

УДК 61:612.017:615.371

**ВПЛИВ ДИФТЕРІЙНОГО ТА  
АДП-АНАТОКСИНІВ НА АНТИТІЛОГЕНЕЗ  
ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ**

**Волянський А.Ю., Смирненко Л.Л., Кучма І.Ю.,  
Мізін В.В., Никитченко Ю.В., Давиденко М.Б.**

**Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова  
АМН України, м. Харків, 61057, вул. Пушкінська 14,  
[imiamn@mail.ru](mailto:imiamn@mail.ru)**

**Вступ**

Вакцинація є єдиним надійним способом збереження здоров'я населення у сучасних умовах його існування на тлі несприятливих факторів різного генезу (інфекційних, фізичних, хімічних, стресових тощо) [1-5]. Відсутність очікуваного ефекту результатів вакцинації, що є обов'язковими або рекомендованими, підіймає ряд теоретичних і практичних питань та обумовлює актуальність розробки й удосконалення засобів вакцинної профілактики [1, 6].

Результати комплексного імунологічного та ендокринологічного обстеження дітей і людей похилого віку доводять, що ці контингенти населення найбільш уражені і по-цьому є нагальна необхідність удосконалення підступів щодо їх вакцинації [1, 7, 8]. При розробці способів зміцнення і корекції імунної системи, підвищення ефективності вакцинації актуальними є дослідження вікових особливостей гормональної регуляції імуногенезу, що обумовлено провідною роллю нейроендокрино-імунної системи у механізмах резистентності організму [9-11].

З метою виявлення резервів стимуляції імуногенезу та вдосконалення процесу раціонального використання вакцин нами досліджено особливості впливу на антитілогенез функціонального стану окремих ланок ендокринної системи у щурів різного віку за умов імунізації АДП-анатоксином [12-15]. Дослідження глюкокортикоїдної активності ГГКС показало, що формування імунної відповіді на асоційовані в одному препараті різні за антигенною активністю анатоксини відбувалося за різних умов гормонального стану, що могло відбиватися на результатах імунізації [16]. Для перевірки цього припущення проведено порівняльні дослідження впливу АДП-анатоксину та дифтерійного анатоксину на активність процесу специфічного антитілогенезу в експерименті.

**Матеріали і методи**

В експеримент з визначення імунної відповіді на АДП-анатоксин взято 12 груп самців інтактних щурів лінії Вістар: 1 та 7 групи були контрольними (3- та 20-місячного віку відповідно); 2 - 6 групи – піддослідні 3-місячні щури, 8 – 12 групи – піддослідні 20-місячні щури. Піддослідним тваринам вводили АДП-вакцину в дозі 15 ЛФ дифтерійного та 5 ОЗ правцевого анатоксинів у об'єму 0,25 мл препарату. Цю дозу як мінімально ефективну обрано у попередньому дослідженні при розробці моделі імунної відповіді на АДП-анатоксин [12]. Вакцину вводили підшкірно, о 10 годині ранку. Кожна група складалася з трьох тварин. Дослідження розвитку імунної відповіді виконували у динаміці її формування: через 3, 7, 14, 21 та 28 днів після щеплення. Кров для аналізів відбирали після декапітації тварин. Тварин контрольної групи забивали на третю добу після імунізації.

Дослідження розвитку імунної відповіді на дифтерійний анатоксин проводили на двох групах самців інтактних щурів лінії Вістар 3- та 20-місячного віку відповідно. Тваринам вводили дифтерійний анатоксин (препарат АД-М-а, серія № 30, виготовлення ЗАО «Біолек») в дозі 15 ЛФ у 0,25 мл препарату. Вакцину вводили підшкірно, о 10 годині ранку. Кожна група складалася з п'яти тварин. Активність специфічного антитілогенезу досліджували у динаміці розвитку імунної відповіді: через 3, 7, 14, 21 та 28 днів після імунізації. Кров для аналізів відбирали з хвостової вени щурів.

Антитіла до дифтерійного анатоксину визначали у сироватці крові в реакції пасивної гемаглютинації за допомогою стандартного комерційного "Діагностикума еритроцитарного дифтерійного антигенного рідкого", серія 59 – 63 з активністю 1:3200, виготовленого АОВТ "Біомед" ім. І.І. Мечникова.

Експерименти виконували у відповідності до Європейської конвенції з питань етики по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1986 р.). Статистичну обробку результатів дослідження проводили на ПК за допомогою пакету прикладних програм "Excel"

**Результати досліджень та їх обговорення**

Активність синтезу протидифтерійних антиоксинів у процесі формування гуморальної імунної відповіді на АДП-вакцину характеризувалася вираженими віковими особливостями (табл.)

