

УДК 616-002.5-085.281.221.1:611-018.53:577.7

## АПОПТОЗ ФАГОЦИТУЮЧИХ КЛІТИН ПРИ ВАКЦИНАЦІЇ ТА РЕВАКЦИНАЦІЇ БЦЖ

Льїнська І. Ф., Зубрійчук О. М.

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і  
пульмонології ім. Ф.Г. Яновського Національної  
академії медичних наук України», Київ  
03680 Київ, вул. М. Амосова, 10;  
<http://www.ifp.kiev.ua/>; [immunol@ifp.kive.ua](mailto:immunol@ifp.kive.ua)

Вакцинація БЦЖ в Україні та інших державах пострадянського простору залишається одним з основних заходів специфічної імунoproфілактики туберкульозу (ТБ) [4, 5, 6]. Поствакцинальний протитуберкульозний імунітет є нестерильним: саме присутність БЦЖ в організмі підтримує існування популяцій сенсibiliзованих імунoкомпетентних клітин і здатність макрофагів до клінігу вірулентних мікобактерій туберкульозу (МБТ). Його напруженість залежить від тих механізмів, які беруть участь у формуванні імунної відповіді на БЦЖ, а тривалість забезпечується механізмами, котрі підтримують персистенцію цих мікобактерій в організмі. До останніх належить індукція БЦЖ програмованої смерті (апоптозу) фагоцитуючих клітин, яка призводить до “конверсного упакування мікобактерій у багат шарові мембрани” [2, 3]. Раніше нами було показано, що у хворих на туберкульоз легень інтенсивність апоптозу фагоцитів, індукованого БЦЖ *in vitro*, залежить від бактеріального навантаження цих клітин: зменшення інфікованості нейтрофілів (Нф) та моноцитів (Мц), яке має місце при інфікуванні

малими дозами мікобактерій, призводить до стимуляції процесів програмованої смерті та сприяє формуванню тривалої мікобактеріальної персистенції. Здатність БЦЖ суттєво посилювати апоптоз Нф та Мц/макрофагів (Мф) *in vitro* підтверджується багатьма дослідниками [10, 11], але відомості про зміни інтенсивності програмованої смерті фагоцитів *in vivo* у тварин при їх вакцинації та ревакцинаціях БЦЖ в літературі відсутні.

Тому метою даного дослідження було вивчення особливостей апоптозу фагоцитуючих клітин у тварин, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово. Для її досягнення передбачалося вирішити наступні задачі:

1. Визначити вміст апоптичних Нф у периферичній крові тварин, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово.
2. Вивчити інтенсивність спонтанного апоптозу Нф периферичної крові та перитонеальних Мф у тварин, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово.
3. Вивчити вплив аутосерватки на апоптоз Нф периферичної крові та перитонеальних Мф у тварин, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово.
4. Вивчити індукований нативними та опсонізованими МБТ апоптоз перитонеальних Мф у тварин, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово.

*Матеріали та методи досліджень.*

Дослід за кошти державного бюджету було проведено на 40 мишах лінії BALB/c, яких було розподілено на 4 групи: контрольна (I група) складалася з 10 інтактних тварин; миші II–IV груп (по 10 особин у кожній) були вакциновані БЦЖ відповідно одно-, дво- та триразово з двотижневим інтервалом між щепленнями (рис. 1).

