

## **Механизмы специфического иммунитета против полиовирусов**

В работе рассматриваются механизмы специфического клеточного гуморального и секреторного иммунного ответа на естественное инфицирование полиовирусами и иммунизацию двумя видами вакцин – оральной полиомиелитной вакциной и инактивированной полиомиелитной вакциной. Ключевые слова: полиовирусы, иммунитет, вакцинация.

Когда в начале 50 годов были описаны первичные В-клеточные иммунодефициты, в особенности связанная с X-хромосомой агаммаглобулинемия Брутона, было отмечено, что бактериальные инфекции значительно более часто, чем вирусные являются основной причиной летальных исходов у этих больных [7]. На этом основывалось предположение, что антитела и, соответственно, гуморальный иммунный ответ, играют очень малую роль или вообще не эффективны в защите от вирусных инфекций.

Энтеровирусные инфекции, в частности полиовирусная, являются примером, опровергающим это утверждение. Уже в начале 70 годов стало известно, что, наряду с бактериальными инфекциями, частыми осложнениями агаммаглобулинемии являются энтеровирусные энцефалиты экхо-вирусной этиологии [33]. Тяжелые инфекции, вызванные другими вирусами (вирусом простого герпеса, аденовирусом, цитомегалловиром, вирусом ветряной оспы, вирусом кори) выявлялись также достаточно часто [17, 29].

Еще одно доказательство, указывающее на важную роль антител в защите от вирусных (в частности энтеровирусных) инфекций было получено в результате назначения лицам с В-клеточными иммунодефицитами заместительной иммуноглобулинотерапии. Установлено, что у больных с агаммаглобулинемией, регулярно получающих в качестве заместительной терапии внутривенно препараты иммуноглобулинов, частота как бактериальных, так и вирусных инфекций практически была такой же, как и у здоровых иммунокомпетентных детей [48].

Экспериментальные доказательства, включая полученные на мышах с В-клеточным иммунодефицитом, так же подтверждают важную роль антител в определении тяжести течения и исхода вирусных инфекций. В частности, было показано, что антитела контролируют репродукцию вируса в организме, влияя таким образом на характер разрешения острой фазы вирусных заболеваний. Особо важное значение этот контроль имеет при инфекциях, обусловленных нейротропными вирусами [15, 35]. Интенсивность антителообразования и особенно вируснейтрализующая активность антител важны и для длительного контроля персистентных вирусных инфекций и ограничения частоты рецидивов [57].

Таким образом, протективная роль антител при энтеровирусных инфекциях в настоящее время не вызывает сомнений. Именно циркулирующие антитела нейтрализуют внеклеточные вирусы и таким образом предотвращают проникновение их в ЦНС, обеспечивают усиление их фагоцитоза, активацию комплемента и выведение из организма. Локальная защита слизистых оболочек

пищеварительного тракта от энтеровирусов осуществляется посредством секреторных антител (в основном IgA изотипа). Образование сывороточных и секреторных антител находится под контролем Т-клеточного иммунитета, однако, роль клеточно-опосредованных реакций в защите от энтеровирусов в отличие от гуморального иммунитета, менее изучена.

Закономерности гуморального иммунного ответа на естественную полиовирусную инфекцию и иммунизацию. В ответ на естественную инфекцию, иммунизацию оральной полиовакциной (ОПВ) или парентеральную иммунизацию инактивированной полиовакциной (ИПВ) иммунная система индивидуума отвечает развитием гуморального иммунитета. Протективный иммунный ответ характеризуется накоплением в организме специфических вируснейтрализующих антител к поверхностным эпитопам вирусных белков. К настоящему времени В-клеточные сайты (эпитопы) полиовирусов (ПВ) достаточно хорошо изучены. Их локализация была установлена с помощью следующих методов: выявления и характеристики устойчивых к нейтрализации моноклональными антителами мунантов ПВ [11, 37], праймирования и индукции иммунного ответа синтетическими пептидами, соответствующими определенным участкам капсидных белков ПВ [10, 12, 52], а также рентгеноструктурного анализа вириона [22, 45]. Они расположены в самых выступающих районах капсида и определяются в структуре трех основных полиовирусных белков (VP1, VP2 и VP3). Первый нейтрализационный антигенный сайт (Nag1) включает аминокислоты 89-100, 142, 166 и 253 белка VP1. Второй антигенный сайт (Nag 2) является комплексным и состоит из аминокислот 220-222 белка VP1, а также аминокислот 164-170 и аминокислоты 270 белка VP2. Третий антигенный сайт (Nag 3) так же является комплексным и состоит из трех подсайтов - Nag 3a, Nag 3b и Nag 3c. Структуру Nag 3a образуют аминокислоты 289-290 белка VP1 и 236 белка VP2; Nag 3b - аминокислоты 58-60, 75-79 и 144 белка VP3 и 72 аминокислота белка VP2; Nag 3c - аминокислоты 239-245 VP2 и 195-207 белка VP3.

