Эволюционные процессы и задачи повышения эффективности биопрепаратов

Evolutionary processes and tasks to improve the effectiveness of biological products

Гринь С.А.
Московская обл.

DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-6-3
УДК 619:579.862.1

Ключевые слова: вакцина, профилактика, иммунитет, эволюция

Key words: vaccine, prevention, immunity, evolution

Резюме. В работе рассматриваются факторы, влияющие на развитие эпизоотического процесса, анализируется динамика развития эпизоотии с учётом особенностей функционирования иммунной системы. Авторы приводят доказательство, что в условиях интенсивного промышленного производства происходит ускорение эволюционных процессов в микромире: микроорганизмы генетически изменяются, как правило, в сторону повышения вирулентности. Современные условия требуют от ученых детального изу-

чения взаимоотношения микроорганизмов с макроорганизмом, учёта многообразных факторов, влияющих на эпизоотический процесс.

Summary. The work considers the factors that influence the development of the epizootic process, analyzes the dynamics of epizootic development, taking into account the features of the functioning of the immune system. The authors give evidence that in the conditions of intensive industrial production there is an acceleration of evolutionary processes in the microcosm: microorganisms genetically change, as a rule, towards increasing virulence. Modern conditions require scientists to study in detail the relationship between microorganisms and the macroorganism, taking into account the diverse factors that affect the epizootic process.

Введение

Важная задача ветеринарной медицины – противостоять вредоносным инфекционным факторам и снижать их влияние на делящуюся клетку макроорганизма. С помощью достижений биотехнологии, предполагающей функционирование в регионах страны биозаводов, производящих биологические профилактические препараты, применение которых повысит иммунный статус животных, птицы и человека, улучшит местные экологические условия и другие важные факторы жизнеобеспечения.

Современные эволюционные процессы, происходящие с микро и макро-организмами, повышение вирулентности патогенов требует от ученых и практиков интенсификации усилий с углубленным изучением всех звеньев иммунитета. Увеличение интенсивности мутационных процессов объясняет факт появления большого количества новых штаммов (серотипов) микроорганизмов, вызывающих инфекционные болезни. Например, регистрируется более 100 штаммов вируса ящура, свыше 2,5 тысяч штаммов сальмонелл, несколько тысяч штаммов эшерихий. Мутированные штаммы микроорганизмов отличаются своими биологическими свойствами, что может значительно затруднить борьбу с ними.

Авторы / Authors

Гринь С.А., ВРИО директора ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, член-корреспондент РАН, e-mail: vnitibp@mail.ru

Мельник Р.Н., к.б.н., заместитель директора ФГБНУ ВНИТИБП

Киш Л.К., к.вет.н., директор ФГБУ "Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов", e-mail: kanc@vgnki.ru

Бондарева Н.А., к.б.н., отдел иммунологии ФГБНУ ВНИТИБП, e-mail: vnitibp@mail.ru

Самуйленко А.Я., заместитель директора по бионанотехнологиям ФГБНУ ВНИТИБП, академик РАН

Матвеева И.Н., заведующая отделом молекулярной биологии и вирусологии ФГБНУ ВНИТИБП, д.б.н., профессор, e-mail: biolog1967@mail.ru

Grin S.A., Melnik R.N., Kish L.K., Bondareva N.A., Samuilenko A.Ya.

Из-за увеличения численности населения и животных, возрастания скорости и количества перевозимых микроорганизмов, значительно ускоряется вероятность непрерывной передачи микроорганизмов от одного микроорганизма к другому. При этом время передачи инфекции сократилось с 3 мин до 0,000002 мин.

На распространение болезней оказывают значительное влияние социально-экономические факторы:

- рост численности населения и сельскохозяйственных животных
- скорость и количество перемещающихся макроорганизмов
- сокращение полезной площади земли
- международный туризм
- торговля
- близость мегаполисов с многомиллионным населением и активной миграцией.

Для эффективной борьбы с инфекционными болезнями необходимо изучить факторы, влияющие на развитие эпизоотического процесса, а также чётко представлять динамику развития эпизоотии с учётом особенностей функционирования иммунной системы.

В условиях интенсивного промышленного производства происходит ускорение эволюционных процессов в микромире: микроорганизмы генетически изменяются, как правило, в сторону повышения вирулентности. Совершенствование мероприятий по профилактике инфекционных болезней животных и птицы – это многофакторный процесс и требует детального изучения взаимоотношения микроорганизмов с макроорганизмом, учёта многообразных факторов, влияющих на эпизоотический процесс.

