2%)	1,5 (0,4–4,4)	0,5
не абациллированы*	22 (31,8%)	4 (25%)	1,4 (0,4–4,8)	0,7
неизвестный статус**	2 (2,9%)	3 (18,7%)	–	–

Примечания. * в том числе после хирургического лечения — 13; ** досрочная выписка, смерть.

К генетическому семейству Beijing принадлежало большинство (81,2%) изученных ШЛУ штаммов (для сравнения: в Самарской области — 92,0% [6]), что существенно превышает долю данного генотипа (около 50%) в общей популяции возбудителя туберкулеза в РФ [8].

ШЛУ штаммы других генетических линий были представлены генотипами LAM — 14,1% и Ural — 4,7% (табл. 1). Показано, что у больных хроническим МЛУ-ТБ генотип LAM является вторым по распространенности после Beijing среди выделяемых штаммов *M. tuberculosis* [2, 8].

В таблице 2 приведена клинико-эпидемиологическая характеристика случаев ШЛУ-ТБ, вызванных штаммами *M. tuberculosis* различных генотипов.

Как видно из таблицы 2, по большинству признаков существенных различий между группами пациентов, инфицированных штаммами Beijing и штаммами других генотипов (LAM и Ural), не выявлено.

Среди больных ШЛУ-ТБ, инфицированных штаммами *M. tuberculosis* Beijing (1-я группа), преобладали мужчины (71,0%) со склонностью к вредным привычкам — 76,8%; основными местами заражения были не только квартирные (23,2%), но и пенитенциарные (26,1%) очаги. Это свидетельствует о неблагоприятном социальном статусе пациентов данной группы.

Средняя продолжительность заболевания в 1-й группе была в 1,3 раза меньше, чем во 2-й (при сравнимом числе повторных госпитализаций в противотуберкулезные учреждения) (табл. 2).

Следует отметить, что у трех пациентов из 1-й группы ШЛУ возбудителя была установлена уже при первичном выявлении туберкулеза легких, причем в одном случае имело место заражение в семейном очаге.

Двустороннее поражение легких по данным компьютерной томографии встречалось часто (более 60,0%) вне зависимости от генотипа возбудителя, однако разнообразие клинических форм поражения и значительная (39,0%) доля пациентов с отрывом от лечения характеризовали 1-ю группу.

Эпидемиологическая эффективность лечения по критерию прекращения бактериовыделения (с учетом хирургического вмешательства) является сравнимой в обеих группах.

Представленные данные свидетельствуют о том, что ШЛУ-ТБ, вне зависимости от генотипа возбудителя, отличает тяжелое течение с исходом в хроническую рецидивирующую форму, плохо поддающуюся противотуберкулезной химиотерапии и требующую применения хирургических методов лечения. Необходимо совершенствование эпидемиологического обследования очагов МЛУ/ШЛУ-ТБ и взаимодействия между всеми звеньями противотуберкулезной службы.

Список литературы/References

1. Балабанова Я.М., Федорин И.М., Маломанова Н.А., Дробниевский Ф., Николаевский В.В., Сун Х., Машкова Ю.А., Симак Т.Г., Концева И.С., Игнатьева О.А., Миронова С.А. Использование автоматизированной системы BACTEC MGIT 960 в диагностике лекарственной устойчивости к резервным препаратам в г. Самаре // Туберкулез и болезни легких. 2009. Т. 86, № 10. С. 63–70. [Balabanova Ya.M., Fedorin I.M., Malomanova N.A., Drobniyevski F., Nikolayevsky V.V., Sun H., Mashkova Yu.A., Simak T.G., Kontsevaya I.S., Ignatyeva O.A., Mironova S.A. Use of automated BACTEC MGIT 960 system in the diagnosis of resistance to reserve drugs agents in Samara. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2009, vol. 86, no. 10, pp. 63–70. (In Russ.)]
2. Вязовая А.А., Мокроусов И.В., Журавлев В.Ю., Соловьева Н.С., Оттен Т.Ф., Маничева О.А., Вишневыский Б.И., Нарвская О.В. Молекулярная характеристика мультирезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных на Северо-Западе России // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2016. № 1. С. 30–33. [Vyazovaya A.A., Mokrousov I.V., Zhuravlev V.Yu., Solovieva N.S., Otten T.F., Manicheva O.A., Vishnevsky B.I., Narvskaya O.V. Molecular characteristics of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in Northwest Russia. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2016, no. 1, pp. 30–33. (In Russ.)]
3. Гайда А.И., Никишова Е.И., Марьяндышев А.О. Регистрация и лечение больных туберкулезом с широкой лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулеза в гражданском секторе Архангельской области // Туберкулез и болезни легких. 2013. Т. 90, № 12. С. 55–58. [Gaida A.I., Nikishova E.I., Maryandyshchev A.O. The registration and treatment of patients with broad drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in the civil sector of the Arkhangelsk region. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2013, vol. 90, no. 12, pp. 55–58. (In Russ.)]
4. Маркелов Ю.М. Клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и причины его распространения в Карелии // Туберкулез и болезни легких. 2011. Т. 88, № 8. С. 11–17. [Markelov Yu.M. The clinical and epidemiological features of multidrug-resistant tuberculosis and reasons for its spread in Karelia. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2011, vol. 88, no. 8, pp. 11–17. (In Russ.)]
5. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России в 2014 году // Федеральный Центр мониторинга противодействия распространению туберкулеза [Epidemicheskaya situatsiya po tuberkulezu v Rossii v 2014 godu] [The epidemic situation of tuberculosis in Russia in 2014]. Federal'nyi Tsentr monitoringa protivodeistviya rasprostraneniya tuberkuleza [Federal Center for counteraction to monitor the spread of tuberculosis]. URL: http://www.mednet.ru/images/stories/files/CMT/tub_epidsituaciya.pdf (дата обращения: 15.01.2015)
6. Balabanova Y., Nikolayevskyy V., Ignatyeva O., Kontsevaya I., Rutterford C.M., Shakhmistova A., Malomanova N., Chinkova Y., Mironova S., Fedorin I., Drobniyevski F.A. Survival of civilian and prisoner drug-sensitive, multi- and extensive drug-resistant tuberculosis cohorts prospectively followed in Russia. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 6, e:20531. doi: 10.1371/journal.pone.0020531

7. Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A., Van Agterveld M., Van Soolingen D., Kuijper S., Bunschoten A., Molhuizen H., Shaw R., Goyal M., Van Embden J. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, vol. 35, no. 4, pp. 907–914.
8. Mokrousov I., Vyazovaya A., Otten T., Zhuravlev V., Pavlova E., Tarashkevich L., Krishevich V., Vishnevsky B., Narvskaya O. Mycobacterium tuberculosis population in northwestern Russia: an update from Russian-EU/Latvian border region. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 7, e:41318. doi: 10.1371/journal.pone.0041318
9. Punga V.V., Jakubowiak W.M., Danilova I.D., Somova T.R., Volchenkov G.V., Kazionnyy B.Y., Nemtsova E.S., Kiryanova E.V., Kourbatova E.V. Prevalence of extensively drug-resistant tuberculosis in Vladimir and Orel regions, Russia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2009, vol. 13, no. 10, pp. 1309–1312.
10. Van Embden J., Cave M., Crawford J., Dale J., Eisenach K., Gicquel B., Hermans P., Martin C., McAdam R., Shinnick T., Small P. Strain identification on Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J. Clin. Microbiol.* 1993, vol. 31, no. 2, pp. 406–409.
11. WHO. Global tuberculosis report 2014. WHO/HTM/TB/2014.08. WHO, Geneva, Switzerland, 2014. URL: apps.who.int/iris/bitstream/10665/137094/1/9789241564809_eng.pdf
12. WHO. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response. WHO/HTM/TB/2010.3. WHO, Geneva, Switzerland, 2010. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44286/1/9789241599191_eng.pdf

Авторы:

Васильева Н.Р., врач-эпидемиолог Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии; аспирант кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Северо-Западного Государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Вязовая А.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Журавлев В.Ю., к.м.н., руководитель отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Соловьева Н.С., к.м.н., зав. бактериологической лабораторией Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

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

Нарвская О.В., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Vasilieva N.R., Epidemiologist, Research Institute of Phthisiopulmonology; PhD Candidate, Epidemiology, Parasitology and Disinfectology Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Vyazovaya A.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Zhuravlev V.Yu., Head of the Department of the Laboratory Diagnostics, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Solovieva N.S., PhD (Medicine), Head of the Bacteriological Laboratory, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

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

Narvskaya O.V., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.02.2016
Принята к печати 10.03.2016

Received 24.02.2016
Accepted 10.03.2016

ОБОСНОВАНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ДЕТСКИХ КОЛЛЕКТИВАХ

Л.Р. Ишрефова^{1,2}, Л.В. Лялина², Д.А. Лиознов^{2,3}, О.В. Маточкина⁴,
Т.Ю. Давыдова⁴, Л.Е. Захарова⁴

¹ Многопрофильная клиника «БалтЗдрав», Санкт-Петербург, Россия

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

³ ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁴ СПб ГБУЗ Городская поликлиника № 91, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) и грипп относятся к числу актуальных проблем здравоохранения. Показатели заболеваемости ОРВИ и гриппом детей в детских дошкольных образовательных учреждениях Красносельского района Санкт-Петербурга в 2008–2014 гг. варьировали от 1359,6 до 1768,5 на 1000 детей, посещающих эти коллективы. В общеобразовательных школах показатели заболеваемости в указанный период составили 422,6–521,6 ($p < 0,001$). Вакцинацию против гриппа получили от 49,3 до 55,4% детей. В связи с наличием медицинских противопоказаний и отказов родителей от профилактических прививок ежегодно от 3600 до 4700 детей оставались непривитыми. Цель исследования — клинико-эпидемиологическое обоснование эффективности применения растительного препарата «Эхинацея» для снижения заболеваемости ОРВИ и частоты осложнений после перенесенного заболевания у детей, посещающих образовательные учреждения. В результате проведенного исследования установлено, что показатели заболеваемости ОРВИ в группе детей, получавших препарат «Эхинацея», составили 76,8, в группе сравнения — 94,2 на 100 человек ($p < 0,01$; RR = 0,80; ДИ = 0,7–0,9). Частота осложнений (бронхиты, отиты, аденоидиты, пневмонии, синуситы) среди детей, получавших препарат, была в 2–4,8 раз ниже.