Поскольку большинство моноклональных антител, полученных при иммунизации мышей очищенным ПВ типа 1 (ПВ1), было направлено на Nag 2, 3a и 3b, было принято, что для ПВ1 иммунодоминантными являются именно эти сайты [37]. Nag1 рассматривается как иммунодоминантный для ПВ2 и ПВ3 [38]. Следует подчеркнуть, что данные по иммунодоминантности антигенных сайтов ПВ были получены на основании взаимодействия с мышинными моноклональными антителами. Не исключено, что в организме человека иммунный ответ может быть направлен и на другие антигенные детерминанты. Свойства и кинетика специфичных к ПВ антител были достаточно хорошо изучены уже в 60 г. В ставших классическими в области иммунологии полиомиелита работах Ogra et al. [42, 43] было показано, что вирусспецифические антитела классов IgM и IgG выявляются в сыворотке крови уже в первые дни после инфицирования или иммунизации. На первой неделе спектр антител представлен преимущественно IgM, уровень которых превосходит в 2-8 раз таковые изотипа IgG. К концу второй недели уровни IgM и IgG вирусспецифических антител в сыворотке крови практически одинаковы. Затем уровень IgM постепенно снижается и к 60-70 дню они практически

исчезают из кровотока (Рис. 1). При этом после иммунизации ИПВ IgM снижаются медленнее, чем при иммунизации ОПВ и естественном инфицировании. Уровень же противовирусных IgG-изотипспецифических антител достигает максимальных значений через 30-60 дней. В последующем вирусспецифические IgG остаются основным классом антител, осуществляющих контроль инфекции.

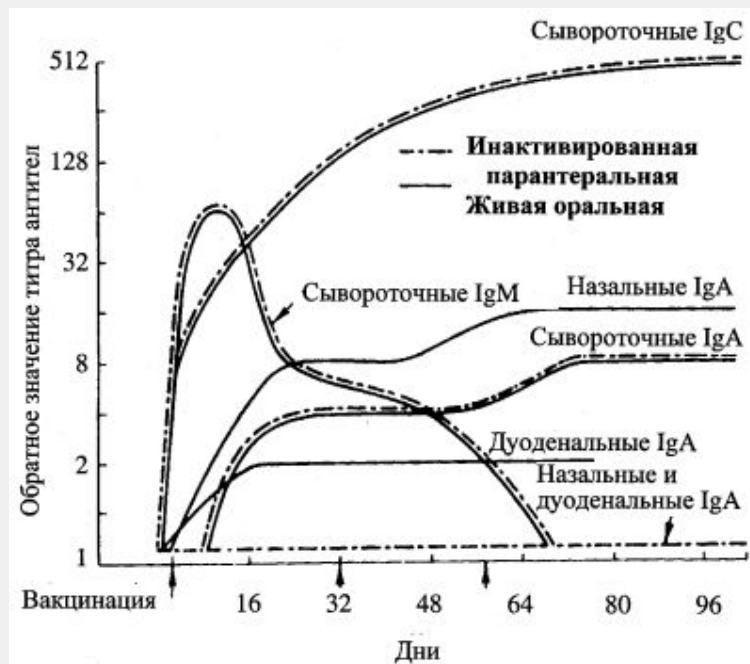


Рис. 1. Сывороточные и секреторные антитела, индуцированные введением живой аттенуированной полиовакцины per os и внутри-мышечной инокуляцией инактивированной полиовакцины [42]

Ревакцинация индуцирует бустерный иммунный ответ, который сопровождается повторным появлением IgM в сыворотке крови. Их уровень достигает того же, который наблюдается при первичной иммунизации. В отличие от динамики биосинтеза вирусспецифических IgM, бустерная вакцинация приводит к 4-8 кратному увеличению продукции антител IgG-изотипа [43].

Несмотря на то, что при иммунизации гуморальный иммунный ответ развивается подобно ответу на естественную инфекцию, уровень индуцируемых специфических IgG, как правило, ниже, чем при естественной инфекции.

Четко установлено, что естественное инфицирование детей ПВ сопровождается индукцией образования антител IgA-специфичности и их циркуляции в крови [21, 42]. Вместе с тем, данные литературы в отношении частоты выявления и уровня специфических IgA в сыворотке крови после вакцинации неоднозначны. В ранних работах Ogra et al. отмечается, что в сыворотке крови иммунизированных как ОПВ, так и ИПВ лиц специфические IgA выявляются в низких или умеренных титрах несколько позже, чем IgM и IgG и сохраняются в течение 2-8 недель после введения вакцины (Рис. 1). У некоторых лиц специфические IgA могут вовсе не определяться даже при нормальном IgM и IgG ответе.

Однако, исследования, выполненные в последние годы в Нидерландах (стране, где для иммунизации против полиомиелита применяется только ИПВ, а дикие ПВ в течение десятилетия практически не циркулируют), свидетельствуют о том, что сама по себе ИПВ способна индуцировать синтез специфических IgA и их циркуляцию в крови лишь у небольшого процента лиц (5-7%). При этом у людей старшего возраста, которые вероятнее всего ранее встречались с дикими ПВ либо вирусами, входящими в состав ОПВ (ОПВ использовалась в Нидерландах для подавления вспышек полиомиелита, вызванных дикими ПВ), сывороточные специфические IgA определялись достаточно часто (в 74-87% случаев). Эти наблюдения позволили авторам сделать вывод о том, что полученные ранее данные об индукции антигенами ИПВ сывороточных IgA вероятнее всего являлись результатом предшествующего праймирования иммунной системы циркулировавшими дикими или вакцинными ПВ [21]. Было предложено рассматривать вирусспецифические IgA в качестве серологического маркера циркуляции (скрытой циркуляции) ПВ в иммунизированной ИПВ популяции [20].

