

УДК 616.935+576.8.097—612.017

Й. Й. Ногачевський, М. І. Грутман, С. Л. Ягуд,
М. О. Ковбаско, Б. О. Горський, О. Я. Богуш

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЛЕЙКОЦИТІВ ПІД ВПЛИВОМ АЛЕРГЕНІВ ТА УТВОРЕННЯ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ І СПЕЦИФІЧНИХ АНТИТІЛ КЛАСУ IgA ПРИ ДИЗЕНТЕРІЇ

Проблема бактеріальної дизентерії є однією з найважливіших у сучасній епідеміології [11]. Труднощі в боротьбі з нею значною мірою обумовлені тим, що патогенез її вивчений недостатньо. Тому з'ясування патогенетичних особливостей при дизентерії, зокрема імунологічних зрушень, має важливе значення для розробки методів її діагностики, профілактики і лікування. При кишкових інфекціях значна увага приділяється механізмам місцевого імунітету, зокрема імуноглобулінам класу IgA та специфічним антитілам, що належать до нього [9, 23, 26, 27]. Водночас велике значення надається захисній ролі лейкоцитів, функціональна активність яких пов'язана з антитілами [4, 5, 24].

В патогенезі дизентерії важливу роль, як і при інших інфекційних хворобах, відіграє алергічний компонент [1, 6, 13, 17, 18, 19]. Встановлення цього факту є основою для розробки методів алергодіагностики дизентерії, зокрема клітинних методів *in vitro*. Необхідність розробки таких методів обумовлена перш за все тим, що при них виключається додаткове алергенне навантаження організму хворого. Дизентерин, що вживається для шкірних проб, має сенсibilізуючі властивості в діагностичній дозі [14]. Клітинні методи *in vitro* мають, без сумніву, перевагу у цьому відношенні. Обнадійливі результати одержані при застосуванні дизентерину в тесті ППН [2, 8, 15 та ін.].

Проте особливості імунологічної перебудови організму в процесі взаємодії із збудником дизентерії, її клітинні і гуморальні прояви вивчені ще недостатньо.

Ми вивчали специфічні дизентерійні антитіла, що належать до імуноглобулінів класу А, вміст цих імуноглобулінів та сумарних протитіл в сироватці крові хворих, а також зміни функціональної активності сенсibilізованих лейкоцитів під впливом дизентерійних алергенів *in vitro*.

Методика досліджень

Спостереження провадили у хворих на дизентерію Зонне дітей і дорослих. Досліджували імуноглобуліни А, специфічні антитіла, що належать до цього класу імуноглобулінів, сумарні титри антитіл сироватки крові. Концентрацію Ig А визначали за методом Манчіні [25]. Специфічні протидизентерійні антитіла, що належать до імуноглобулінів класу А, визначали методом, розробленим нами. Крім того, визначали сумарні титри всіх антитіл в сироватці крові методом пасивної гемаглютинації з О-антигеном шигел Зонне.

Про алергічну перебудову організму хворих судили, виявляючи зміни функціональної активності сенсibilізованих нейтрофілів під дією на них дизентерійних алергенів *in vitro*. З цією метою застосовували тест ППН за Фрадкіним, який розглядається як імунологічний феномен [20, 21] і реакцію інгібіції фагоцитарної активності лейкоцитів. При вивченні змін амебодної активності нейтрофілів (ППН) паралельно вжи-

вали дизентерин, одержаний з Ленінградського НДІВС, і дизентерійний алерген, виготовлений нами методом ультразвукової дезінтеграції. Для цього добову культуру дизентерійного мікроба Зонне (штам 2891₂) тричі відмивали фізіологічним розчином центрифугуванням по 20 хв при 4000 об/хв. 2 г мікробної маси суспендували в 50 мл бідистильованої води в колбі і обробляли ультразвуком протягом 1 год при частоті 800 кГц і потужності на виході 1—6 Вт/см² (апарат УЗ-1 Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР). Потім вміст колби центрифугували 20 хв при 6500 об/хв. Надосадову рідину переносили в стерильний флакон і перевіряли на стерильність. Вміст білка за Лоурі в цьому алергені становив 2,8 мг/мл, а в дизентерині — 2 мг/мл, що дорівнювало 10 дозам.