Ветеринарная практика располагает широким арсеналом средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных заболеваний, изучение влияния факторов и мероприятий на эпизоотический процесс и изменения, которые возникают при этом во взаимодействии макро- и микроорганизмов является своевременным и актуальным направлением исследований. В представленной статье авторами проведён анализ факторов, влияющих на эпизоотический процесс распространения инфекционных болезней животных в Российской Федерации, и определены основные направления мероприятий по их искоренению.

Материалы и методы

В исследованиях использовали афтозный вирус ящура типов А, О и С; коммерческую моновалентную противоящурную вакцину (О₁, штамм 1618) инактивированную гидроксиалюминиевую с добавлением сапонины. Вирус ящура репродуцировали в культуре клеток свиных почек (СП).

В качестве подопытных животных использовали клинически здоровый крупный рогатый скот, живой массой 250–300 кг, беспородных белых мышей массой 10–12 г, морских свинок массой 400–450 г.

С целью статистического анализа и прогноза применяли данные роста численности человека и животных, сокращения полезной площади земли с прогнозом до XXI века и усреднённые скорости передвижения, а также количество перемещающихся макроорганизмов.

На разных этапах работы использовали комплекс общепринятых вирусологических, бактериологических и биотехнологических методов.

Результаты исследований

За 200-летний период научно-технического прогресса произошли существенные изменения ряда важных факторов эпизоотического процесса: рост численности насе-

ния и деятельность человека, увеличение поголовья сельскохозяйственных животных, сокращение полезной площади земли, повышение скорости перемещения и времени передачи возбудителя макроорганизмам.

Для расчёта предполагаемого времени передачи микроорганизмов (Т) от одного макроорганизма к другому ввели следующие обозначения:

Т – время передачи возбудителя инфекции между микроорганизмами;

N – общее число макроорганизмов;

D – процент перевозимых макроорганизмов;

$N \cdot D/100$ – число перевозимых макроорганизмов;

V – скорость перемещения.

Допустим, что на время передачи возбудителя инфекции между макроорганизмами наиболее сильно влияют два фактора:

- число перевозимых макроорганизмов (численность и их процент);
- скорость перемещения макроорганизмов.

За начало отсчёта взяли 1800 год.

Тогда $T_0 = 3$ мин; $N_0 = 4$ млрд. макроорганизмов; $D_0 = 0,01$;

$N_0 \cdot D_0 = (4 \cdot 0,01)/100 = 0,0004$ млрд. макроорганизмов;

$V_0 = 10$ км/час.

Изменение времени передачи возбудителя инфекции выведено математической зависимостью (А.А. Маслак, 2011):

$$T = \frac{T_0}{\frac{V}{V_0} \cdot \sqrt{\frac{(N \cdot D)/100}{(N_0 \cdot D_0)/100}}}$$

Наличие корня квадратного объясняется допущением равномерного распределения макроорганизмов по площади земли.

Статистические данные по количеству макроорганизмов (%) и скорости их передвижения с учётом расчётного времени передачи возбудителя инфекции макроорганизмам (Т) сведены в таблице 1.

Анализ статистических данных с 1800 г по XXI век позволил утверждать, что наблюдается тенденция сокращения время передачи инфекции с 3 мин до 0,00002 мин. Увеличение численности населения и животных, возрастание скорости и количества перевозимых макроорганизмов – основные факторы, повышающие вероятность непрерывного переноса возбудителя инфекции макроорганизмам. Поясним, что мы не претендуем на абсолютность цифровых значений статистических данных, для нас главное, что время передачи инфекции макроорганизмам значительно сократилось.

В качестве модели для оценки влияния на эпизоотический процесс фактора непрерывного пассирования микроорганизмов на макроорганизмах был выбран вирус ящура.

Непрерывное пассирование вируса ящура типов А, О и С на культуре клеток СП в монослое, показало, что в первом пассаже вирус разрушал клетки в монослое за 63,0±3ч., к 100-му пассажу – уже за 5,0±1 ч. Накопление вируса ящура в сыворотке крови при непрерывном пассировании на морских свинках через 24 ч после заражения возрастало с $10^{3+0,5}$ до $10^{5+0,5}$ – 50% инфекционных доз в 1 мл.