Известно, что нейтрализующая активность сывороток в отношении полиовирусов в основном связана с антителами изотипа IgG, роль IgM и IgA антител менее существенна [43]. Изучение эффекта гетеротипического праймирования на вируснейтрализующую активность сывороток показало, что иммунизация ПВ2 приводила к праймированию вторичного иммунного ответа к каждому из трех серотипов, тогда как праймирование ПВ1 или ПВ3 могло генерировать вторичный ответ только к гомологичному вирусу или ПВ2 [26]. Известно, что даже минимальные титры вируснейтрализующих антител могут предотвращать или, по крайней мере, снижать уровень виремии и защищать организм от развития нейроинфекции [50]. Кроме того, полагают, что высокие титры циркулирующих антител уменьшают выделение вируса из глотки и кишечника, хотя полная ингибция вирусной репликации в кишечнике наблюдается только при высоких титрах сывороточных антител (1:1024 и выше) [31].

Данные литературы по сравнительному исследованию гуморального иммунитета, индуцированного ОПВ и ИПВ неоднозначны. Некоторые исследователи отмечают, что иммунизация ОПВ приводила к достоверно более высоким титрам специфических антител классов IgG, IgM и IgA, чем иммунизация ИПВ [9]. В то же время данные других авторов свидетельствуют о том, что гуморальный иммунный ответ, индуцируемый ИПВ, по уровню и напряженности выше, чем индуцируемый ОПВ [32, 39]. Тем не менее, накопленный в мире в течение четырех десятилетий опыт вакцинации против полиомиелита, несомненно, свидетельствует о том, что обе вакцины создают достаточно прочный гуморальный иммунитет, препятствующий проникновению вируса в ЦНС и развитию паралича.

Закономерности Т-клеточного иммунного ответа на антигены полиовирусов. В отличие от гуморального иммунитета закономерности Т-клеточного иммунного ответа на энтеровирусную инфекцию гораздо менее изучены. Однако, несомненно, Т-клеточный иммунитет является важным в контроле и элиминации энтеровирусной инфекции и регуляции других форм иммунного ответа.

К настоящему времени в структуре полиовирусных белков идентифицированы CD4+ и CD8+ Т-клеточные эпитопы [18, 28]. С использованием панели полиовирусспецифических CD4+ Т-клеточных клонов были охарактеризованы Т-клеточные эпитопы на каждом из четырех капсидных белков ПВ и идентифицированы аминокислоты, критические для Т-клеточного распознавания. Т-клеточные клоны, которые распознавали эпитопы на VP1 (257-264 аминокислотные последовательности) или PV3 (аминокислоты 14-28, 189-203 и 196-210) были в основном типоспецифическими, в то время как большинство клонов, распознающих эпитопы на внутреннем белке VP4 (6-35 аминокислота) реагировали с ПВ различных серотипов. Вероятнее всего с консервативными Т-клеточными эпитопами белка VP4 и связана выраженная перекрестная реактивность Т-клеточного энтеровирусного иммунитета, в противоположность гуморальному иммунитету, который (вируснейтрализующие антитела), в основном, носит серотип-специфический характер [24, 30].

Kutubuddin et al. было показано, что иммунизация диким ПВ1 (штамм Mahoney) либо очищенным капсидным белком VP1 индуцирует ответ цитотоксических Т-лимфоцитов у BALB/c мышей (непермиссивная модель полиовирусной инфекции). С использованием синтетических пептидов были идентифицированы два CD8+ полиовирусспецифических Т-клеточных эпитопа в области VP1 (110-120 и 202-221 аминокислотные последовательности), которые локализуются рядом с В-клеточными антигенными сайтами [28].

Как известно, только люди и высшие приматы восприимчивы к ПВ инфекции, и отсутствие возможности моделирования полиовирусной инфекции на мелких животных препятствовало детальному исследованию механизмов иммунного ответа. Важную роль в изучении Т-клеточного иммунитета к ПВ сыграло создание трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий рецептор к ПВ (PVRtg мыши) [5, 27]. При инфицировании внутривенно или внутримышечно вирулентными дикими штаммами ПВ (но не аттенуированными вакцинными штаммами) у PVRtg мышей развивается заболевание, сходное с паралитическим полиомиелитом у людей. Кроме того иммунизация этих мышей вакцинными штаммами ПВ защищает их от последующего инфицирования диким ПВ.

В исследованиях Mahon V.P. et al. было показано, что преобладающими цитокинами, секретируемыми стимулированными антигенами ПВ спленocytesми трансгенных мышей или CD4+ Т-клеточными клонами, специфичными для распознавания эпитопов капсидных белков ПВ были интерлейкин-2 (ИЛ-2) и интерферон- $\gamma$  [30]. Известно, что такой цитокиновый профиль характерен для субпопуляции Т-хелперов 1 (Th1), в то время как Th2 клетки секретируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10 и др. Согласно современному пониманию функционирования CD4+ Т-хелперных клеток в защите от инфекционных агентов Th1 клетки индуцируют клеточный иммунный ответ и продукцию IgG антител определенных субклассов, тогда как Th2 клетки обеспечивают хелперную функцию гуморальному иммунитету. Соотношение этих двух субпопуляций клеток и определяет преимущественное направление развития иммунных процессов в сторону клеточного или гуморального иммунного ответа.

Исследование функции CD4+ полиовирус-специфических клонов Т-клеток выявило активность цитотоксических лимфоцитов у некоторых из них [30].