Ключевые слова: острые респираторные инфекции, грипп, заболеваемость, осложнения, вакцинация, неспецифическая профилактика, эхинацея.

ARGUMENTATION OF ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTIONS NONSPECIFIC PREVENTION IN GROUPS OF CHILDREN

Ishrefova L.R.^{a,b}, Lyalina L.V.^b, Lioznov D.A.^{b,c}, Matochkina O.V.^d, Davydova T.Yu.^d, Zakharova L.E.^d

^a Network of Versatile Clinics “BaltZdrav”, St. Petersburg, Russian Federation

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

^c Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^d SPb SBHI Municipal Polyclinic No. 91, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Acute respiratory viral infections (ARVI) and influenza are among the topical problems of healthcare. The children's morbidity index in preschool educational institutions in Krasnoselsky district of St. Petersburg in 2008–2014 varied from 1359.6 to 1768.5 per 1000 children attending these institutions. In general educational schools the morbidity index in the aforesaid period were 422.6–521.6 ($p < 0.001$). From 49.3 to 55.4% of children were vaccinated against influenza;

Адрес для переписки:

Ишрефова Лариса Райудиновна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 921 778-11-52 (моб.). E-mail: larissa.r@mail.ru

Библиографическое описание:

Ишрефова Л.Р., Лялина Л.В., Лиознов Д.А., Маточкина О.В.,
Давыдова Т.Ю., Захарова Л.Е. Обоснование неспецифической
профилактики острых респираторных вирусных инфекций в детских
коллективах // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 184–188.
doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-184-188

© Ишрефова Л.Р. и соавт., 2016

Contacts:

Larisa R. Ishrefova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 921 778-11-52 (mob.). E-mail: larissa.r@mail.ru

Citation:

Ishrefova L.R., Lyalina L.V., Lioznov D.A., Matochkina O.V., Davydova T.Yu.,
Zakharova L.E. Argumentation of acute respiratory viral infections
nonspecific prevention in groups of children // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6 no. 2, pp. 184–188.
doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-184-188

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2016-2-184-188>

from 3600 to 4700 children annually stayed unimmunized due to medical contraindications and parents' refusals from prophylactic immunization. The research objective is clinical-epidemiological substantiation of effectiveness of application of Echinacea botanical medicine to reduce the ARVI morbidity and the rate of complications after the disease among children attending educational institutions. As a result of the research it was established that the ARVI morbidity index in the group of the children who received the Echinacea preparation was 76.8; in the comparison group it was 94.2 per 100 people ($p < 0.01$; $RR = 0.80$; $CI = 0.7-0.9$). The rate of complications (bronchitis, otitis, adenoiditis, pneumonia, sinusitis) among the children who received the preparation was 2–4.8 times lower.

Key words: acute respiratory infections, influenza, morbidity, complications, vaccination, nonspecific prevention, Echinacea.

Введение

Острые респираторные вирусные инфекции относятся к числу актуальных проблем здравоохранения в Российской Федерации и других странах мира, что обусловлено высоким уровнем заболеваемости, многообразием инфекционных агентов и их изменчивостью [2]. Дети переносят ОРВИ в 3–4 раза чаще, чем взрослые; в течение года дети в возрасте до 3 лет болеют от 4 до 12 раз, дошкольники — до 6 раз, школьники — 3 раза, взрослые — 2 раза [5]. Наиболее высокие показатели заболеваемости респираторными инфекциями отмечаются у детей дошкольного и младшего школьного возраста, посещающих организованные коллективы [1]. Отмечено, что в период подъема заболеваемости ОРВИ повышается носительство бактериальных возбудителей на слизистых оболочках дыхательных путей в 1,5–2 раза [7].

Большое значение в возникновении частых инфекций респираторного тракта у детей имеют физиологические особенности созревания иммунной системы, угасание материнского иммунитета, отсутствие предыдущего контакта с патогенами, курение родителей, особенно матерей, нестойкий иммунитет к ряду возбудителей [6]. Одним из факторов транзитного снижения иммунитета может быть недостаточное питание, вызванное дефицитом микронутриентов (витамины А, С, D, Е, бета-каротин и др.) и микроэлементов (железо, селен, цинк, йод и др.), полиненасыщенных жирных кислот [2, 8].

Респираторные инфекции приводят к поражению различных отделов дыхательного тракта и могут сопровождаться бактериальными осложнениями с развитием синуситов, отитов, бронхита, пневмонии. Полиэтиологичность ОРВИ не позволяет ограничиться применением специфических вакцинных препаратов, существующих только для профилактики гриппа. В этой связи приобретает особую актуальность неспецифическая профилактика ОРВИ. Необходимость использования средств, повышающих естественную резистентность организма, вызвана также проблемой недостаточного охвата вакцинацией детей, посещающих организованные коллективы.

В настоящее время существует широкий спектр иммуномодулирующих препаратов как естественного, так и синтетического происхождения, которые могут использоваться для профилактики и лечения острых респираторных

вирусных инфекций. В педиатрической практике широкое применение получили иммуномодулирующие средства растительного происхождения, одним из которых является препарат из эхинацеи пурпурной, предназначенный для неспецифической профилактики ОРВИ [4]. Активные вещества препарата при пероральном применении вызывают усиление фагоцитарной активности нейтрофилов, способствуют выработке макрофагами цитокинов-интерлейкинов, стимулируют синтез иммуноглобулинов и интерферона. Установлено противовирусное действие эхинацеи в отношении вирусов гриппа, простого герпеса, Эпштейна–Барр, цитомегаловируса [7, 9, 10, 12]. Показано, что препараты на основе эхинацеи пурпурной обладают терапевтической эффективностью в раннем периоде ОРВИ, а также рекомендуются для профилактики острых респираторных инфекций [11–13].