**Таблиця. Концентрація протидифтерійних антитіл сироватки крові щурів, імунізованих АДП-анатоксином та дифтерійним анатоксином, МО/мл, (М ± м)**

Термін після імунізації, доба	Вік, міс				
	3		20		
	АДП-анатоксин	Дифтерійний анатоксин	АДП-анатоксин	Дифтерійний анатоксин	
До імунізації	0	0	0	0	
Після імунізації	3	0	0	0	
	7	0	0	0	
	14	0,007	0,012 ± 0,001	0	0,004 ± 0,002
	21	1,0	1,800 ± 0,583	0,007	0,018 ± 0,007
	28	0,125	1,300 ± 0,300*	0,007	0,078 ± 0,027

Примітка: \* - P < 0,05; P – достовірність різниці відносно рівня при імунізації АДП-анатоксином.

У молодих щурів дифтерійні антитоксини з'являлися у сироватці крові на 14 добу після імунізації, максимального рівня титр аглютининів досягав на 21 добу (1,0 МО/мл) і знижувався до 0,125 МО/мл на 28 добу експерименту. У старих щурів протидифтерійна імунна відповідь була значно слабкішою, ніж у молодих тварин. Рівень АТ на 21-28 добу після імунізації складав лише 0,007 МО/мл.

Формування реакції відповіді на дифтерійний анатоксин відрізнялося від визначеної на імунологічній моделі з використанням АДП-анатоксину. Під впливом дифтерійного анатоксину специфічні антитіла з'являлися у сироватці крові молодих щурів з 14 доби імунної відповіді на рівні, що перевищував концентрацію у тварин імунізованих АДП-анатоксином на 0,005 МО/мл. На 21 добу концентрація дифтерійних антитоксинів зростала до 1,8 МО/мл, після чого незначно зменшувалася, однак залишалася до 28 доби на рівні, що на 1,175 МО/мл ( $P \leq 0,05$ ) перевищував спостережуваний у тварин імунізованих АДП-анатоксином.

У старих тварин імунізація дифтерійним анатоксином супроводжувалася появою протидифтерійних антитіл у кровотоці на добу раніш, ніж під впливом на АДП-анатоксину, з 14 доби після щеплення. Концентрація їх зростала на 21 добу на 0,014 МО/мл і продовжувала зростати до 28 доби ще на 0,06 МО/мл. У порівнянні з формуванням імунної відповіді на АДП-анатоксин, у старих щурів рівень протидифтерійних антитіл на 21 добу був на 0,011, а на 28 добу на 0,071 МО/мл. ( $P \leq 0,05$ ) вище.

Таким чином, порівнянням впливу дифтерійного та АДП-анатоксинів на протидифтерійний антиілогенез визначено, що незалежно від віку імунізація щурів дифтерійним анатоксином супроводжувалася більш значним рівнем активності специфічного антиілогенезу, ніж у тварин під впливом АДП-анатоксину. Активність синтезу протидифтерійних антитіл за умов імунізації щурів різного віку дифтерійним анатоксином не знижувалася на 28 добу експерименту, як у тварин під впливом АДП-анатоксину. Це відбувалося певним чином за умов відсутності активуючого впливу правцевого анатоксину на глюкокортикоїдну функцію ГГАКС, що проявляється супресивним впливом на процес синтезу протидифтерійних антитіл за умов імунізації. У проведеному нами раніш дослідженні імуногормональних взаємозв'язків у динаміці формування гуморальної імунної відповіді на АДП-анатоксин було визначено, що термін реалізації продуктивної фази імунної відповіді на дифтерійний та правцевий анатоксини не збігається [16]. Так, у молодих щурів максимальний рівень синтезу протидифтерійних антитіл спостерігався на 21 добу після щеплення, а протиправцевих – на 28 добу. Оскільки відомо [17], що ступень залучення глюкокортикоїдної функції ГГАКС у регуляцію імунного процесу залежить від сили антигену, то і рівень кортикостерону у кровотоці відповідав впливу правцевого анатоксину з більш значними антигенними властивостями ніж дифтерійний анатоксин.

