

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 615.099.97.612.017.616.94-022.7

ОСОБЛИВОСТІ ГУМОРАЛЬНОЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ У ДОНОРІВ, ВАКЦИНОВАНИХ СТАФІЛОКОКОВИМ АНАТОКСИНОМ

М.М.Каплін, проф.; Л.М.Міронцева, лікар; П.Л.Горох, студ.*

*(*Обласна клінічна лікарня, м. Суми)*

ВСТУП

Вивчення за різними параметрами імунної відповіді на бактеріальні та вірусні антигени у людей є однією з найважливіших проблем сучасної імунології. Відомо, що на один і той же антиген різні особи дають індивідуальну (за рівнем та тривалістю) імунну відповідь [1]. В зв'язку з цим положенням класичної імунології актуальною є проблема вивчення чинників та умов, які впливають на гуморальну та клітинну імунну відповідь на антиген, який проникає чи вводиться в організм людини. Ця проблема має практичне значення для отримання імунологічних препаратів цілеспрямованої специфічної дії, які використовуються для профілактики та лікування багатьох інфекційних захворювань, зокрема, стафілококової інфекції з важким перебігом. Відомо, що одним із найбільш ефективних засобів пасивної імунізації та терапії захворювань стафілококової етіології є гіперімунна антистафілококова плазма і стафілококовий імуноглобулін, які отримують від донорів шляхом гіперімунізації стафілококовим анатоксином. Проводячи аналіз досить малочисленних даних літератури, що стосуються проблеми вивчення гуморальної відповіді на імунізацію донорів стафілококовим анатоксином, ми зіткнулися з великими розбіжностями та протиріччями в результатах дослідження різних авторів. Метою нашого дослідження було вивчення рівня та динаміки гуморального імунітету у донорів крові після імунізації їх стафілококовим анатоксином, виявлення динаміки титрів анитоксину залежно від групи крові системи АВО, віку та визначення найбільш оптимальних термінів взяття крові для виготовлення специфічних імунних препаратів. Таким чином, йшов пошук найбільш вірогідних причин різноманітного рівня гуморальної відповіді на один і той же антиген у різних донорів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Нами проведено вивчення продукції анитоксинів у 149 донорів крові. Вони були імунізовані стафілококовим анатоксином при Сумській обласній станції переливання крові (гол. лікар - В.О.Любчак) протягом 1996-1998 років. У своїй роботі ми керувались нормативними документами [2,3]. Згідно з цими документами імунізація донорів проводилась трикратно, підшкірно, з інтервалом у 7 днів. При першій та другій імунізації вводилось по 1,0 мл, а при третій - 2,0 мл адсорбованого стафілококового анитоксину. Нашу дослідну групу донорів склали чоловіки віком від 20 до 45 років без будь-яких клінічних ознак захворювань. Для імунізації ми використовували

адсорбований стафілококовий анатоксин виробництва Пермського науково-дослідного інституту вакцин та сироваток. Контроль сироватки донорів, що були імунізовані стафілококовим анатоксином, на наявність в ній антистафілококових - антитоксичних антитіл проводили за допомогою реакції нейтралізації гемолітичної дії альфа-токсину на еритроцити кролика (за методикою [4]), титр антитоксину визначали в міжнародних одиницях. Визначення титру альфа-антистафілотоксину проводилось в динаміці через 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150, 180 днів від кінця імунізації, тобто спостереження велось протягом 6 місяців. Отримані дані були проаналізовані за допомогою математичного пакету - комп'ютерної програми для обробки електронних таблиць Excel 7.0 for Windows'95.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В обстежених 149 донорів, що були імунізовані, титри стафілококового антитоксину в сироватці крові коливалися від 1 до 10 МО/л.

Залежно від рівня титру антитоксину всі донори були розділені на 4 групи.

1-ша група - донори з максимальною відповіддю. До неї віднесено імунізованих донорів з титром 10-8 МО/л (максимальні респондери).