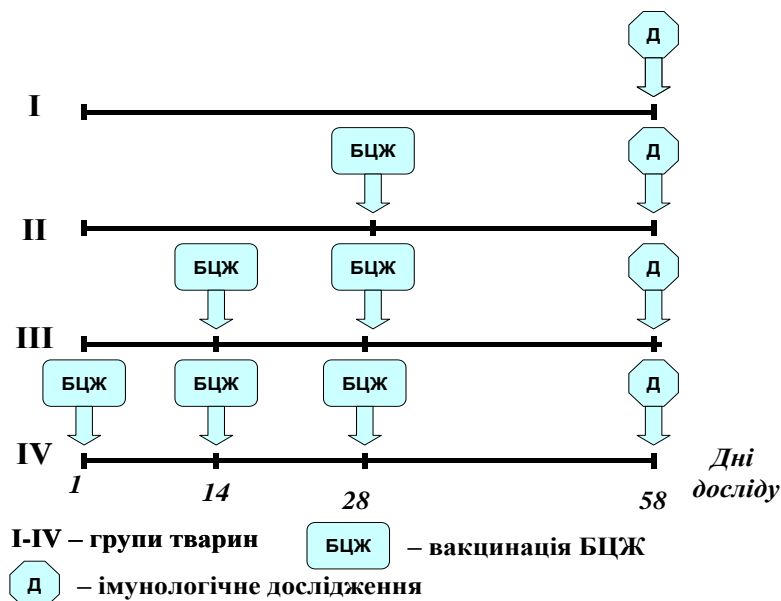


Рис. 1. Схема дослідження з вивчення особливостей апоптозу фагоцитуючих клітин у тварин, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово

Тварин, яких було отримано з віварію ДУ “Національний інститут раку”, утримували в стан-

дартних умовах на стандартному раціоні харчування і брали в дослід після 2-тижневого карантину при відсутності жодних ознак захворювання. Усі маніпуляції з ними проводилися відповідно до Закону України № 3447-IV і Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових та інших цілей.

Вакцинацію здійснювали вакциною БЦЖ (підприємство бактерійних препаратів НДІ епідеміології та мікробіології ім. Н.Ф. Гамалеї, серія 644, контроль 2351), яку вводили внутришньочеревно по 0,2 мг у 0,5 мл фізіологічного розчину. Мишей виводили із досліду шляхом передозування ефірного наркозу на 30 день після останнього введення БЦЖ (див. рис.1).

Кров забирали при декапітації тварин: для подальшого виділення сироватки у сухі стерильні пробірки та у стерильні пробірки з 10 од. гепарину – для постановки клітинних реакцій. Для отримання

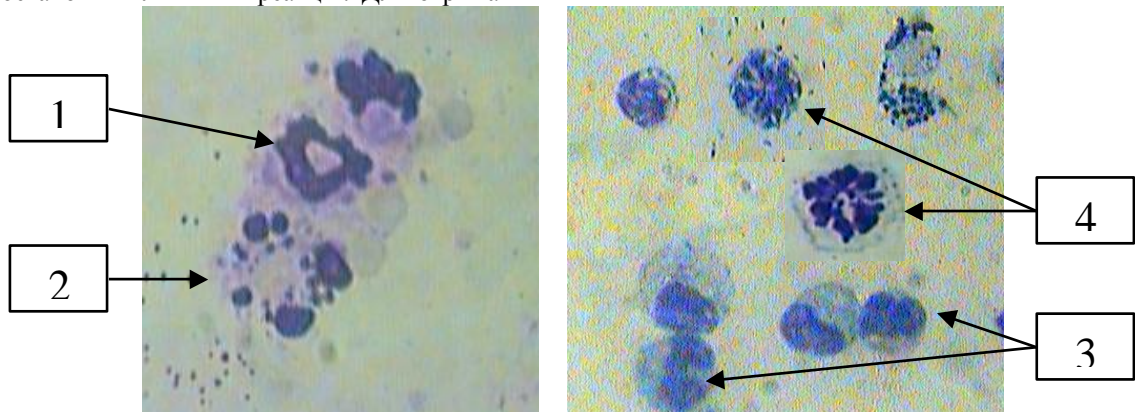


Рис. 2. Апоптоз нейтрофілоцитів периферичної крові та макрофагів перитонеального екссудату мишей: *де 1 – нейтрофілоцит, 2 – апоптичний нейтрофілоцит, 3 – макрофаг, 4 – апоптичний макрофаг*

Інтенсивність спонтанного апоптозу Нф та Мф оцінювали у моношарі їх адгерентних популяцій у лунках предметних скелець з обмежувальними кільцями (що дозволяє проводити їх центрифугування [7]). Отримані препарати висушували, фіксували, фарбували та піддавали мікроскопії, під час якої підраховували відсоток апоптичних фагоцитів (рис. 2).