Для постановки тесту ППН дизентерин вживали в 1; 1,5 і 2 дозах, а ультразвуковий алерген по 0,1 мл нерозведений і в розведенні 1:10. Позитивною вважали реакцію при ППН, починаючи з 0,1. Контрольна група — 16 практично здорових людей. Крім того, кожному хворому ставили пробу з фізіологічним розчином NaCl.

При вивченні «розрیشальної» дії на фагоцитарну активність нейтрофілів дизентерин вживали в 1 і 2 дозах. Об'єктом фагоцитозу була суспензія (2,5 млрд. м. т. в 1 мл) вбитої нагріванням культури золотистого стафілокока (штам 209). В пробірці брали по 0,1 мл 5% розчину цитрату натрію; 0,1 мл крові хворого; 0,1 мл дизентерину або фізіологічного розчину (контроль); 0,1 мл суспензії стафілокока. Після 30 хв витримання в термостаті при 37° виготовляли препарати, які фіксували метанолом і фарбували за Мансоном. Визначали фагоцитарне число і процент активних фагоцитів. Контрольна група — 11 практично здорових людей. Одержані цифрові матеріали обробляли варіаційно-статистичним методом.

Результати досліджень

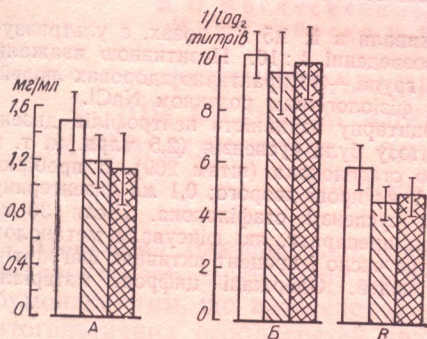
Вивчення імуноглобулінів класу А, специфічних протидизентерійних антитіл класу IgA та сумарних антитіл проведено у 24 хворих на дизентерію Зонне. У 10 дорослих (20—40 років) дослідження проводили на сьомий — десятий день захворювання. Дослідження у дітей (2—7 років) з легким і середньої тяжкості перебігом хвороби проводили на 7—15 день. I група (8 дітей) — хворі з гострим перебігом хвороби, дизентерійний мікроб у них висівали одноразово; II група (6 дітей) — хворі із затяжним перебігом хвороби, дизентерійна паличка у них висівалася повторно. Їх виписували не раніше 30 дня від початку захворювання.

Статистично оброблені результати вивчення рівня імуноглобулінів А, специфічних протидизентерійних антитіл класу IgA і сумарних антитіл наведені на рисунку, з якого видно, що рівень IgA в крові у дітей з гострим і затяжним перебігом захворювання був нижчим, ніж у дорослих хворих. Між двома групами дітей різниці в концентрації IgA фактично не було. Не виявлено також відмінності між обома групами дітей і в титрах специфічних протидизентерійних антитіл класу IgA і сумарних (IgG, IgM, IgA). У дітей кожної групи титри антитіл класу IgA були нижчі, ніж у дорослих хворих. Щодо сумарних антитіл, то у дітей обох груп не було статистично достовірної різниці порівняно з титрами у дорослих. Слід відзначити, що рівень специфічних антитіл класу IgA в сироватці крові в кожній з груп був набагато нижче рівня сумарних антитіл. Поряд з цим у кожній групі існує позитивна кореляція між цими двома величинами. Коефіцієнти кореляції були +0,75 в групі дітей з гострим перебігом хвороби; +0,67 — із затяжним; +0,73 — в групі дорослих хворих.

Беручи до уваги важливість клітинних факторів захисту організму від інфекції поряд з гуморальними зрушеннями в організмі хворих, ми вивчали також зміни функціональних властивостей сенсibilізованих лейкоцитів під впливом дизентерійних алергенів.

Показник пошкодження нейтрофілів (ППН) визначали у 75 хворих віком від 16 до 50 років. Бактеріологічно дизентерія підтверджена у 68 з них, зміни в кишечнику при ректороманоскопії — у 55. Легкий перебіг хвороби був у 43 хворих, середньої тяжкості — у 30, важкий — у двох.