2-га група - донори з високою гуморальною відповіддю. Максимальний рівень титру антистафілотоксину у них знаходився на рівні 7-6 МО/л (сильні респондери).

3-тя група - донори із середньою гуморальною відповіддю (середні респондери) - максимальний рівень титру антистафілотоксину коливався в інтервалі 5-4 МО/л.

4-та група - донори з низькою гуморальною відповіддю (слабкі респондери). Максимальний рівень титру антистафілотоксину у них складав до 4 МО/л.

Таким чином, найбільш численною виявилась перша група (максимальні респондери) - 72 донори, що становить 48% від загальної кількості донорів.

На другому місці за кількістю - третя група, 36 донорів (24%) - донори з середньою гуморальною відповіддю.

Третє місце зайняли донори з високою гуморальною відповіддю (друга група) - 25 донорів (17%).

Найменш численною виявилась четверта група - слабкі респондери, 16 донорів (11%).

В.В.Смирнов, А.Є.Вершигора (1998 р.) вивчали імунову відповідь у донорів, яким для імунізації був введений також адсорбований стафілококовий анатоксин. Залежно від рівня титру антитоксину автори розподілили донорів на 4 групи.

Перша група (2-4 МО/л) - 25%.

Друга група (5-9 МО/л) - 40%.

Третя група (10 МО/л) - 15%.

Четверта група - 20%, особи, що були рефрактерні до введення антигену і відповіли підвищенням титру.

Як бачимо, максимальне виявлення титрів антистафілотоксину через 7 днів спостерігається лише в IV групі. У решті груп (I, II, III) максимальний титр визначається через 30 днів. Після 3-4 місяців відбувається поступове зниження титру у всіх групах, але найбільш активне воно в IV групі, де титр, починаючи з 4 місяця, стає мінімальним і повністю зникає. В I групі високий титр зберігається значно довше і навіть через 4-5 місяців складає 4-5 МО/л. III група характеризувалась поступовим, більш пологим підвищенням титру до максимального рівня та більш пролонгованим зниженням рівня

титру. Максимальні титри (3-4 МО/л) в цій групі зберігаються до 3 місяців. Результати визначення середніх титрів в зазначених групах у різні терміни після імунізації наведені в таблиці 1.

Таблиця 1- Середній титр антитоксину після вакцинації донорів у загальній групі за 6 місяців

Визначення терміну антистафілотоксину	Дні	Середній титр (М)	Дисперсія (m)	N
До вакцинації	0	0,89	0,00	149
1-й тижд.	7	5,77	2,86	147
2-й тижд.	14	6,18	2,83	149
1-й міс	30	6,37	2,81	149
2-й міс	60	5,37	2,78	149
3-й міс	90	4,43	2,70	137
4-й міс	120	3,36	2,78	129
5-й міс	150	2,68	2,65	126
6-й міс	180	2,11	2,43	123

Поєднавши дані досліджень, що були виявлені в кожній групі, і визначивши середній титр для кожного терміну з урахуванням дисперсії, нами отримані узагальнені дані (табл.1). Згідно з цими результатами середній титр антистафілотоксину протягом 180 днів спостереження у всіх групах донорів був найбільш високим через 7, 14 днів і тримався на рівні 5-6 МО/л протягом 30-60 днів після імунізації, що відповідає даним літератури [2,5-8]. У подальшому настає поступове зниження титру антитоксину, і через 180 днів середній титр дорівнював 2 МО/л. Таким чином, найбільш доцільні терміни для отримання імунної стафілококової плазми та стафілококового антитоксину визначаються через 7-60 днів після закінчення імунізації донорів. Одним із завдань нашого дослідження було вивчення взаємозв'язку гуморально-імунної відповіді залежно від групової приналежності за системою АВО (таблиця 2). О (I) Перша група крові визначена у 43 донорів, що становило 29%, відповідно друга група крові А (II) - у 59 донорів (40%), третя група крові В (III) складалася із 33 донорів (22%) і IV-із 14 донорів (9%). Це приблизно відповідає популяційному розповсюдженню АВО фенотипів. Згідно з даними літератури [9] група О (I) зустрічається у 30%, А (II) - 40,8%; В (III) - 19,5%; АВ (IV)-у 8,85% населення. Було визначено середній титр антистафілотоксину в кожній групі АВО протягом 6 місяців. Результати досліджень наведені в таблиці 2.