Для оцінки впливу аутосіроватки на апоптоз Мф їх інкубацію здійснювали в присутності 20 % аутосіроватки, а отриманий результат порівнювали з показником інтенсивності спонтанного апоптозу, розраховуючи відповідно показник стимуляції чи інгібіції (Пс/і) за формулою:

$$Пс / i = \frac{A_{ac} - A_{cn}}{A_{cn}} \times 100\% ; \text{де:}$$

$A_{ac}$  – інтенсивність апоптозу клітин після їх інкубації з аутосіроваткою;

$A_{cn}$  – інтенсивність спонтанного апоптозу.

Визначення інтенсивності апоптозу Мф, індукованого МБТ, здійснювали також за власним

перитонеального екссудату в черевну порожнину тварини вводили по 5 мл поживного середовища з 10 од/мл гепарину та після масажу черева відбирали клітинну суспензію.

Визначали вміст лейкоцитів у крові та перитонеальному екссудаті шляхом їх підраховування у камері Горяєва після 10–15 хвилинної експозиції 20 мкл крові/перитонеального екссудату у 0,8 мл 0,87 % розчину хлориду амонію. Вміст апоптичних Нф у крові визначали за методикою А.Н. Маянського та співавт. [1] у власній модифікації. Вона полягала у використанні чистої популяції клітин та отриманні з неї цитоспинових препаратів, після чого їх фіксували метанолом, фарбували барвником Романовського-Гімза, сафраніном чи діамантовим зеленим за стандартною технікою і на світловому мікроскопі під масляною імерсією підраховували відсоток клітин, які мали апоптичну морфологію.

способом [9]. Він полягав у паралельному підраховуванні відсотку апоптичних Мф та їх бактеріального навантаження після інкубації моношару цих клітин із суспензією нативних БЦЖ та БЦЖ, опсонізованих свіжою та декомплементаваною аутосіроваткою, і подальшим розрахунком показника індукції МБТ апоптозу (ІА) за формулою:

$$IA = \frac{BA}{BH} \times 100\% ; \text{де:}$$

ВА – відсоток фагоцитів з апоптичною морфологією;

БН – бактеріальне навантаження

Зберігання даних та їх статистичну обробку здійснювали на ПК Intel® Celer за допомогою ліцензійних програмних продуктів, що входили до пакету Microsoft Office Professional 2000, ліцензія Russian Academic OPEN No Level № 17016297: після підтвердження нормальності розподілу показників використувалися параметричні методи варіаційної статистики з визначенням середніх арифметичних значень (M) та їх помилок (m), достовірність різниці між ними підтверджувалася за критеріями Стьюдента (t) – за мінімальний поріг обрано 95 % достовірність (значення  $p < 0,05$ ) [8].

*Результати та їх обговорення*

Аналіз отриманих даних показав, що після 1-разового введення БЦЖ відносний вміст Нф з апоптичною морфологією збільшувався майже втричі, а абсолютний – у 8 разів (табл. 1). Це відбувалося на фоні збільшення втричі вмісту Нф у периферичній крові (табл. 2). В той же час інтенсивність спонтанного апоптозу цих клітин залишалася на контрольному рівні (див. табл. 1). У мишей, вакцинованих дворазово, відносний і абсолютний вміст апоптичних Нф продовжував зростати, що відбувалося на

фоні подальшого збільшення виразності нейтрофілюозу і супроводжувалося посиленням спонтанного апоптозу цих фагоцитів (див. табл. 1, 2). В той же час у групі тварин, які БЦЖ отримали 3-разово, попри збільшення відносного вмісту апоптичних Нф та інтенсивності їх спонтанного апоптозу, абсолютний вміст цих клітин у крові не відрізнявся від цього показника групи мишей, вакцинованих одноразово (див. табл. 1).