Відомо [4, 18, 19], що у відповідь на антигенне навантаження активація глюкокортикоїдної функції ГГАКС в індуктивній фазі імунної реакції є обов'язковою складовою при формуванні поствакцинального

імунітету. Це сприяє забезпеченню специфічності імунної реакції шляхом супресії клональної експансії клітин з низькою афінністю до цього антигену. Глюкокортикоїдна реактивність в індуктивній фазі імуногенезу позитивно пов'язана з імуногенними властивостями антигенів [18-20], а глюкокортикоїдні гормони у фізіологічних концентраціях сприяють формуванню повноцінного специфічного імунітету. Зниження глюкокортикоїдного рівня розглядається в якості сигналу щодо завершення індуктивної фази імунної відповіді [19, 20], оскільки підвищений рівень кортикостерону у продуктивній фазі реакції може супресорно впливати на антиілогенез. У попередньому дослідженні виявлено, що при тривалому перебуванні в кровотоці високого рівня кортикостерону (до 28 доби після щеплення) спрацьовує механізм його супресорного впливу на протидифтерійний антиілогенез (у продуктивній фазі імунної відповіді). Порівняльні дослідження впливу АДП-анатоксину та дифтерійного анатоксину на активність процесу специфічного антиілогенезу це підтвердили.

У старих щурів синтез антитоксинів не залежав суттєво від терміну після імунізації, концентрація протидифтерійних та протиправцевих антитіл з 21 до 28 доби дорівнювала 0,007 та 0,75 МО/мл відповідно. При цьому підвищення рівня кортикостерону за умов імунізації спостерігалось лише в індуктивній фазі імуногенезу (7 – 14 доба), а у продуктивній фазі він знижувався до вихідного. Цю вікову особливість можна розглядати як прояв підтримки розвитку імунної відповіді.

Проведені дослідження свідчать, що позитивний зв'язок рівня імуногенності антигенів з глюкокортикоїдною реактивністю ГГАКС за умов імунізації можна використовувати при тестуванні асоційованих вакцинних препаратів на визначення їх антигенної сумісності. За нових екологічних умов довкілля, що спричинюють зниження адаптаційних можливостей організму, доцільним є тестування вже розроблених асоційованих вакцинних препаратів на визначення сумісності їх складових з метою підвищення ефективності імунізації. Означено важливість вивчення імуногормональних взаємозв'язків з метою виявлення гормональних тестів ранньої оцінки ефективності імуногенних властивостей вакцинних препаратів. Ці тести можуть знайти практичне застосування при розробці засобів підвищення ефективності щеплення, а також при розробці й удосконаленні вакцинних препаратів.

## Висновки

1. З віком тварин сповільнюється процес формування гуморальної імунної відповіді на імунізацію й знижується рівень специфічних антитіл.
2. Імунізація дифтерійним анатоксином сприяє більш високому рівню синтезу протидифтерійних антитіл порівняно зі впливом АДС-анатоксину як у молодих, так і у старих щурів.

## Список літератури

1. Покровский В.И. Вакцинопрофилактика: вопросы без ответов /Тер. Архив.-2002.-№ 11.-С. 5-6.