Як видно, динаміка розподілення середнього титру антитоксину залежно від групи крові дозволяє виявити додаткові особливості імунної відповіді на стафілококовий анатоксин на етапах імунізації. Так, імунна реакція на введення стафілококового анатоксину в I і II групі суттєво не відрізняється. На 7-й день титр антистафілотоксину становив відповідно 5,07 - 5,98 МО/л, досягав максимуму через 30 днів (6,16 - 6,10 МО/л); зменшувався до 2,40 - 1,63 МО/л на 180-й день. В IV групі на 7-й день титр антитоксину 6,0 МО/л, досягав максимуму на 30-й день - 6,21 МО/л і потім знижувався до 2,0 МО/л на 180-й день. Найбільш цікавими виявилися дані по III групі (В (III)). В ній ми спостерігали найбільш інтенсивну реакцію на введення анатоксину на 7-й день - 6,61 МО/л. Середній титр антитоксину також був найвищим протягом усього періоду спостереження і становив через 14 днів 7,18 МО/л, через 30 днів - 7,18 МО/л, через 60 днів - 6,18 МО/л, на 90-й день - 5,10

МО/л, на 120-й день - 4,13 МО/л, на 150-й день - 3,21 МО/л і 2,83 МО/л - на 180-й день. А.М.Корепанов, І.В.Соколова [8] в своїх дослідженнях не виявили суттєвої різниці рівня імуноглобулінів і титру антистафілотоксину залежно від групи крові. Ми в своїй роботі виявили досить чітку тенденцію в темпах зростання титрів, їх рівня та збереження в часі залежно від групової приналежності респондерів.

Таблиця 2 - Імунна відповідь на стафілококовий анатоксин у донорів різних груп крові (ABO)

Дні	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4
0	0,00	0,00	0,00	0,00
7	5,07	5,74	6,61	6,00
14	5,74	5,98	7,18	6,00
30	6,16	6,10	7,18	6,21
60	5,49	4,97	6,18	4,79
90	4,40	4,33	5,10	3,25
120	3,43	3,18	4,13	2,00
150	2,95	2,48	3,21	1,42
180	2,46	1,63	2,83	1,00
Кількість, n	43	59	33	14
Середній максим. титр	6,67	6,88	7,70	6,71

Аналізуючи таблицю 2, що ілюструє розподілення середнього титру антистафілотоксину залежно від групи крові АВО, ми бачимо, що в донорів I та II груп імунна відповідь на стафілококовий антиген запізнюється в перші 7 днів, але потім досягає високого рівня титрів і зрівнюється з аналогічними в інших групах. Це співзвучно з результатами, що отримали В.В.Смирнов та А.Є.Вершигора [9]. Ці автори також відмічали запізнення імунної відповіді на стафілококовий антиген у донорів з групою крові А (II). Даний феномен пояснюється наявністю спільних антигенних детермінантів у групоспецифічному антигені "А" і стафілококовому антигені, в результаті чого останній не розпізнається імунокомпетентними клітинами як "чуже". Факт антигенної схожості стафілокока і групоспецифічного фактору "А" є доведеним [9] і виявляється у відношенні А1 антигена еритроцитів, що зустрічається в популяції з частотою 88%. У цілому група крові А (II) переважає серед українського і європейського населення. Виконавши розрахунки кількості людей, неадекватно реагуючих на антиген стафілокока, і екстраполюючи ці цифри на популяційний рівень, можна зробити висновок про значне представництво в популяції осіб із зменшеною імунною відповіддю на анатоксин. Можливо, це одна із причин широкого розповсюдження гнійно-запальних процесів стафілококової природи [9]. В третій групі (В(III)) відповідь на введення анатоксину найбільш сильна, стійка, довго утримується на високих титрах. Зазначені вище автори [9] такої тенденції не виявили - більше того, вони стверджують, що в їх дослідженнях у донорів з III групою крові не виявлено максимальних респондерів і титри вище 8-9 МО/л не отримані. Оскільки в літературі питання щодо впливу віку донорів на імунну відповідь майже не висвітлювалось, ми вважали доцільним провести таке дослідження. У зв'язку з тим, що донорами можуть бути люди віком від 20 до 45 років, ми розділили їх на дві групи. Це пов'язано з тим, що під час аналізу найбільш