**Таблиця 1 – Апоптоз нейтрофілів мишей BALB/c, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово**

Групи тварин (n = 10)		Показники (M ± m)		
		Вміст апоптичних клітин		Спонтаний апоптоз (%)
№	характеристика	%	абс. (10 <sup>9</sup> /л)	
I	інтактні	6,1 ± 0,7	0,07 ± 0,01	17,6 ± 0,6
II	щеплені БЦЖ: - одноразово	17,3 ± 1,3*	0,57 ± 0,12*	18,6 ± 1,0
III	- дворазово	21,6 ± 0,7*°	0,95 ± 0,15*°	46,5 ± 2,3*°
IV	- триразово	31,0 ± 0,8*°♦	0,61 ± 0,06*♦	64,2 ± 1,8*°♦

Примітки. \* - різницю показника в порівнянні з показником інтактних тварин статистично підтверджено (p < 0,05).° - різницю показника в порівнянні з показником тварин, щеплених БЦЖ одноразово, статистично підтверджено (p < 0,05).♦ - різницю показника в порівнянні з показником тварин, щеплених БЦЖ дворазово, статистично підтверджено (p < 0,05).

**Таблиця 2 – Показники лейкограми периферичної крові та перитонеального ексудату мишей BALB/c, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово**

Показники (M ± m)	Групи тварин (n = 10)			
	Інтактні (I група)	щеплені БЦЖ:		
		одноразово (II група)	дворазово (III група)	триразово (IV група)
<i>Периферична кров:</i>				
Вміст лейкоцитів (10 <sup>9</sup> /л)	7,1 ± 0,2	24,1 ± 2,2*	36,4 ± 1,6*°	22,9 ± 2,2*♦
Вміст нейтрофілів (%)	14,8 ± 1,9	16,1 ± 2,1	12,0 ± 1,7	8,9 ± 1,0*
(10 <sup>9</sup> /л)	1,04 ± 0,13	3,23 ± 0,53*	4,39 ± 0,73*	1,98 ± 0,21*°♦
Вміст моноцитів (%)	14,3 ± 1,3	12,3 ± 1,3	6,8 ± 1,0*°	6,3 ± 0,7*°
(10 <sup>9</sup> /л)	1,02 ± 0,11	2,98 ± 0,55*	2,50 ± 0,45*	1,40 ± 0,15*°♦
Вміст лімфоцитів (%)	72,4 ± 2,5	71,4 ± 2,9*	82,1 ± 1,1*°	85,3 ± 1,4*°
(10 <sup>9</sup> /л)	5,13 ± 0,22	17,26 ± 1,80*	29,83 ± 1,35*°	19,54 ± 2,04*♦
<i>Перитонеальний ексудат:</i>				
Вміст лейкоцитів (10 <sup>9</sup> /л)	0,46 ± 0,02	9,29 ± 0,80*	10,79 ± 0,92*	10,39 ± 0,59*
Вміст нейтрофілів (%)	6,8 ± 0,4	1,1 ± 0,4*	2,6 ± 0,5*°	3,1 ± 0,4*°
(10 <sup>9</sup> /л)	0,031 ± 0,03	0,100 ± 0,028*	0,264 ± 0,043*°	0,325 ± 0,045*°
Вміст макрофагів (%)	44,0 ± 0,6	78,1 ± 3,8*	61,2 ± 4,2*°	59,9 ± 2,8*°
(10 <sup>9</sup> /л)	0,20 ± 0,01	7,27 ± 0,87*	6,06 ± 0,58*	6,22 ± 0,45*