Кроме того, в эксперименте было показано, что полиовирусспецифические Th1 клетки обеспечивали продукцию В-клетками IgG2a антител. С использованием технологии адоптивного переноса была продемонстрирована возможность переноса протективного иммунитета против полиомиелита праймированными В-клетками в присутствии поликлональных полиовирус-специфических Т-клеток, но не в том случае, если трансгенные мыши получали только В-клетки или только Т-клетки. Более того, защита наблюдалась и в том случае, когда мыши получали праймированные В-клетки в присутствии Th1 клонов, специфичных к белку VP4 [30].

Vreugdenhil et al. также было показано, что ПВ1 (как и вирус Коксаки В4) индуцировал продукцию лимфоцитами человека цитокинов, преимущественно относящихся к Th1 профилю (ИЛ-2 и интерферон- $\gamma$ ). Однако наряду с этими цитокинами также отмечалась продукция ИЛ-10, который, как известно, играет роль в негативной регуляции клеточного и гуморального иммунного ответа [54]. Поскольку основным фактором в защите от полиовирусной инфекции считаются вируснейтрализующие антитела, можно было предполагать, что инфицирование ПВ трансгенных мышей приведет преимущественно к индукции CD4+ полиовирус-специфических Th2 клеток. Выявление полиовирус-специфических Т-клеток, преимущественно относящихся к Th1 субпопуляции, было несколько неожиданным. Тем не менее, эти данные, полученные при парентеральном инфицировании трансгенных мышей ПВ, убедительно свидетельствуют о протективной роли Т-клеточного ответа при полиомиелите.

В сравнении с ИПВ, иммунизация ОПВ, вероятно, приводит к существенно более сильному Т-клеточному иммунитету, который направлен не только в отношении ПВ трех серотипов, но и в отношении других энтеровирусов. Исследования Juhela et al. свидетельствуют о том, что дети, проживающие в Финляндии, иммунизированные ИПВ, имеют достоверно более низкий Т-клеточный иммунитет к ПВ1 и вирусу Коксаки В4 в сравнении с детьми в Эстонии, вакцинированными против полиомиелита ОПВ. При этом, судя по уровню вируснейтрализующих антител, инфицированность вирусом Коксаки В4 в этих двух странах практически одинаковая. Поскольку энтеровирусы в настоящее время рассматриваются как один из возможных этиологических агентов ювенильного инсулин-зависимого диабета, авторы связывают более низкую заболеваемость диабетом в Эстонии в сравнении с Финляндией с различиями в схемах иммунизации против полиомиелита [25].

Общая иммунная система слизистых и роль локального секреторного иммунного ответа в защите от кишечных инфекций. Важную роль в защите организма от возбудителей кишечных и респираторных инфекций играет секреторный иммунитет слизистых оболочек.

Термином «общая иммунная система слизистых» объединены лимфоидные образования кишечного тракта (GALT - gut associated lymphoid tissue), лимфоидную ткань бронхов (BALT - bronchus associated lymphoid tissue), глотки, слюнных желез, молочных желез и гениталий. Компоненты общей иммунной системы слизистых функционирует в известной степени независимо от системной иммунологической реактивности [6, 51, 55].

Многие общие закономерности иммунитета слизистых были изучены на примере иммунной системы желудочно-кишечного тракта, важнейшим органом которой является кишечник. Известно, что поверхность слизистой кишечника составляет около  $2 \times 10^6 \text{ см}^2$ , а ротовой полости  $3 \times 10^2 \text{ см}^2$  [1]. Отделы желудочно-кишечного тракта обладают как структурированной, так и диффузной лимфоидной тканью, которая имеет свои особенности, как по уровням синтеза иммуноглобулинов, так и по распределению популяций и субпопуляций лимфоцитов. Структурированная лимфоидная ткань включает в себя единичные некапсулированные фолликулы, а также организованные формирования - миндалины, аппендикс, групповые лимфатические фолликулы (пейеровы бляшки). Диффузная лимфоидная ткань представлена единичными клетками, инфильтрирующими эпителиальные пласты слизистых оболочек (главным образом Т-лимфоцитами, в том числе Т-клетками экспрессирующие *gd* рецептор). В собственной пластинке (*lamina propria*) и подслизистом слое преимущественно локализуются В-лимфоциты. Концентрация лимфоцитов в *lamina propria* и подслизистом слое кишечника достигает 75-150 млн в  $1 \text{ мм}^3$  [3], т.е. в лимфоидных образованиях кишечника содержится не менее иммунокомпетентных клеток, чем в селезенке.

В слизистых оболочках пищеварительного, а также дыхательного и урогенитального трактов содержится также два типа нелимфоидных клеток, выполняющих важные иммунологические функции - дендритные клетки и сами эпителиальные клетки. И те, и другие могут выполнять роль клеток, перерабатывающих и представляющих антиген CD4+ Т-лимфоцитам [2, 3].

Особая роль в инициации локального иммунного ответа отводится так называемым М-клеткам - микроскладчатым клеткам, ассоциированным с групповыми лимфатическими фолликулами. Именно эти ворсинчатые клетки являются ответственными за захват и транслокацию антигенов из просвета кишечника внутрь лимфатических фолликулов [2, 3].

Локальная защита от энтеропатогенных инфекционных агентов, в основном, осуществляется посредством антител, относящимся к классу IgA, которые вырабатываются местно плазматическими клетками, находящимися в собственной пластинке кишечника. В отличие от мономерных форм IgA, синтезируемых плазматическими клетками крови, IgA-антитела, синтезируемые плазматическими клетками кишечника, являются димерами [16, 56].