суттєва різниця в імунній відповіді виявлена між двома віковими групами: перша - від 20 до 28 років; друга - від 29 до 45 років. Середній титр антитоксину протягом 6 місяців достовірно не відрізнявся в обох вікових групах і склав 7 МО/л і 6,93 МО/л. У той же час динаміка середніх титрів протягом 6 місяців різна. У більш молодій віковій групі титр швидше зростає і через 7 днів складає 6,05 МО/л, тоді як у II віковій групі він становив лише 5,66 МО/л. У першій групі відразу ж з 14-го дня з'являлась тенденція до зниження титру, в той час як у другій віковій групі титри зростали до 30 днів і становили максимум через 30 днів. У першій віковій групі (до 28 років) титри різко зростають і досить швидко починають спадати. В другій - титри поступово зростають, тримаються на більш високих рівнях і поступово спадають. Це пояснюється особливостями імунологічної реакції організму в молодому віці, коли на введення анатоксину реакція була швидкою і також швидко згасала після припинення дії подразника. Імунна відповідь в старшій віковій групі була поступовою на початковій стадії реакції на антиген, більш стійкою, інтенсивною та тривалою. Узагальнюючи результати імунного реагування та пошуки причин різної імунної відповіді на один і той же антигенний подразник (стафілококовий анатоксин), у 149 донорів можна відзначити такі відмінності та тенденції. Залежно від рівня титру антитоксину всі вакциновані були розділені на 4 групи. Перша група - з максимальною гуморальною відповіддю (10,00 - 8,00 МО/л) - 72 особи (48%). Друга група - з високою відповіддю (7,00 - 6,00 МО/л) - 25 осіб (17%). Третя група - з середньою відповіддю (5,00 - 4,00 МО/л) - 36 осіб (24%). Четверта група - з низькою відповіддю (< 4,0 МО/л) - 16 осіб (11%). Просліджена динаміка імунної відповіді залежно від терміну після імунізації. Виявлено, що максимальні титри антитоксину в цих групах відзначені через місяць після вакцинації. Високий рівень антитіл з коливанням у цих групах спостерігається з кінця 1-го місяця після завершення імунізації з поступовим зниженням титру. Вивчення гуморальної відповіді на стафілококовий анатоксин у донорів залежно від групи крові (ABO) виявило, що найбільш високий рівень антитоксину зафіксовано у осіб з III(B) групою, який досягав в середньому 7,7 МО/л. Важливим також є той факт, що високий рівень антитіл у донорів цієї групи крові спостерігався з кінця 1-го тижня і до кінця 2-го місяця після закінчення вакцинації. Нижчі показники антитоксину (середні максимальні величини 6,67 - 6,88 МО/л) відзначені у донорів з першою, другою та четвертою групами крові. Цей рівень антитіл спостерігався з 14-го дня і до місяця після вакцинації, тобто протягом короткого терміну, ніж у донорів з третьою групою крові. При вивченні впливу віку донорів на імунну відповідь після введення стафілококового анатоксину відзначено наступне. Найбільш суттєва тенденція різниці в гуморальній відповіді виявлена між двома віковими групами: перша від 20 до 28 років; друга - від 29 до 45 років. Середні максимальні рівні антитоксину двох груп достовірно не відрізнялись між собою, але динаміка титрів була різною. Для першої групи була характерна більш рання (в кінці 1-го тижня) максимальна імунна відповідь з наступним більш різким зниженням рівня антитіл в крові. Для другої групи максимальна гуморальна відповідь відзначена пізніше (на 30-й день), і зниження титрів було більш поступовим. У цій групі також спостерігалась тенденція до більш високого рівня титру антитоксину. Отримані нами результати підтверджують різноманітність варіантів імунної відповіді при вакцинації, що зумовлено багатьма факторами, у тому числі генетичними [10-12]. Тому виявлення взаємозв'язку антигенів системи HLA з