2. Величковский Б.Т. О патогенетическом направлении изучения влияния факторов окружающей среды на здоровье населения. //Вестн. РАМН.-2003.-№ 3.-С. 3-8.
3. Кундиев Ю.А., Кальниш В.В., Нагорная А.М. Роль стресса в формировании здоровья населения: структурный анализ //Журн. АМН України.-2002.-Т. 8, № 2.-С. 335-345.
4. Хаитов Р.М., Лесков В.П. Иммуитет и стресс //Рос. Физиол. Ж.-2001.-Т. 87, № 8.-С. 1060-1072.
5. Зак К.П., Михайловская Э.В., Грузов М.А. и др. Гематологический и иммунологический мониторинг ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС через 5 – 12 лет //Укр. Мед. Часопис.-2000.-V/VI, № 3 (17).-С. 26-31.
6. Griffin JF. A strategic approach to vaccine development: animal models, monitoring vaccine efficacy, formulation and delivery //Adv Drug Deliv Rev.-2002.-Oct 4; 54(6).-P. 851-861.
7. Yoshikawa TT. Epidemiology and unique aspects of aging and infectious diseases /Clin Infect Dis. 2000 Jun; V. 30(6).-P. 931-933.
8. Lifshitz S., Dagan R., Shani-Sekler M. et. al. Age-dependent preference in human antibody responses to Streptococcus pneumoniae polypeptide antigens //Clin. and Exp. Immunol.-2002.-V. 127.-№ 2.-P. 344-353.
9. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В. Проблемы гистофизиологии иммунной системы //Иммунология.-2002.-Т. 23.-№ 1.-С. 4-8.
10. Petrovsky N. Towards a unified model of neuroendocrine-immune interaction //Immunol. and Cell Biol.-2001.-79, № 4.-P. 350-357.
11. Webster, J.I., Tonelli, L., Sternberg, E.M. 2002. Neuroendocrine regulation of immunity //Annu. Rev. Immunol.-2002.-V. 20.-P. 125-163.
12. Воляньский А.Ю., Смирченко Л.Л., Кучма И.Ю., Никитченко Ю.В., Крестецька С.Л. Моделирование процессу специфического антителогенезу за умов імунізації щурів АДП-анатоксином //Інфекційні хвороби.-2006.-№ 4.-С. 62-66.
13. Воляньский А.Ю. Влияние АДП-анатоксину на глюкокортикоидный статус щуров разного віку //Анали Мечниковського інституту.- 2006.- № 3.- Web: <http://hniimi.da.ru.-Journal>.
14. Воляньський А.Ю., Смирченко Л.Л., Палій І.Г., Кучма І.Ю., Никитченко Ю.В. Вікові особливості тиреоїдного статусу щурів за умов імунізації АДП-анатоксином //Biomedical and Biosocial Anthropology.-2006.-№ 7.-P. 159-164.
15. Воляньський А.Ю. Імуногормональні взаємозв'язки у щурів за умов імунізації АДП-анатоксином //Биологический вестник.-2007.-Т. 11, № 1.-С. 72-75.
16. Воляньський А.Ю., Смирченко Л.Л., Кучма І.Ю., Никитченко Ю.В., Крестецька С.Л. Вікові особливості глюкокортикоїдного статусу щурів за умов імунізації АДП-анатоксином //Биологический вестник.-2006.-Т. 10.-№ 2.-С. 113-116.
17. Абрамов В.В. Взаимодействие иммунной и нервной систем. Новосибирск: Наука. Сиб. отдние.-1988.-166 с.
18. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология: Пер. с англ.-М.: Мир, 2000.-592 с. Гл. Регуляция иммунного ответа.-С. 237-257.
19. Корнева А., Шхинек Э.К. Гормоны и иммунная система. Л.: Наука.-1988.-251 с.
20. Cacioppo J.T., Berntson G.G., Malarkey W.B. et. al. /Autonomic, Neuroendocrine, and Immune Responses to Psychological Stress: The Reactivity Hypothesis //Ann. N.Y. Acad. Sci.-1998.-840.-P. 664 – 673.

**УДК 61:612.017:615.371**

**ВПЛИВ ДИФТЕРІЙНОГО ТА АДП-АНАТОКСИНІВ НА АНТИТІЛОГЕНЕЗ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ**

**Воляньський А.Ю., Смирченко Л.Л., Кучма І.Ю., Мізін В.В., Никитченко Ю.В., Давиденко М.Б.**

Досліджували процес формування гуморальної імунної відповіді на дифтерійний та АДП анатоксини у самців інтактних 3- та 20-місячних щурів лінії Вістар. Визначено, що незалежно від віку щурів імунізація дифтерійним анатоксином супроводжувалася більш значним рівнем специфічного антителогенезу, ніж у тварин під впливом АДП-анатоксину.

**Ключові слова:** протидифтерійні антитіла, дифтерійний анатоксин, АДП-анатоксин, щури, вік.

**УДК 61:612.017:615.371**

**ВЛИЯНИЕ ДИФТЕРИЙНОГО И АДС-АНАТОКСИНОВ НА АНТИТЕЛОГЕНЕЗ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

**Воляньский А.Ю., Смирченко Л.Л., Кучма И.Ю., Мизин В.В., Никитченко Ю.В., Давиденко М.Б.**

Исследовали процесс формирования гуморального иммунного ответа на дифтерийный и АДС-анатоксин у самцов интактных 3- и 20- месячных крыс линии Вистар. Установлено, что независимо от возраста иммунизация дифтерийным анатоксином сопровождалась более значительным уровнем специфического антителогенеза, чем у животных под влиянием АДС-анатоксина.

**Ключевые слова:** противодифтерийные антитела, дифтерийный анатоксин, АДС-анатоксин, крысы, возраст.

**УДК 61:612.017:615.371**

**INFLUENCE DIPHTHERIAL AND ADT-ANATOXINS ON ANTIBODYGENESIS AT RATS OF DIFFERENT AGE**

**Volyanskiy A.Y., Simirenko L.L., Kuchma I.Y., Misin V.V., Nikitchenko Yu.V., Davidenko M.B.**

Investigated process of formation of the humoral immune answer on diphtheria and ADT-anatoxin at 3- and 20-month old male Wistar rats. Fixed, that irrespective of age the immunization by a diphtherial anatoxin was accompanied by more appreciable level specific antibodygenesis, than at an animal under influence ADT-anatoxin.

**Key words:** antidiphtherial antibodies, diphtherial anatoxin, ADT-anatoxin, rats, age.