Установлена тенденция изменения иммуногенной активности одной и той же серии вакцины у морских свинок, заражённых одинаковой дозой вируса разных пассажей.

Увеличение пассажа вируса, используемого при заражении и соответственно возрастающей его вирулентности, приводило к снижению иммуногенной активности вакцины. На 8-м пассаже иммуногенная активность вакцины составила 55,0±10 ИмД₅₀, на 30-м пассаже – 6,0±2 ИмД₅₀. Известно, что РНК-вирусы, к которым относится вирус ящура, быстро эволюционируют, что связано с вы-

Табл. 1. Расчетные данные скорости и количества передвижающихся макроорганизмов

обозначения	Год			
	1800	1900	2000	2100
N (млрд. макроорг.)	4	10	18	60
D (% перевоз.)	0,01	0,1	1	10
$N \cdot D/100$ – число перевоз.	0,0004	0,01	0,18	6
V – скорость перемещения макроорг. (км/час)	10	50	100	200
T – время передачи возбудителя инфекции (мин)	3	0,048	0,001333	0,00002

сокой скоростью мутаций, коротким репликативным периодом, значительным размером и разнообразием популяций. Основным источником генетического разнообразия РНК-вирусов являются спонтанные мутации, но важную роль в этом играют и процессы, связанные с рекомбинациями. Именно эти механизмы обеспечивают, в целом, сохранность вирусной популяции. У вирусов ящура были обнаружены два типа антигенной изменчивости: антигенный дрейф (мутация) и значительный антигенный сдвиг (рекомбинация). [3]

Проведённые исследования по анализу факторов, влияющих на эпизоотический процесс, позволили обобщить полученные данные и разработать основные направления профилактических противоэпизоотических мероприятий:

- увеличение численности человека и животных, возрастание скорости и количества перевозимых макроорганизмов активизирует непрерывную передачу микроорганизмов макроорганизмам, усиливает вирулентность возбудителя, что сказывается на снижении эффективности профилактических мероприятий (при оценке иммуногенности вакцин необходимо учитывать вирулентность (пассаж) вируса);

- отслеживать вирулентность микроорганизмов (систематический мониторинг биологических свойств изолятов для определения потенциальной способности вызывать инфекционный процесс;

- внедрение в ветеринарную практику молекулярно-генетических методов анализа биологического материала и внешней среды;

- проводить коррекции иммунного статуса животных и птицы и отслеживать основные показатели иммунитета животных и птицы;

- ужесточить санитарные требования к строительству жилых, производственных, животноводческих сооружений, вентиляционного оборудования таким образом, чтобы свести к минимуму контакт и передачу инфекционных агентов на макроорганизмы (предотвратить накопление патогенной вирусной и бактериальной микрофлоры);

- усилить интенсивность исследовательских работ по изучению всех звеньев иммунитета макроорганизма, поиску новейших дополнительных революционных средств и методов на основе генетики и селекции макроорганизмов.

Выявлено, что современные эволюционные процессы, происходящие с микроорганизмами, существенно влияют на взаимодействия с микроорганизмами. Известны сотни опасных патогенных микроорганизмов и повышение их вирулентности требует от ученых и практиков интенсификации усилий с углубленным изучением вопросов связанных с иммунной защитой макроорганизма. На наш взгляд иммунной защитой руководит ДНК макроорганизма. Любой повреждающий фактор (вирус, бактерия, излучение, яды) приводят к патологии структуры ДНК у макроорганизма, результатом, как правило, нарушается принятое равновесие и развивается патология.

Иммунную защиту обеспечивают два механизма: врожденный и адаптивный, которые включают клеточные и гуморальные компоненты. Распознавание множества чужеродных антигенов (10^{18}) происходит благодаря огромному разнообразию в нашем организме образующихся в тимусе клонов Т- лимфоцитов и при помощи генов главного комплекса гистосовместимости классов I и II. Нейтрализацию чужого антигена осуществляют циркулирующие в жидкостях организма антитела (гуморальный иммунитет) и цитоксические лимфоциты (клеточный иммунитет). Основные характеристики иммунного ответа - это умение различать собственные антигены от чужеродных, специфичность и иммунная память. Вне зависимости от формы иммунного ответа его традиционно разделяют на индуктивную и эффективную (продуктивную) фазы. В индуктивную фазу происходит представление антигена, то есть передача информации об антигене от клеток врожденного иммунитета (антиген-презентирующих клеток) инициаторам адаптивного иммунитета Т-хелперам. Затем выбирается путь дальнейшего развития иммунного ответа по клеточному или гумо-