Вміст лімфоцитів (%) (10 <sup>9</sup> /л)	36,9 ± 1,0 0,17 ± 0,01	35,6 ± 1,7 3,25 ± 0,38*	36,3 ± 3,4 3,67 ± 0,20*	35,8 ± 3,2 3,69 ± 0,33*
--	---------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------

Примітки. \* - різницю показника в порівнянні з показником інтактних тварин статистично підтверджено (p < 0,05). ° - різницю показника в порівнянні з показником тварин, щеплених БЦЖ одноразово, статистично підтверджено (p < 0,05). ♦ - різницю показника в порівнянні з показником тварин, щеплених БЦЖ дворазово, статистично підтверджено (p < 0,05).

У тварин третьої групи мала місце відносна нейтропенія, абсолютна чисельність Нф знижувалася у 1,8–2,1 рази в порівнянні з іншими групами вакцинованих мишей, але вона залишалася вищою за контрольну (див. табл. 2).

Не виявлено змін спонтанного апоптозу перитонеальних Мф у тварин після їх вакцинації БЦЖ. В той же час спостерігалася посилення майже вдвічі апоптогенної дії на ці клітини аутосерватки (табл. 3). Це відбувалося на фоні суттєвого зростання вмісту Мф у перитонеальному ексудаті (див. табл. 2). Дворазове введення БЦЖ призводило до інтенсифі-

кації спонтанного апоптозу перитонеальних Мф і виразного зростання апоптогенних властивостей аутосерватки, що супроводжувалося зниженням їх відносного вмісту (див. табл. 2, 3). При 3-разовому введенні вакцини інтенсивність спонтанного апоптозу Мф була нижчою за контрольну, але апоптогенний вплив на них аутосерватки залишався високим, хоча інтенсивність апоптозу Мф у присутності аутосерватки знижувалася. Чисельність Мф у перитонеальному ексудаті тварин цієї групи залишалася високою (див. табл. 2).

**Таблиця 3 – Спонтанний апоптоз макрофагів мишей BALB/c, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово, та вплив на нього аутосерватки**

Групи тварин (n = 10)		Показники (M ± m)		
		Спонтанний апоптоз (%)	Апоптоз з аутосерваткою (%)	Індекс дії аутосерватки (%)
№	характеристика			
I	інтактні	20,8 ± 0,3	24,0 ± 0,6	15,7 ± 2,6
щеплені БЦЖ:				
II	- одноразово	17,0 ± 2,1	20,9 ± 2,0	37,8 ± 6,7*
III	- дворазово	27,8 ± 1,4*°	39,8 ± 2,1*°	46,1 ± 9,8*
IV	- триразово	18,3 ± 0,2*♦	27,3 ± 0,4*♦	50,4 ± 2,3*

Примітки.

- \* - різницю показника в порівнянні з показником інтактних тварин статистично підтверджено (p < 0,05).
- ° - різницю показника в порівнянні з показником тварин, щеплених БЦЖ одноразово, статистично підтверджено (p < 0,05).
- ♦ - різницю показника в порівнянні з показником тварин, щеплених БЦЖ дворазово, статистично підтверджено (p < 0,05).

Бактеріальне навантаження Мф при їх інкубації з нативними БЦЖ у мишей, вакцинованих одноразово, збільшилося на 63,7 %, при двократній вакцинації – у 2,5 рази, після 3-разового введення вакцини – майже вчетверо (табл. 4). У той же час посилення апоптозу у присутності нативних БЦЖ було зафіксоване лише в групах ревакцинованих тварин. Через це при одноразовій вакцинації показник індукції апоптозу Мф нативними БЦЖ виявився вдвічі меншим за контрольний, після дворазової вакцинації він сягав

контрольного рівня, а при триразовому введенні вакцини знов знижувався (див. табл. 4).