гуморальним імунітетом при імунізації є перспективним та буде предметом наших подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1 Донори крові, вакциновані стафілококовим анатоксином, за рівнем титрів антитоксинів розділені на 4 групи:

- з максимальною імунною відповіддю (10,0 - 8,0 МО/л) - 48%;
- з високою відповіддю (7,0 - 6,0 МО/л) - 17%;
- з середньою відповіддю (5,0 - 4,0 МО/л) - 24%;
- з низькою відповіддю (<4,0 МО/л) - 11%.

2 Динаміка концентрації антитоксину в крові перших трьох груп донорів була однотиповою і характеризувалась максимальними титрами через місяць після вакцинації з поступовим їх зниженням. Максимальний титр антитоксину в четвертій групі донорів відзначено через тиждень після імунізації з подальшим його зниженням.

3 Відносно високий рівень антитоксину (з коливанням не більше 1.0 МО/л) спостерігався з кінця 1-го тижня і до кінця 2-го місяця після імунізації.

4 Виявлена тенденція до найбільш високого середнього рівня антитоксину (7,7 МО/л) донорів з III(B) групою крові.

5 При поділі донорів на 2 групи за віковою ознакою (20-28 та 29-45 років) достовірної різниці в титрах антитіл між ними не виявлено. Для першої (молодшої) групи характерна рання (7-й день) максимальна імунна відповідь з подальшим більш різким зниженням рівня антитоксину в крові. Для другої (старшої) вікової групи максимальна гуморальна відповідь відзначена пізніше, і зниження титру антитіл було поступове.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

З результатів, одержаних при виконанні даного дослідження, можна зробити такі практичні рекомендації.

1 Оптимальними термінами для отримання крові у донорів, імунізованих стафілококовим анатоксином, є період з кінця 1-го тижня до кінця 2-го місяця після закінчення вакцинації.

2 Донорами вибору для одержання високотитрованих протистафілококових імунних препаратів є особи з третьою групою крові.

3 У донорів до 28 років доцільно проводити забір крові в кінці 1-го тижня вакцинації, від 29 до 45 років - з 30-го дня після закінчення терміну вакцинації.

SUMMARY

149 donors, who were inoculated by staphylococci anatoxin, have been studied for their dynamics of humoral immunital response. The donors were divided into four groups according to their immunital response intensity. The highest titre of antitoxin was discovered in donors with III(B) blood group. In spite of the donors' different age there were not revealed essential distinctions in their antibodies' titres.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Петров Р.В. Иммунология. - М.: Медицина, 1987. - 416 с.
2. Инструкция по иммунизации доноров стафилококковым анатоксином и проведению плазмофереза для получения антистафилококковой плазмы. - М.: Медицина, 1977. - 21с.
3. Инструкция по применению анатоксина стафилококкового очищенного адсорбированного. - Москва, 1991. - 17 с.