Цель исследования — клинико-эпидемиологическое обоснование и оценка эффективности применения растительного препарата «Эхинацея» для снижения заболеваемости ОРВИ и частоты осложнений после перенесенного заболевания у детей, посещающих образовательные учреждения.

Материалы и методы

Проведен анализ заболеваемости острыми респираторными инфекциями и гриппом детей дошкольного и школьного возраста, посещающих 20 дошкольных образовательных учреждений (детские сады) и 11 средних общеобразовательных школ Красносельского района Санкт-Петербурга в 2008–2014 гг. Для оценки заболеваемости и клинических форм использованы медицинские карты амбулаторных больных (учетная форма № 025/у-04), «Сведения о диспансерной группе детей» (форма № 30/у), медицинские справки (форма № 095/у) двух детских поликлинических отделений района, на территории обслуживания которых находятся указанные детские образовательные учреждения.

Для оценки эффективностинутрицевтического препарата, изготовленного на основе эхинацеи пурпурной, проведено проспективное когортное исследование. Расчеты показателей относительного риска (RR) проведены при наличии (Re) и отсутствии (Rne) воздействия изучаемого фактора ($RR = Re/Rne$). В 2013–2014 гг. под наблюдением находились 168 часто болеющих детей в воз-

ТАБЛИЦА 1. ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ГРИППОМ И ОРВИ В ДОШКОЛЬНЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ УЧРЕЖДЕНИЯХ И СРЕДНИХ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ШКОЛАХ КРАСНОСЕЛЬСКОГО РАЙОНА САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В 2008–2014 гг.

Годы	Наблюдаемые коллективы								
	Дошкольные образовательные учреждения			Средние общеобразовательные школы			Всего		
	всего детей	заболеваемость		всего детей	заболеваемость		всего детей	заболеваемость	
		абс.	% \pm m		абс.	% \pm m		абс.	% \pm m
2008	2642	3592	1359,6 \pm 13,6	5033	2127	422,6 \pm 6,9	7675	5719	745,1 \pm 4,9
2009	2743	3999	1457,9 \pm 15,6	4926	2303	467,5 \pm 7,1	7669	6302	821,7 \pm 4,3
2010	2548	3486	1368,1 \pm 14,0	4935	2108	427,1 \pm 7,0	7483	5594	747,6 \pm 5,0
2011	2749	4851	1768,5 \pm 22,2	4952	2509	509,3 \pm 7,1	7701	7360	955,7 \pm 2,3
2012	3072	5422	1765,0 \pm 20,9	5026	2418	481,1 \pm 7,0	8098	7840	968,1 \pm 1,9
2013	3377	5890	1744,2 \pm 19,6	5167	2695	521,6 \pm 6,9	8544	8585	1004,8 \pm 0,7
2014	3787	6152	1624,5 \pm 16,3	5847	2549	435,9 \pm 6,4	9634	8701	903,2 \pm 3,0

расте от 3 до 11 лет. К категории часто болеющих были отнесены дети, у которых в анамнезе регистрировали 6–9 случаев заболеваний острыми респираторными инфекциями в год.

Для оценки эффективности препарата были сформированы две группы наблюдения — получавшие профилактический препарат (основная группа) и не получавшие (группа сравнения). Количество детей в основной группе составило 82 человека, в группу сравнения включили 86 детей. Препарат назначали в виде профилактических курсов в периоды сезонного подъема заболеваемости респираторными вирусными инфекциями осенью (октябрь–ноябрь), зимой (январь–февраль) и весной (март–апрель) в течение 15 дней один раз в день в возрастной дозировке. Оценка эффективности проведена по показателю частоты заболеваемости ОРВИ в течение года и наличию осложненных случаев заболеваний (отиты, бронхиты, пневмонии, синуситы, аденоидиты).

Оценка достоверности различий сравниваемых показателей проводилась с использованием t-критерия Стьюдента. Расчет доверительного интервала (ДИ) к показателю относительного риска выполнен с использованием программы WinPep (WHATIS).

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что в 2008–2014 гг. регистрировалась стабильно высокая заболеваемость гриппом и ОРВИ в дошкольных образовательных учреждениях и средних общеобразовательных школах. Однако среди детей

дошкольного возраста эпидемический процесс характеризовался более выраженной интенсивностью, заболеваемость была выше, чем у учащихся школ в 3,1–3,7 раза (табл. 1). Показатель заболеваемости детей, посещающих дошкольные учреждения, варьировал от 1359,6 до 1768,5 на 1000 детей этих учреждений. В общеобразовательных школах заболеваемость была достоверно ниже и составила 422,6–521,6 на 1000 детей ($p < 0,001$). Средние показатели заболеваемости ОРВИ в 2008–2010 гг. составили у детей дошкольного возраста — 1395,2, у школьников — 439,1 на 1000 человек, в 2011–2013 гг. заболеваемость была 1759,2 и 504,0 на 1000, в 2014 г. — 1624,5 и 435,9 на 1000 детей соответственно.