ральному пути – через индукцию дифференцировки разновидностей Т-хелперов (Th 1, Th 2, Th 17 и т.д.). При участии этих Т-хелперов происходит дифференцировка эффективных иммуноцитов и параллельно клеток памяти. Анализ многочисленных публикаций свидетельствует о том, что под воздействием на ДНК клетки мутагенных факторов (химических, физических и биологических) в конечном счете приводит к изменению ее функции, а под воздействием чужого антигена клетки макроорганизма не вырабатывают нужную специфическую продукцию антител и другие важные защитные факторы. Интересен тот факт, что, когда первоначальная экспозиция цирковируса свиней 2 типа (PCV2) не контролируется достаточно мощным материнским иммунитетом, PCV2 подавляет особый тип клеток врожденной иммунной системы, дендритных клеток. PCV2 "усваивается" этими антиген-представляющими клетками. PCV2 может оставаться "непереваренным / необработанным" в этих клетках в течение длительного периода времени. Механизм, позволяющий вирусу избежать уничтожения, пока неизвестен. Но можно догадываться, что скорее всего этот вирус нарушает защитную функцию макроорганизма из-за встройки в его ДНК. На определенном этапе PCV2 нарушает распознавание защитной системой макроорганизма других антигенов микроорганизмов через поверхностные рецепторы, так называемые "Toll Like Receptors" (TLR), но также и секрецию некоторых ключевых цитокинов, таких как $TNF\alpha$ и $INF\alpha$. Дендритные клетки не мигрируют к лимфатическим узлам, где они должны встречаться с "Т-хелперами" клетками.

Вакцины играют ключевую роль в борьбе с вирусными возбудителями многих болезней, как у людей, так и у животных. Для обеспечения качества вакцин они проходят интенсивное тестирование, включая контроль иммуногенности. Нормализация у макроорганизма многих показателей: численности CD3- и CP4-клеток, Т-лимфоцитов и Т-хелперов, фагоцитарной функции перитонеальных макрофагов, фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса, макрофагальной активности – это важнейшие механизмы защиты макроорганизма от инфекции. Возможно, что активирующими стимулами для фагоцитарных клеток явились цитокины и, в частности, интерферон. Поэтому необходимо отслеживать увеличение содержания натуральных киллеров – НК-клеток, важна активность естественных киллеров. Возможно, нужно отслеживать содержание интерферона в крови до физиологической нормы, стимулировать или нормализовать сниженную альфа-интерферон-продуцирующую способность лейкоцитов крови, стимулировать гамма-интерферон-продуцирующую способность лейкоцитов.

Таким образом, увеличение численности населения и животных, возрастание скорости и количества перевозимых макроорганизмов, существенно увеличивает вероятность непрерывной передачи микроорганизмов от одного макроорганизма к другому. Эти факторы повышают вероятность непрерывного пассирования микроорганизмов, и они становятся более вирулентными.

Литературы

1. Кулагина А.Г. Вирулентность, антигенность и иммуногенность вируса ящура, репродуцированного в культурах клеток и в организме животных при промышленном производстве вакцин: Дисс ... кандидата биологических наук. - Щёлково, 2010. - 141 с.:
2. Самуйленко А.Я. Оценка антигенности вируса ящура при промышленном производстве инактивированных вакцин: Автореф. дисс... канд. вет. наук.-М,1978.-14 С.
3. Самуйленко А.Я. Инфекционная патология животных/ Самуйленко А.Я., Сюрин В.Н., Воронин Е.С. // Инфекционная патология животных.- М.: ИКЦ "Академкнига".-2006. - Т.1. - 910с.
4. Самуйленко А.Я., Гринь С.А., Матвеева И.Н., Бондарева Н.А., Мельник Р.Н., Андроник А.Н., Боровой В.Н., Литенкова И.Ю., Синковец С.М., Боро И.Л. /Теория иммунитета и показатели иммуногенеза при ящуре//Вестник российской сельскохозяйственной науки.-2017.-№ 6.-с.47-49
5. Гринь С.А., Синковец С.М., Косовский Г.Ю., Самуйленко А.Я., Матвеева И.Н., Кузнецова С.В., Мутагенез - слабое звено в земной цивилизации человека XXI века//Ветеринария и кормление.- 2012 . - №6. - с.32-34.