4. Выгодчиков Г.В. Стафилококковые инфекции. - М.: Медицина, 1963. - 271 с.
5. Васильева С.Г., Бирюкова Т.В., Петрашова Э.П. Двухлетний опыт работы по получению антистафилококковых препаратов // Здоровоохранение Казахстана, 1975. - №8. - С.20-21.
6. Григорьев В.Е., Хисамутдинов А.Г., Акатов А.К. и др. К вопросу о реактогенности и иммунной активности стафилококкового анатоксина при подкожно-интраназальном способе иммунизации доноров // Казанский медицинский журнал, 1994. - №5. - С.384-385.
7. Гутник Р.Б., Муравова Л.П. Иммунное донорство. - Киев.: Здоров'я, 1987. - 87 с.
8. Корепанов А.М., Соколова И.В. Динамика уровня иммуноглобулина и титра антител в процессе иммунизации стафилококковым анатоксином и плазмофореза // Журн. микробиол. - 1986. - №7. - С.15-17.
9. Стафилококк (биологически активные субстанции, иммунный ответ на антиген) /Под ред. акад. АН УССР В.В.Смирнова, доктора биологических наук А.Е.Вершигоры. - Киев: Наукова думка, 1988. - 248 с.
10. Серова Л.Д. Иммунологические маркеры в крови в норме и при некоторых видах патологии: Автореф. дис. ... док. мед. наук. - Л., 1980. - 24 с.
11. Ходановский А.В., Прилуцкий А.С., Лысак С.А. О влиянии некоторых социально-биологических иммуногенетических факторов на интенсивность антителообразования у доноров, иммунизированных адсорбированным стафилококковым анатоксином различной иммуногенности // Сб. науч. тр. Донецкой областной станции переливания крови, Центральная научно-исследовательская лаборатория Донецкого медицинского института. - Донецк, 1990. - С.47-48.
12. Павлюк Р.П., Бай О.Н. Вивчення ролі генетично детермінованих маркерів системи крові в розвитку порушень гуморального імунітету у ліквідаторів аварії на АЕС // Лікарська справа, 1996. - №7-9. - С.17-19.

УДК 616.71-053+616.71-091.80-003.9

ПАТОМОРФОЛОГІЯ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ТА КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБІ У ЗРІЛОМУ ВІЦІ

А.М.Романюк, проф.; О.С.Моїсєнко ; К.А.Романюк, студ.
(* Сумське обласне бюро СМЕ)*

Широкий розвиток механізації та автоматизації, ріст важкої індустрії і хімічної промисловості, широке застосування електричної та атомної енергії в науці та промисловості сприяють значному росту опікових уражень. В результаті термічної травми страждають тисячі людей, багато з яких стають інвалідами. За останні десятиріччя частота опіків у всьому світі зростає, і згідно з даними ВОЗ термічні ураження займають 3-тє місце за частотою серед інших травм [1]. Великою глибиною та обширністю ураження супроводжуються опіки, отримані на виробництві, при стихійних лихах, воєнних діях. Про це свідчить масовість термічних уражень під час землетрусів в Турції та Греції, при бойових діях в Косово та Чечні, при терористичних актах у Москві, Волгодонську.

Високий процент летальності та інвалідності, характерний для термічної травми, привертає до даної патології увагу зі сторони клініцистів та морфологів [2-4].

Опікова хвороба супроводжується такими постійно діючими несприятливими факторами, як інтоксикація [5], порушення всіх видів обміну речовин [6], розлад мікроциркуляції в тканинах, що призводять до глибоких, деколи незворотних морфологічних змін як в ділянці опікової рани, так і в органах і тканинах, в результаті чого настають летальні наслідки.

За останні 5 років у Сумському обласному бюро судмедекспертизи було досліджено 107 трупів осіб, які отримали термічну травму. У 14 (13,1 %) смерть настала на місці пригоди, а решта 93 (86,9 %) трупи доставлялися із стаціонарів. У віковому аспекті смерть в результаті термічних уражень