Клинические проявления острых респираторных заболеваний у детей дошкольного возраста характеризовались преимущественным поражением верхних дыхательных путей с развитием ринита, фарингита, ларинготрахеита и нередким вовлечением в патологический процесс бронхов и легких.

Для обоснования целесообразности специфической профилактики ОРВИ проведен анализ охвата вакцинацией против гриппа детей, посещающих указанные организованные коллективы Красносельского района Санкт-Петербурга в 2008–2014 гг. (табл. 2). Результаты исследования показали, что вакцинацию против этой инфекции получили от 49,3% (2010 г.) до 55,4% (2013 г.) детей, что связано с наличием медицинских противопоказаний и отказов родителей от профилактических прививок. Таким образом, ежегодно от 3622 до 4734 детей оставались незащищенными.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ОХВАТА ВАКЦИНАЦИЕЙ ПРОТИВ ГРИППА ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ И СРЕДНИХ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ШКОЛ В КРАСНОСЕЛЬСКОМ РАЙОНЕ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В 2008–2014 гг.

Показатель	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Количество детей	7675	7669	7483	7701	8098	8544	9634
Количество привитых против гриппа	3916	4047	3692	3989	4424	4735	4900
% \pm m	51,0 \pm 2,5	52,8 \pm 2,5	49,3 \pm 2,5	51,8 \pm 2,5	54,6 \pm 2,5	55,4 \pm 2,4	50,9 \pm 2,2

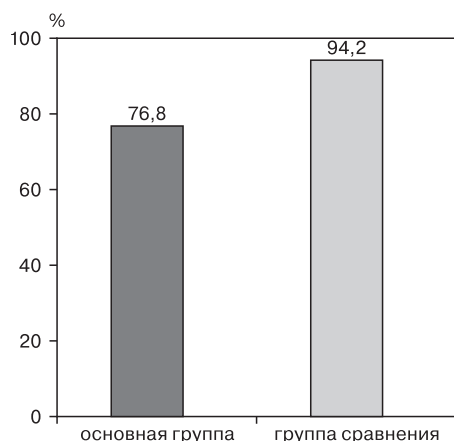


Рисунок. Заболеваемость ОРВИ детей, получавших и не получавших препарат «Эхинацея» в Санкт-Петербурге в 2013–2014 гг. (на 100 человек)

В результате проспективного когортного исследования эффективности нутрицевтического препарата, изготовленного на основе эхинацеи пурпурной, установлено, что число случаев заболеваний гриппом и ОРВИ в течение года у детей основной группы было в 2,3 раза ниже (171 случай), чем в группе сравнения (397 случаев). Дети основной группы болели в среднем 2,0 раза в год, в группе сравнения — 4,6 раз. Показатели заболеваемости составили в основной группе $76,8 \pm 4,6$, в группе сравнения — $94,2 \pm 2,5$ на 100 человек (рис.). Различия статистически значимы, $p < 0,01$.

Расчеты показателей абсолютного и относительного риска проведены по общепринятой методике [3] и представлены в таблице 3.

Показатель относительного риска ($RR = 0,77/0,94 = 0,80$; ДИ = 0,7–0,9) свидетельствует о наличии профилактического действия применяемого препарата.

В результате проведенного исследования установлена эффективность препарата «Эхинацея» не только для снижения заболеваемости ОРВИ, но и для уменьшения частоты осложненных форм болезни (табл. 4). Среди осложнений как в группе детей, получавших неспецифическую профилактику, так и группе сравнения, наиболее часто отмечались бронхиты — 23,2 и 46,5% соответственно ($p < 0,01$). Второе ранговое место по частоте возникновения в обеих группах занимали отиты — 13,4 и 29,1% ($p < 0,05$). Различия в частоте возникновения таких осложнений как синуситы, пневмонии и аденоидиты среди получавших и не получавших препарат «Эхинацея», составили 4,8; 3,2 и 3,0 раз соответственно ($p < 0,05$).

Заключение

Результаты исследования позволили подтвердить, что среди детей и подростков, посещающих организованные детские коллективы,

ТАБЛИЦА 3. РАСЧЕТ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АБСОЛЮТНОГО И ОТНОСИТЕЛЬНОГО РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОРВИ У ДЕТЕЙ, ПОЛУЧАВШИХ И НЕ ПОЛУЧАВШИХ ПРЕПАРАТ «ЭХИНАЦЕЯ» В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2013–2014 гг.

	Заболевание		
	+	-	
Группа основная (n = 82)	63	19	$Re = 63/(63+19) = 0,77$
Группа сравнения (n = 86)	81	5	$Rne = 81/(81+5) = 0,94$

ТАБЛИЦА 4. ЧАСТОТА ОСЛОЖНЕННЫХ ФОРМ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ДЕТЕЙ, ПОЛУЧАВШИХ И НЕ ПОЛУЧАВШИХ ПРЕПАРАТ «ЭХИНАЦЕЯ» В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2013–2014 гг.