Бактеріальне навантаження Мф опсонізованими БЦЖ у вакцинованих та ревакцинованих тварин теж зростало: як за рахунок посилення поглинання БЦЖ, опсонізованих антибіодами (котре було максимальним при триразовій вакцинації), так і за рахунок посилення поглинання Мф БЦЖ, опсонізованих комплементом (котре при триразовій вакцинації виявилася вдвічі меншим у порівнянні з іншими групами вакцинованих тварин).

**Таблиця 4 – Індукований нативними та опсонізованими БЦЖ апоптоз макрофагів мишей BALB/c, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово**

Показники (M ± m)	Групи тварин (n = 8)			
	Інтактні ( I група )	щеплені БЦЖ:		
		одноразово (II група)	дворазово (III група)	триразово (IV група)
<i>Бактеріальне навантаження БЦЖ макрофагів:</i>				
– нативними	17,9 ± 0,7	29,3 ± 2,1*	44,5 ± 1,6*°	67,9 ± 4,1*°♦
– опсонізованими ауто-сироваткою	22,8 ± 0,4	43,6 ± 2,8*	41,5 ± 2,3*	57,0 ± 2,2*°♦
– опсонізованими антитілами	19,6 ± 0,4	30,0 ± 1,2*	27,6 ± 2,0*	50,1 ± 0,3*°♦
– опсонізованими комплементом	3,1 ± 0,4	13,6 ± 2,9*	13,9 ± 3,5*	6,9 ± 1,4*°♦
<i>Апоптоз макрофагів у присутності БЦЖ:</i>				
– нативних	18,9 ± 0,6	21,0 ± 1,0	50,9 ± 1,2*°	45,9 ± 2,3*°
– опсонізованих ауто-сироваткою	21,6 ± 0,3	26,1 ± 1,0*	28,3 ± 1,3*	43,9 ± 0,9*°♦
– опсонізованих антитілами	17,6 ± 0,6	15,3 ± 1,0	21,1 ± 0,7°	32,6 ± 0,3*°♦
– опсонізованих комплементом	4,0 ± 0,4	10,9 ± 0,9*	7,1 ± 1,3*°	11,3 ± 1,3*♦
<i>Показник індукції апоптозу макрофагів БЦЖ:</i>				
– нативними	107,0 ± 6,7	47,2 ± 6,5*	115,5 ± 5,7°	68,9 ± 5,2*°♦
– опсонізованими ауто-сироваткою	95,3 ± 2,6	57,1 ± 10,9*	68,8 ± 3,6*	77,5 ± 2,7*
– опсонізованими антитілами	89,9 ± 2,8	44,8 ± 7,5*	79,1 ± 7,0°	65,4 ± 3,3*°
– опсонізованими комплементом	153,1 ± 27,3	79,9 ± 17,0*	67,2 ± 17,2*	164,3 ± 24,1°♦

Примітки.

- \* – різницю показника в порівнянні з показником інтактних тварин статистично підтверджено (p < 0,05).
- ° – різницю показника в порівнянні з показником тварин, щеплених БЦЖ одноразово, статистично підтверджено (p < 0,05).
- ♦ – різницю показника в порівнянні з показником тварин, щеплених БЦЖ дворазово, статистично підтверджено (p < 0,05).

В усіх групах після введення вакцини спостерігалось посилення апоптозу Мф у присутності опсонізованих БЦЖ: на 20,8 % після одноразової імунізації, на 31,0 % – після дворазової та у 2,1 рази – після триразової (див. табл. 4). Проте це посилення було менш виразним, ніж збільшення бактеріального навантаження. Тому в усіх групах вакцинованих тварин показники індукції апоптозу Мф БЦЖ, опсонізованими свіжою ауто-сироваткою, були меншими від контрольного. Причому, при одноразовій вакцинації це відбувалося за рахунок послаблення індукції апоптозу БЦЖ, опсонізованими як антитілами, так і комплементом; у тварин, імунізованих дворазово, зменшувалася лише індукція апоптозу БЦЖ, опсонізованими комплементом; у мишей, імунізова-

них триразово – індукція апоптозу БЦЖ, опсонізованими антитілами (див. табл. 4). Отримані дані свідчать про існування механізмів, які стримують надмірний апоптоз фагоцитуючих клітин при ревакцинаціях БЦЖ і запобігають розвитку вторинної фагоцитарної недостатності.