Значительная их часть секретруется в просвет кишечника, проникая в эпителиальные клетки путем пиноцитоза. В эндосомах мономерные молекулы антител соединяются посредством *j*-цепи в единую структуру с продуктом эпителиальных клеток - секреторным компонентом, образуя так называемые секреторные IgA (sIgA). Димерные sIgA, представляют собой пример эволюционной адаптации иммуноглобулинов на слизистых покровах.

Возможность их функционирования в пищеварительном тракте и других трактах в условиях постоянного воздействия факторов различной природы связана с их уникальными свойствами: устойчивостью к деградирующему воздействию протеаз; аффинитетом к поверхности слизистых оболочек; обладанием особой четвертичной структуры, обеспечивающей их мультивалентность. Эти

характеристики обеспечивают более длительное их существование, обеспечение реакций агглютинации и нейтрализации инфекционных агентов.

Сывороточные антитела, способные к защите слизистых оболочек, могут также поступать путем трансдукции из крови, однако, по-видимому, их роль незначительна. Вероятно, достаточные для местной защиты количества этих антител могут накапливаться только при наличии их очень высоких уровней в сыворотке крови, выраженном воспалении и повышенной проницаемости сосудов. При этом сывороточные антитела, проникающие в просвет кишечника, относятся преимущественно к классу IgG, устойчивость которых к протеолизу ферментами кишечника существенно ниже, чем sIgA. Таким образом, роль антител других изотипов в обеспечении иммунитета слизистых в сравнении с IgA, по-видимому, незначительна [52, 55].

Следует отметить, что многие механизмы взаимодействия разных факторов системы местного иммунитета до конца не выяснены. Эта проблема все еще остается «молодой» несмотря на длительный период ее изучения.

Протективная роль секреторного иммунитета при полиовирусной инфекции.

Наличие специфических полиовируснейтрализующих антител в фекалиях больных паралитическим полиомиелитом было впервые показано Steigman и Lipton в 1959 г. [49]. Уже исследованиями 60 годов было установлено, что, несмотря на сходство в индукции специфического гуморального иммунного ответа, ИПВ и ОПВ существенно отличаются по способности индуцировать локальный иммунитет пищеварительного тракта. В первых работах по сравнительной эффективности этих вакцин было показано, что ОПВ индуцирует состояние локальной резистентности кишечного тракта к последующему инфицированию ПВ, в то время как кишечник лиц, иммунизированных парентерально ИПВ, оставался в такой же степени восприимчивым к реинфекции, как и у контрольных неиммунизированных лиц [43].

Некоторая степень локального иммунитета была позднее выявлена при неоднократном парентеральном введении ИПВ (особенно ИПВ с увеличенным содержанием антигенов ПВ). Во многих исследованиях локального иммунитета после иммунизации ИПВ специфические антитела выявляли в иммуноферментном анализе, при этом неизвестно, обладали ли они вируснейтрализующей активностью и являлись ли они протективными [9, 34].

Сравнительные исследования по эффективности секреторного иммунитета, убедительно свидетельствуют о том, что эффективность иммунитета, индуцированного ИПВ, в значительной степени уступает иммунитету у иммунизированных ОПВ и особенно протективности естественно инфицированных лиц [9, 19, 44].

Установлено, что иммунизация ОПВ приводит к появлению sIgA к ПВ в носоглотке и кишечнике примерно через 1-2 недели после иммунизации. После достижения пика, их уровень остается стабильным в течение 5-6 лет (период наблюдения) (Рис. 1). Интраназальная иммунизация высокими дозами ИПВ индуцировала выработку секреторных IgA в носоглотке при отсутствии их в сыворотке крови. sIgA определялись в носоглотке в течение 3 месяцев (период наблюдения) [42].



В секретах лиц, иммунизированных ОПВ также были выявлены специфические IgG и IgM, но в значительно более низких титрах, чем sIgA [52]. В отличие от гуморального иммунитета, где вируснейтрализующая активность в основном обеспечивается IgG, вируснейтрализующая активность секторных антител коррелирует с содержанием sIgA.

В исследованиях Fiore et al. было показано, что sIgA взаимодействуют практически с теми же поверхностными эпитопами ПВ, что и сывороточные антитела IgG специфичности. Панель моноклональных антител IgA-изотипа к вирусу Себина 1 (индуцированных пероральной иммунизацией живым вирусом в комбинации с холерным токсином) взаимодействовала с аминокислотами, входящими в состав Nag2 и Nag3, подтверждая иммунодоминантность этих сайтов для ПВ1. Кроме того при исследовании взаимодействия ПВ с sIgA была выявлена еще одна аминокислота в составе Nag2 (138 белка VP2) [14]. Продолжительность поддержания протективного уровня секреторного иммунитета, индуцированного ОПВ, изучена недостаточно. С одной стороны, в ранних работах Ogga отмечается, что он поддерживается в течение нескольких лет [42]. В то же время данные Nishio et al. свидетельствуют о том, что у детей, вакцинированных 2 дозами ИПВ в первые месяцы жизни и получивших третью дозу ОПВ через 11 лет, секреторный иммунитет был очень слабым даже в первые недели после иммунизации. При этом практически все дети содержали антитела в протективных титрах в сыворотке крови. Вероятно, продолжительность иммунологической памяти для секреторных антител значительно короче, чем для сывороточных [40]. Исследования Morimoto N. et al. также свидетельствуют о том, что продолжительность персистенции sIgA в протективных титрах, предупреждающих последующее инфицирование кишечника ПВ (i1:4 - для ПВ1 и ПВ3, i1:8 - для ПВ2 в 10%-ной фекальной суспензии) недолговременна [38].