Нозологическая форма	Показатель	Основная группа n = 82	Группа сравнения n = 86
Отиты	абс.	11	25
	%±m	$13,4 \pm 3,8$	$29,1 \pm 4,9$
Бронхиты	абс.	19	40
	%±m	$23,2 \pm 4,6$	$46,5 \pm 5,3$
Пневмонии	абс.	5	17
	%±m	$6,1 \pm 2,7$	$19,8 \pm 4,3$
Синуситы	абс.	2	10
	%±m	$2,4 \pm 2,8$	$11,6 \pm 3,4$
Аденоидиты	абс.	6	19
	%±m	$7,3 \pm 2,9$	$22,1 \pm 4,5$

сохраняется высокая заболеваемость гриппом и ОРВИ. Особенно уязвимы дети дошкольного возраста, у которых заболеваемость была в 3,1–3,7 раза выше, чем у учащихся школ. В то же время показано, что в разные годы 44,6–50,7% детей остаются не привитыми против гриппа в связи с наличием медицинских противопоказаний и отказов родителей. Полученные результаты и то, что в настоящее время существуют вакцины только для специфической профилактики гриппа, свидетельствуют о целесообразности использования препаратов для неспецифической профилактики ОРВИ.

Оценка эффективности профилактического курсового приема нутрицевтического препарата, изготовленного на основе эхинацеи пурпурной, в периоды сезонного подъема заболеваемости респираторными вирусными инфекциями показала, что он способствует снижению заболеваемости гриппом и ОРВИ, а также частоты осложнений после перенесенного заболевания у детей, посещающих организованные коллективы. Данный препарат может быть рекомендован для профилактики респираторных вирусных инфекций у детей.

Список литературы/References

1. Гагаринова В.М., Брахотская О.В., Бойков Ю.А., Мухленов А.Г., Ишрефова Л.Р., Щербина А.Н. Эффективность препарата Мидэл в системе неспецифической защиты детей 3–14 лет от вирусных инфекций // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2003. Т. 4, № 11. С. 34–36. [Gagarinova V.M., Brakhotskaya O.V., Boikov Yu.A., Mukhlenov A.G., Ishrefova L.R., Shcherbina A.N. The effectiveness of the drug Midel in the system of nonspecific protection of children 3–14 years of age from viral infections. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2003, vol. 4, no. 11, pp. 34–36. (In Russ.)]
2. Зайцева О.В. Рекуррентные респираторные инфекции: можно ли предупредить? // Педиатрия. 2015. Т. 94, № 2. С. 185–192. [Zaytseva O.V. Recurrent respiratory infections: is it possible to prevent them? *Pediatriya = Pediatrics*, 2015, vol. 94, no. 2, pp. 185–192. (In Russ.)]
3. Зуева Л.П., Яфаев Р.Х., Еремин С.Р. Эпидемиологическая диагностика. СПб.: ГОУВПО СПб ГМА им. И.И. Мечникова Минздрава России, 2003. 264 с. [Zueva L.P., Yafaev R.H., Eremin S.P. *Epidemiologicheskaya diagnostika* [Epidemiological diagnostics]. St. Petersburg: Mechnikov State Medical Academy, 2003. 264 p.]
4. Ишрефова Л.Р., Гагаринова В.М. Неспецифическая профилактика вирусных инфекций у часто болеющих детей // Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4, № 3. С. 136. [Ishrefova L.R., Gagarinova V.M. Nonpecific prevention of viral infections in frequently ailing children. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, vol. 4, no. 3, p. 136. (In Russ.)]
5. Казюкова Т.В., Панкратов И.В., Самсыгина Г.А., Алеев А.С., Дудина Т.А. Возможности семейной профилактики гриппа и острых респираторных вирусных инфекций // Педиатрия. 2010. Т. 89, № 6. С. 117–122. [Kazyukova T.V., Pankratov I.V., Samsygina G.A., Aleev A.S., Dudina T.A. Family prevention of influenza and acute respiratory viral infections. *Pediatriya = Pediatrics*, 2010, vol. 89, no. 6, pp. 117–122. (In Russ.)]
6. Нисевич Л.Л., Волков К.С., Алексеева А.А., Томилова А.Ю., Баранник В.А., Эфендиева К.Е. Подходы к терапии острых респираторных инфекций и гриппа при сезонном увеличении заболеваемости // Вопросы современной педиатрии. 2015. Т. 14, № 1. С. 64–69. [Nisevich L.L., Volkov K.S., Alekseeva A.A., Tomilova A.Yu., Barannik V.A., Efendieva K.Ye. Approaches to the treatment of acute respiratory infections and influenza during the seasonal increase in the incidence of diseases. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2015, vol. 14, no. 1, pp. 64–69. (In Russ.)]
7. Ревякина В.А. Перспективы использования растительных иммуномодуляторов в профилактике и терапии респираторных инфекций у детей // Инфекционные болезни. 2013. Т. 11, № 1. С. 93–96. [Revyakina V.A. Perspectives in using herbal immunomodulators for prevention and therapy of respiratory infections in children. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2013, vol. 11, no. 1, pp. 93–96. (In Russ.)]
8. Тутельян В.А., Суханов Б.П. Биологически активные добавки к пище: современные подходы к обеспечению качества и безопасности // Вопросы питания. 2008. Т. 77, № 4. С. 5–15. [Tutelian V.A., Sukhanov B.P. Biologically active food supplements: current approaches to quality assurance and safety. *Voprosy pitaniya = Nutrition*, 2008, vol. 77, no. 4, pp. 5–15. (In Russ.)]
9. Ghaemi A., Soleimanjahi H., Gill P., Arefian E., Soudi S., Hassan Z. Echinacea purpurea polysaccharide reduces the latency rate in Herpes simplex virus type-1 infections. *Intervirology*, 2009, vol. 52, no. 1, pp. 29–34. doi: 10.1159/000212988
10. Groom S.N., Johns T., Oldfield P.R. The potency of immunomodulatory herbs may be primarily dependent upon macrophage activation. *J. Med. Food*, 2007, vol. 10, no. 1, pp. 73–79. doi: 10.1089/jmf.2006.233
11. Hall H., Fahlman M.M., Engels H.J. Echinacea purpurea and mucosal immunity. *Int. J. Sports Med.*, 2007, vol. 28, no. 9, pp. 792–797. doi: 10.1055/s-2007-964895
12. Linde K., Barrett B., Woelkart K., Bauer R., Melchart D. Echinacea for preventing and treating the common cold. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2006, 1: CD000530. doi: 10.1002/14651858.CD000530.pub2
13. Pleschka S., Stein M., Schoop R., Hudson J.B. Anti-viral properties and mode of action of standardized Echinacea purpurea extract against highly pathogenic avian influenza virus (H5N1, H7N7) and swine-origin H1N1 (S-OIV). *Virol. J.*, 2009, vol. 13, no. 6, p. 197. doi: 10.1186/1743-422X-6-197