Отже, одноразове введення БЦЖ мишам Balb/c призводить до помірного збільшення вмісту апоптичних нейтрофілоцитів у крові на фоні виразного нейтрофілозу, зростанню кількості макрофагів у перитонеальному ексудаті, посиленню апоптогенної дії на них ауто-сироватки, збільшення бактеріального навантаження макрофагів нативними та опсонізованими мікобактеріями і зниженню індукції ними апоптозу цих клітин. Збільшення кратності введення вакцини призводить до активації апоптозу

нейтрофілоцитів, подальшому посиленню бактеріального навантаження макрофагів нативними та опсонізованими мікобактеріями й апоптозу цих клітин, індукованого нативними БЦЖ та БЦЖ, опсонізованими антитілами та комплементом.

### Висновки

При збільшенні кратності введення БЦЖ відбувається посилення процесів програмованої смерті фагоцитів, яке не призводить до зменшення їх чисельності, забезпечує більш виразне бактеріальне навантаження і таким чином має адаптаційний характер, сприяє формуванню тривалої персистенції мікобактерій та підтриманню протитуберкульозного поствакцинального імунітету.

### Список літератури

1. Апоптоз нейтрофилов / *А.Н. Маянский, Н.А. Маянский, М.И. Заславская [и др.]* // Иммунология. – 1999. – № 6. – С. 11–18.
2. Апоптоз нейтрофілоцитів та його роль в патогенезі запальних процесів в легенях туберкульозного та неспецифічного генезу / *І.Ф. Ільїнська І.О. М. Рекалова, Л. В. Ареф'єва [та ін.]* // Укр. пульмон. журнал. – 2007. – № 2. – С. 32–38.
3. *Белкин А.Д.* Ультраструктурные особенности взаимодействия микобактерий с фагоцитами / *А.Д. Белкин, Г.М. Вакулин* // Туберкулез и экология. – 1997. – № 2. – С. 43–45.
4. *Білогорцева О.І.* Імунопрофілактика туберкульозу у дітей: проблеми і преспективи / *О.І. Білогорцева* // Український пульмонолог. журн. – 2008. – № 3, додаток. – С. 29–30.
5. Вакцина БЦЖ. Документ по позиції ВОЗ [Електронний ресурс] / ВОЗ : – Режим доступа: <http://www.who.int/wer>.
6. *Девятков М.Ю.* Эпидемиологическая эффективность профилактических прививок при туберкулезе [Электронный ресурс] / *М.Ю. Девятков, И.В.Фельдблюм* : – Режим доступа: <http://www.rusmedserv.com/epidinf/ep-eff.htm>
7. *Ільїнська І.Ф.* Універсальні мікрокамери на предметних скельцях для інкубації клітин / *І.Ф. Ільїнська* // Лаб. діагностика. – 2008. – № 1 (43). – С. 39–41.
8. *Лапач С.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / *С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич* – Киев: “Морион”, 2000. – 320 с.
9. Пат. 22735 Україна, МПК G01N 33/53 (2006), G01N 33/554(2006). Спосіб визначення індукованого мікобактеріями туберкульозу апоптозу фагоцитів *in vitro* / *Ільїнська І.Ф., Матвієнко Ю.О., Гриценко О. В.*; заявник та патентовласник Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України. – № у 2006 13456; заявл. 19.12.2006 ; опубл. 25.04.2007, Бюл. № 5.
10. *Пичугин А.В.* Апоптоз клеток иммунной системы при туберкулезной инфекции / *А.В. Пичугин,*

*А.С. Апт* // Пробл. туберкулеза и заболеваний легких. – 2005. – № 12. – С. 3–7.