Результаты наших исследований позволяют утверждать, что локальный иммунитет кишечника к ПВ носит выраженный типоспецифический характер. В ответ на вакцинацию ОПВ, обеспечившую сероконверсию ко всем трем типам ПВ уже после второй дозы вакцины, выраженный локальный иммунитет (вируснейтрализующие антитела и специфические sIgA в экстрактах фекалий) формировался только к ПВ2. Интенсивная экскреция ПВ2 наблюдалась лишь после первой дозы вакцины, дети практически не экскретировали ПВ этого серотипа после последующих (второй и третьей) доз ОПВ. В отличие от ПВ2, ПВ двух других серотипов реплицировались в кишечнике детей после введения каждой из трех доз ОПВ. Интенсивность экскреции с каждой дозой вакцины несколько снижалась, однако, даже через 9 недель после введения третьей дозы ОПВ 10% обследованных детей все еще экскретировали ПВ3. Напряженность кишечного иммунитета (средняя геометрическая титра вируснейтрализующих антител) ко всем типам ПВ постепенно возрастала в динамике иммунизации, однако она была существенно ниже в отношении ПВ1 и ПВ3 в сравнении с ПВ2. При этом следует отметить, что в отличие от сывороточных вируснейтрализующих антител, титры антител к ПВ3 в фекальных экстрактах были выше, чем к ПВ1 [47].

Следует отметить, что данные по формированию секреторного иммунитета слизистых кишечника у привитых либо переболевших полиомиелитом лиц, в основном, были получены путем исследования специфических антител в суспензии фекалий. Несомненно, исследование суспензии фекалий позволяет получить лишь опосредованную информацию о состоянии секреторного иммунитета. На результат измерения уровня специфических антител могут влиять многие факторы, и в первую очередь активность протеолитических ферментов кишечника [13, 23]. С разработкой трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий рецептор к полиовирусам появилась надежда разработки экспериментальной модели для изучения закономерностей формирования локального иммунитета кишечника. Однако попытки добиться приживления и дальнейшего размножения ПВ, введенного per os этим мышам, закончились неудачно. Иммунизация per os не приводила к индукции IgA в кишечнике мышей [41]. Предполагается, что многие ткани PV/Rtg мышей остаются рефрактерными к полиовирусной инфекции [46]. Однако в последние годы Buisman et al. удалось разработать модельную систему для изучения секреторного иммунитета у PV/Rtg мышей путем интраперитонеального введения вируса [8], что позволяет надеяться на быстрый прогресс в расшифровке механизмов развития локального иммунитета слизистых и установлении взаимоотношений между системным и локальным иммунным ответом в защите от полиовирусной инфекции.

Способность индуцировать локальную резистентность кишечника к последующему инфицированию ПВ, а, следовательно, влиять на трансмиссию ПВ в популяции, является одним из основных преимуществ ОПВ перед ИПВ, определившим выбор ОПВ как вакцины, с помощью которой можно достичь глобальной ликвидации полиомиелита. Вопросы, связанные с продолжительностью сохранения секреторного иммунного ответа, установление количественных и функциональных взаимоотношений между локальным и системным иммунным ответом, выраженность локального иммунного ответа в популяции имеют большое значение для программы глобальной ликвидации полиомиелита и требуют их дальнейшего изучения.

#### Литература

1. Воробьев А.А. Физиологические пути введения антигенов и других биологически активных веществ в организм // Иммунология.-1996.- №5.- С.4-8.
2. Першин Б.Б., Гелиев А.В., Толстов Д.В., Ковальчук Л.В. Система лимфоидной ткани пищеварительного тракта животных и перорально индуцированная толерантность // Иммунология.- 2001.- №6.- С. 10-18.
3. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М., «Медицина», 1999.
4. Levine B., Hardwick J.M., Trapp B.D. et al. Antibody-mediated clearance of alphavirus infection from neurons // Science.- 1991.- Vol. 254.- P. 856-860.
5. Abe S., Ota Y., Koike S. et al. // Neurovirulent test for oral live poliovaccines using poliovirus-sensitive transgenic mice // Virology.- 1995.- Vol. 206.- p. 1075-1083.
6. Bienenstock J. The physiology of the local immune response and the gastrointestinal tract // Prog. Immunol.- 1974.- Vol. 4.- P. 197-207.
7. Bruton O. Agammaglobulinemia // Pediatrics.- 1952.- Vol. 9.- P.722- 728.