Авторы:

Ишрефова Л.Р., врач-педиатр многопрофильной клиники «БалтЗдрав»; аспирант лаборатории эпидемиологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Лялина Л.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией эпидемиологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Люзнов Д.А., д.м.н., зав. кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова; ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Маточкина О.В., врач-педиатр, зав. детским поликлиническим отделением № 60 СПб ГБУЗ Городская поликлиника № 91, Санкт-Петербург, Россия;

Давыдова Т.Ю., врач-педиатр, зав. детским поликлиническим отделением № 27 СПб ГБУЗ Городская поликлиника № 91, Санкт-Петербург, Россия;

Захарова Л.Е., врач-педиатр, зав. дошкольно-школьным отделением Детского поликлинического отделения № 60 СПб ГБУЗ Городская поликлиника № 91, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Ishrefova L.R., Pediatrician of Network of Versatile Clinics “BaltZdrav”; PhD Candidate, Laboratory of Epidemiology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Lyalina L.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Epidemiology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Lioznov D.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University; Leading Researcher, Laboratory of Viral Hepatitis, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Matochkina O.V., Pediatrician, Children’s Outpatient Department No. 60, Municipal Polyclinic No. 91, St. Petersburg, Russian Federation;

Davydova T.Yu., Pediatrician, Children’s Outpatient Department No. 27, Municipal Polyclinic No. 91, St. Petersburg, Russian Federation;

Zakharova L.E., Pediatrician, Head of the Preschool and School Department, Children’s Outpatient Department No. 60, Municipal Polyclinic No. 91, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.03.2016
Отправлена на доработку 01.04.2016
Принята к печати 12.05.2016

Received 24.03.2016
Revision received 01.04.2016
Accepted 12.05.2016

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. С февраля 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» публикует статьи на двух языках (русском и английском).

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, 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

Алексеева С.В.	117	Кулибали М.	151
Ба А.С.	151	Лаврентьева И.Н.	141
Белоглазов В.А.	165	Лиознов Д.А.	184
Бессолицына Е.А.	173	Лялина Л.В.	184
Буаро М.И.	151	Маничева О.А.	133
Бумбали С.	151	Маточкина О.В.	184
Васильева Н.Р.	179	Мельникова Н.Н.	133
Вишневский Б.И.	133	Мокроусов И.В.	179
Волков С.А.	173	Нарвская О.В.	179
Вязовая А.А.	179	Ногойбаева К.А.	141
Гордиенко А.И.	165	Останкова Ю.В.	141
Давыдова Т.Ю.	184	Пузырева Л.В.	103
Дармов И.В.	173	Сафонов А.Д.	103
Догонадзе М.З.	133	Саядян Х.С.	117
Есмагамбетов И.Б.	117	Семенов А.В.	141
Журавлев В.Ю.	133, 179	Соловьева Н.С.	133, 179
Захарова Л.Е.	184	Столбова Ф.С.	173
Ишрефова Л.Р.	184	Тобокалова С.Т.	141
Кажарова С.В.	109	Тотоян Арег А.	141
Каливоги С.	151	Харченко Е.П.	157
Касымбекова К.Т.	141	Шадуро Д.В.	165
Константинов О.К.	151	Шмаров М.М.	117
Коровкина Е.С.	109	Яблонский П.К.	133