11. *Lee J.* Macrophage Apoptosis in Tuberculosis / *J. Lee, M. Hartman, H. Kornfeld* // *Yonsei Med. J.* – 2009. – Vol. 50, № 1. – P. 1–11.

### УДК 616-002.5-085.281.221.1:611-018.53:577.7 АПОПТОЗ ФАГОЦИТУЮЧИХ КЛІТИН ПРИ ВАКЦИНАЦІЇ ТА РЕВАКЦИНАЦІЇ БЦЖ

**Ільїнська І. Ф., Зубрійчук О. М.**

Було проведено вивчення особливостей апоптозу фагоцитуючих клітин на 40 мишах лінії Balb/c, вакцинованих БЦЖ одно-, дво- та триразово. На 30-й день після останнього введення вакцини визначали вміст апоптичних нейтрофілів у периферичній крові, інтенсивність спонтанного апоптозу нейтрофілів крові та перитонеальних макрофагів, вплив аутосироватки на апоптоз нейтрофілів крові та перитонеальних макрофагів, бактеріальне навантаження макрофагів нативними та опсонізованими мікобактеріями та апоптоз макрофагів, індукований нативними та опсонізованими мікобактеріями. Встановлено, що збільшення кратності вакцинації БЦЖ зумовлювало більш виразне бактеріальне навантаження фагоцитів та посилення їх програмованої смерті, що не призводило до зменшення чисельності цих клітин, сприяло формуванню тривалої персистенції мікобактерій і підтриманню протитуберкульозного поствакцинального імунітету.

### УДК 616-002.5-085.281.221.1:611-018.53:577. АПОПТОЗ ФАГОЦИТИРЮЩИХ КЛЕТОК ПРИ ВАКЦИНАЦИИ И РЕВАКЦИНАЦИИ БЦЖ

**Ильинская И. Ф., Зубрийчук О. Н.**

Было проведено изучение особенностей апоптоза фагоцитирующих клеток на 40 мышях линии Balb/c, вакцинированных БЦЖ одно-, дву- и трехкратно. На 30-й день после последнего введения вакцины определяли содержание апоптичных нейтрофилов в периферической крови, интенсивность спонтанного апоптоза нейтрофилов крови и перитонеальных макрофагов, влияние аутосироватки на апоптоз нейтрофилов крови и перитонеальных макрофагов, бактериальную нагрузку макрофагов нативными и опсонизированными микобактериями и апоптоз макрофагов, индуцированный нативными и опсонизированными микобактериями. Установлено, что увеличение кратности вакцинации БЦЖ обусловило более выраженную бактериальную нагрузку фагоцитов и усиление их программированной смерти, что не приводило к уменьшению численности этих клеток, способствовало формированию длительной персистенции микобактерий и поддержанию протитуберкулезного поствакцинального иммунитета.

### UDC 616-002.5-085.281.221.1:611-018.53:577. APOPTOSIS OF PHAGOCYTE CELLS IN BCG VACCINATION AND REVACCINATIONS

**I.F. Ilyinskaya, O.M. Zubriyчук**

The special apoptosis features of phagocytic cells were studied in 40 Balb/c line mouse, who were BCG-vaccinated for one-, binary- and three times. On the 30th day after the last dose of vaccine the content of apoptic neutrophils in the peripheral blood was determined, the intensity of spontaneous apoptosis of blood neutrophils and peritoneal macrophages, the effect of autologic serum on apoptosis of blood neutrophils and peritoneal macrophages, the bacterial load of macrophages by native and opsonized mycobacteria and apoptosis of macrophages induced by native and opsonized mycobacteria were detected. It was found that increase of the BCG-vaccination multiplicity caused a more severe bacterial load of phagocytes and intencification of their programmed cell death that did not lead to a decrease of these cells number, promoted the formation of long-term mycobacterial persistence and the maintenance of post-vaccination immunity.