8. Buisman A.M., Sonsma J.A., Kimman T.G., Koopmans M.P.G. Mucosal and Systemic Immunity against Poliovirus in Mice Transgenic for the Poliovirus Receptor: The Poliovirus Receptor Is Necessary for a Virus-Specific Mucosal IgA Response // *J Infect Diseases.*- 2000.- Vol. 181.- P. 815-823.
9. Carlsson B., Shakila Z., Mellander L. Et al. Secretory and Serum Immunoglobulin Class-Specific Antibodies to Poliovirus After Vaccination // *J. Infect. Dis.*- 1985.- Vol. 152.- N 6.- P.1238-1243.
10. Chow M., Yabrov R., Bittle J. et al. Syntetic peptides from four separate regions of the poliovirus type 1 capsid protein PVP1 induce neutralizing antibodies // *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.*- 1985.- P. 910-914.
11. Emini E.A., Jameson B.A., Levis A.J. et al. Poliovirus neutralization epitopes: analysis and localization with neutralizing monoclonal antibodies // *J. Virol.*- 1982.- Vol. 43.- P. 997-1005.
12. Emini E.A., Jameson B.A., Wimmer E. Priming for and induction of anti-poliovirus neutralizing antibodies by synthetic peptides // *Nature.*- 1983.- Vol. 304.- P. 699-703.
13. Ferguson A., Humphreys K.F., Croft N.M. Technical report: results of immunological tests on fecal extracts are likely to be extremely misleading // *Clin. Exp. Immunol.*- 1995.- Vol. 99.- P. 70.
14. Fiore L., Ridolfi B., Genovese D. Et al. Poliovirus Sabin Type 1 Neutralization Epitopes Recognized by Immunoglobulin A Monoclonal Antibodies // *J. of Virology.*- 1997.- Vol.71, N. 9.- P. 6905-6912.
15. Fujinami R.S., Oldstone M.B. Alteration in expression of measles virus polypeptides by antibody: molecular events in antibody-induced antigenic modulation // *J. Immunol.*- 1980.- Vol. 125.- P. 78-85.
16. Goldblum R.M., Ahlstedt S., Carlsson B. et al. Antibody-forming cell in human colostrum after oral immunisation // *Nature.*- 1975.- Vol. 257.- P. 797-799.
17. Graham D.A., Gordon A., Ashworth B., Yap P. Immunodeficiency measles encephalitis // *J. Clin. Lab. Immunol.*- 1983.- Vol. 10.- P. 117-120.
18. Graham S., Wang E.C.Y., Jenkins O., Borisievich L. Analysis of the T cell response to picornaviruses. Identification of T cell epitopes of poliovirus // *J. Virol.*- 1993.- Vol. 67.- P. 1627-1637.
19. Henry J.L., Jaikaran E.S., Davies J.R. A study of polio vaccination in infancy: excretion following challenge with live virus by children given killed or living polio vaccine // *J. Hyg. Camb.*- 1966.- Vol. 64. - P. 105-120.
20. Herremans T., Kimman T.G., Conyn-van Spaendonck et al. Immunoglobulin A as a Serological Marker for the (Silent) Circulation of Poliovirus in an Inactivated Poliovirus-Vaccinated Population // *Clin. Infect. Dis.*- 2002.- Vol. 34.- P. 1067- 1075.
21. Herremans M.M.P.T., van Loon A.M., Reimerink J.H.J. et al. Poliovirus-Specific Immunoglobulin A in Persons Vaccinated with Inactivated Poliovirus Vaccine in The Netherlands // *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.*- 1997.- Vol. 4, N 5.- P. 499-503.
22. Hogle J.M., Chow M., Filman D.J. Three-dimensional structure of poliovirus at 2.9 E resolution // *Science.*- 1985.- Vol 229.- P. 1358-1365.

23. Hovi T., Vaissanen V., Ukkonen P., von Bonsdorff C.H. Solid-phase enzyme immunoassay for rotavirus antigen: faecal protease activity as a reason for false-negative results // *J. Virol. Methods.*- 1982.- Vol. 5, N 1.- P. 45-33.
24. Juhela S., Hyoty H., Lonrot M. et al. Enterovirus Infections and Enterovirus Specific T-cell Responses in Infancy // *J. Medical Virology.*- 1998.- Vol. 54.- P. 226-232.
25. Juhela S., Hyoty H., Uibo R. Et al Comparison of enterovirus-specific cellular immunity in two populations of young children vaccinated with inactivated or live poliovirus vaccines // *Clin. Exp. Immunol.*- 1999.- Vol.117, N 1.- P. 100-105.
26. Katrak K., Mahon B.P., Minor P.D., Mills K.H.G. Cellular and humoral responses to poliovirus in mice: a role for T cells in heterotypic immunity to poliovirus // *J. Gen. Virol.*- 1991.- Vol. 72.- P. 1095-1098.
27. Koike S., Taya C., Kurata T. et al. Transgenic mice susceptible to poliovirus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*- 1991.- Vol. 88.- P. 951-955.
28. Kutubuddin M., Simons J., Chow M. Poliovirus-specific major histocompatibility complex class I-restricted cytolytic T cell epitopes in mice localize to neutralizing antigenic regions // *J. Virol.*- 1992.- Vol. 66.- P. 5967-5974.
29. Lederman H.M., Winkelstein J.A. X-linked agammaglobulinemia: an analysis of 96 patients // *Medicine (Baltimore).*- 1985.- Vol. 64.- P. 145-156.
30. Mahon B.P., Katrak K., Nomoto A. et al. Poliovirus-specific CD4+ Th1 Clones with Both Cytotoxic and Helper Activity Mediate Protective Humoral Immunity against a Lethal Poliovirus Infection in Transgenic Mice Expressing the Human Poliovirus Receptor // *J. Exp. Med.*- 1995.- Vol. 181.- P. 1285-1292.
31. Marine W.M., Chen T.D.Y., Gravelle C.R. Limitation of fecal and pharyngeal poliovirus excretion in Salk vaccinated children // *Am. J. Hyg.*- 1962.- vol. 76.- P. 173-195.
32. McBean A., Modlin J. Rationale for the sequential use of inactivated poliovirus vaccine and live attenuated poliovirus vaccine for routine poliomyelitis immunization in the United States // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 1987.- №6.- P.881.
33. McKinney R.E., Katz S.L., Wilfert C.M. Chronic enteroviral meningoencephalitis in agammaglobulinemic patient // *Rev. Infect. Dis.*- 1987.- Vol.9.- P. 334-356.
34. Mellander L., Bottiger M., Hanson L.A. et al. Avidity and titers of the antibody response to two inactivated poliovirus vaccines with different antigen content // *Acta Paediatr.*- 1993.- Vol. 82.- P. 552-556.
35. Mester J.C., Rouse B.T. The mouse model and understanding immunity to herpes simplex virus // *Rev. Infect. Dis.*- 1991.- Vol. 13 (Suppl. 11).- S. 935-945.
36. Minor P.D. The molecular biology of poliovaccines // *J. Gen. Virol.*- 1992.- Vol. 73.- P. 3065-3077.
37. Minor P.D., Ferguson M., Evans D.M.A. et al. Antigenic structure of polioviruses of serotypes 1,2 and 3 // *J. Gen. Virol.*- 1986.- Vol. 67.- P. 1283-1291.
38. Morimoto N. The Relationship between Poliovirus Multiplication, the sIgA Antibody Response and the Serum Neutralizing Antibody Titers after Trivalent Oral Polio Vaccination // *J. J. A. Inf. D.*- 2001.- Vol.75.- P.1030-1039.
39. Moriniere B.J., van Loon F.P.L., Rhodes P.H. et al. Immunogenicity of a supplemental dose of oral versus inactivated poliovirus vaccine // *Lancet.*- 1993.- Vol. 341, N 8860.- P.1545-1550.