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

адаптивный иммунитет	109	лекарственная устойчивость.....	133
анаплазмоз.....	173	молекулярная эпидемиология.....	141
антибактериальные терапевтические		мутации Toll-рецепторов.....	109
вакцины	109	неспецифическая профилактика	184
антитела	151	нуклеопротеин	117
антиэндотоксиновые антитела.....	165	осложнения.....	184
бабезиоз.....	173	острые респираторные инфекции.....	184
болезнь Лайма	173	патоген-ассоциированные молекулярные	
боррелиоз.....	173	структуры.....	109
вакцинация	157, 184	полимеразная цепная реакция	173
вирус гриппа.....	117	полиморфизм Toll-рецепторов.....	109
вирус гриппа А.....	157	полиморфизм генов	103
вирусные белки	157	провоспалительные цитокины.....	103
ВИЧ-инфекция	103	противовоспалительные цитокины.....	103
внебольничная пневмония	109	секвенирование.....	141
внегочечный туберкулез.....	133	системная красная волчанка	165
врожденный иммунитет.....	109	сочетанная инфекция.....	141
Гвинея	151	сполиготипирование	179
гемагглютинин.....	117	тенденции развития.....	133
генотип Beijing.....	133, 179	тропическая малярия	151
гепатит В	141	туберкулез легких.....	133
гепатит D.....	141	универсальная вакцина	117
гомология.....	157	фактор некроза опухоли.....	103
грипп	184	циркулирующие иммунные комплексы.....	165
дендритные клетки	109	цитокины.....	103
заболеваемость	184	широкая лекарственная устойчивость	179
иммунный ответ широкого спектра.....	117	эндогенная интоксикация	165
иммуноглобулины	151, 165	эндотоксин	165
иммунодиагностика	157	эрлихиоз.....	173
клещевой энцефалит	173	эхинацея.....	184
клещевые трансмиссивные инфекции	173	M2 (ионный канал)	117
клинико-эпидемиологическая характеристика ...	179	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	133, 179
компьютерный анализ.....	157	<i>Plasmodium falciparum</i>	151
Кыргызстан	141	Toll-рецепторы.....	109

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ И.Б. ЕСМАГАМБЕТОВА, С.В. АЛЕКСЕЕВОЙ, Х.С. САЯДЯНА, М.М. ШМАРОВА
 «СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА»
 (С. 117–132)

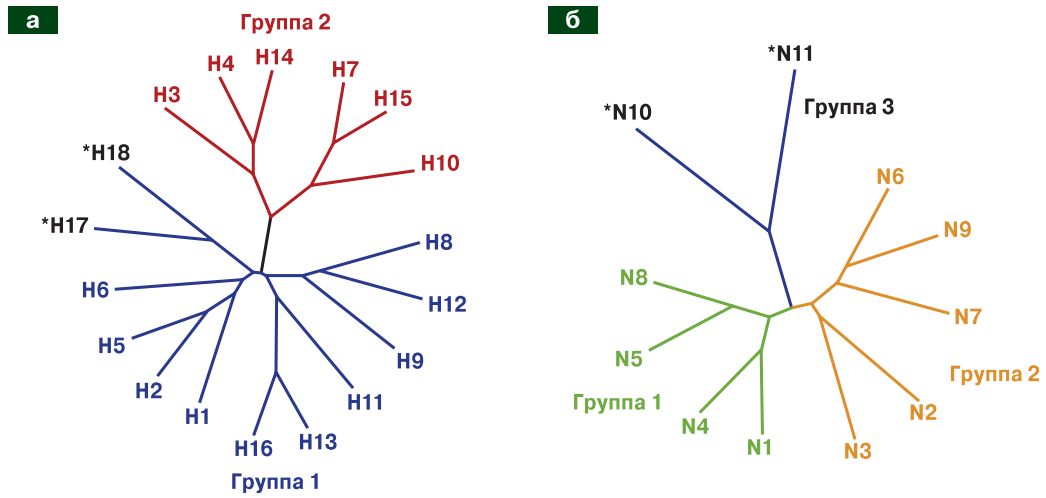


Рисунок 1. Филогенетические деревья поверхностных антигенов вируса гриппа А (Wu Y. et al., 2014)

а) филогенетическое дерево гемагглютинаина; б) филогенетическое дерево нейраминидазы;

* недавно идентифицированные подтипы.

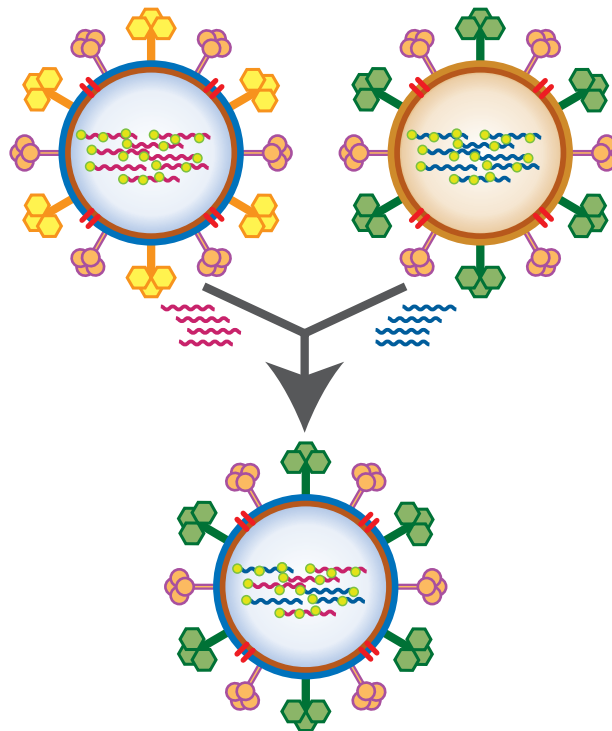


Рисунок 2. Схема антигенного шифта

Взято с сайта <http://project0802b.wordpress.com>

Подписной индекс:
Роспечать – 95001
Пресса России – 41392