40. Nishio O., Sumi J., Sakae K. Et al. Fecal IgA antibody response after oral poliovirus vaccination in infants and elder children // *Microbiol. Immunol.*- 1990.- Vol. 34.- N. 683-689.
41. Nomoto A/, Koike S., Aoki J. Tissue tropism and species specificity of poliovirus infection // *Trends Microbiol.*- 1994.- Vol 2.- P. 47-51.
42. Ogra P.L., Fishaut M., Gallagher M.R. Viral Vaccination Via the Mucosal Route // *Rev. Infect. Dis.*- 1980.- Vol.2, N3.- P. 352-369.
43. Ogra P.L., Karzon D.T., Righthand F., MacGillivray M. Immunoglobulin response in serum and secretions after immunization with live and inactivated poliovaccine and natural infection // *New England J. Med.* – 1968. – Vol. 279. – No. 17. – P.893-900.
44. Oronato I.M., Modlin J.F., McBean A.M. et al. Mucosal immunity induced by enhanced-potency inactivated and oral polio vaccines // *J.Infec. Dis.*- 1991.- Vol. 163.- P.1-6.
45. Page G.S., Mosser A.G., Hogle J.M. et al. Three-dimensional structure of poliovirus serotype 1 neutralizing determinants // *J. Virol.*- 1988.- Vol.62.- P.1781-1794.
46. Racaniello V.R., Ren R. Transgenic mice and the pathogenesis of poliomyelitis // *Arch Virol Suppl* - 1994.- Vol 9. - P. 79-86.
47. Samoilovich E., Roivainen M., Titov L.P., Hovi T. Serotype-specific mucosal immune response and subsequent poliovirus replication in vaccinated children // *J. Med. Virol.*- 2003 (in press).
48. Skull S., Kemp A. Treatment of hypogammaglobulinaemia with intravenous immunoglobulin, 1973-93 // *Arch. Dis. Child.*- 1996.- Vol. 74.- P. 527-530.
49. Steiman A.J., Lipton M.M. Poliovirus-neutralising antibody in faeces of poliomyelitis children // *Lancet.*- 1959.- Vol. 2.- P. 272-273.
50. Stevens K.M. Estimate of molecular equivalent of antibody required for prophylaxis and therapy of poliomyelitis // *J. Hyg.*- 1959.- Vol. 57.- P. 198-200.
51. Tomasi T.B. *The Immune System of Secretions.* Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice-Hall.- 1976.
52. Valtanen S., Roivainen M., Piirainen et al. Poliovirus-Specific Intestinal Antibody Responses Coincide with Decline of Poliovirus Excretion // *J. Infect. Dis.*- 2000.- Vol. 182.- P. 1-5.
53. Van der Werf S., Briand J. P., Plaue S. et al. Ability of linear and cyclic peptides of neutralization antigenic site 1 of poliovirus type 1 to induce virus cross-reactive and neutralizing antibodies // *Res. Virol.*- 1994.- Vol. 145.- P. 349-359.
54. Vreugdenhil G.R., Wijnands P.G.J.T.B., Netea M.G. et al. Enterovirus-induced Production of Pro-inflammatory and T-helper Cytokines by Human Leukocytes // *Cytokine.*- 2000.- Vol.12, N 12.- P. 1793-1796.
55. Walker W.A., Isselbacher K.J. Intestinal Antibodies // *The New England Journal of Medicine.*- 1977.- Vol.297, N 14.- P. 767-773.
56. Weck K.E., Kim S.S., Virgin IV H.I., Spect S.H. B cell regulated murine gammaherpesvirus 68 latency // *J. Virol.*- 1999.- Vol. 73.- P. 4651-4661.
57. Wieggers K., Dernick R. Molecular Basis of Antigenic Structures of Poliovirus: Implications for their Evolution during Morphogenesis // *J. Virology.*- 1992.- Vol. 66, N 7.- P. 4597-4600.