Підвищення амебоїдної активності нейтрофілів (позитивний тест ППН) під впливом дизентерину мало місце у 35 (46,6%) з 75 хворих, середня величина ППН становила $0,2 \pm 0,03$. Реакції лейкоцитів проявлялися у зміні форми клітин, накопиченні зерен глікогену по периферії цитоплазми, змінах компактності і забарвлення ядер, зміщенні їх на периферію, появі псевдоподій, порушенні цілісності цитоплазми. Зміни нейтрофілів хворих мали місце під дією *in vitro* обох дизентерійних



Рівень імуноглобуліну А і титри антитіл (сумарних і Ig А) в крові хворих на дизентерію Зонне.

Білі стовпці — дорослі (гострий перебіг), заштриховані навскіс — діти (гострий перебіг), заштриховані ромбовидно — діти (затяжний перебіг). А — IgA, Б — сумарні антитіла, В — антитіла IgA.

алергенів у різних дозах (табл. 1). Як видно з наведених у табл. 1 даних, істотної різниці в інтенсивності ушкоджуючого впливу на лейкоцити обох алергенів у застосованих дозах не виявлено. Але в кількості хворих, лейкоцити яких позитивно реагували на дизентерійні алергени відзначені істотні відмінності. Значно більше позитивних реакцій було на алерген, виготовлений методом ультразвукової дезінтеграції. Так, у 29 хворих досліджували паралельно дію на сенсibilізовані лейкоцити 1,5 дози дизентерину і 0,1 мл «ультразвукового» алергену, тобто при майже однаковій кількості білка. Позитивний тест ППН на дизентерин був у шести хворих, а на «ультразвуковий» алерген — у 13, тобто в два рази частіше.

Таблиця 1

ППН у хворих на дизентерію

Алерген	Доза	ППН $M \pm m$
Дизентерин	1 доза	$0,21 \pm 0,02$
Дизентерин	1,5 дози	$0,14 \pm 0,017$
Дизентерин	2 дози	$0,20 \pm 0,03$
«Ультразвуковий»	0,1 мл	$0,18 \pm 0,02$
«Ультразвуковий» 1:10	0,1 мл	$0,22 \pm 0,01$
Фізіологічний розчин	0,1 мл	0,08

При вживанні «ультразвукового» алергену в розведенні 1:10 (в 0,1 мл 0,028 мг білка) реакцію нейтрофілів виявлено у 30 з 34 хворих, а при застосуванні дизентерину у значно більшій дозі — у семи.

У 45 хворих ми провели вивчення *in vitro* «розрішальної» дії дизентерину в 1 і 2 дозах на фагоцитарну активність нейтрофілів. В контрольних дослідженнях інгібіції фагоцитозу ми не спостерігали. У хворих під впливом дизентерину відзначено зниження фагоцитарної активності нейтрофілів: процент активних фагоцитів знизився у 26 хворих, а фагоцитарне число — у 34. При цьому істотної різниці у величині пригнічення фагоцитарної активності лейкоцитів при різних дозах дизентерину

Таблиця 2

Показники фагоцитарної активності нейтрофілів

Алерген	Доза	Фагоцитарне число $M \pm m$	Процент активних фагоцитів $M \pm m$
Дизентерин	1 доза	$5,26 \pm 0,5$	$84,7 \pm 1,3$
Дизентерин	2 дози	$6,15 \pm 0,8$	$89,8 \pm 9,5$
Фізіологічний розчин	0,1 мл	$10,1 \pm 0,39$	$99,1 \pm 1,3$

не виявлено (табл. 2). Отже, як видно з наведених у табл. 2 даних, у людей, хворих на дизентерію, залежності ступеня інгібіції фагоцитозу від дози специфічного алергену при його дії на сенсibilізовані нейтрофіли *in vitro* не виявлено.

Обговорення результатів досліджень

Проведеними дослідженнями виявлені певні імунологічні зміни в організмі хворих на дизентерію, обумовлені взаємодією макро- і мікроорганізму. На основі одержаних результатів можна зробити висновок про існування певного паралелізму в здатності організму синтезувати специфічні протидизентерійні антитіла, що належать до класу IgA, і антитіла інших класів. Виявлена позитивна кореляція між вмістом антитіл класу IgA і сумарних антитіл. Здатність синтезувати імуноглобуліни класу A і специфічні антитіла цього класу у дітей виявилася нижчою, ніж у дорослих. Чіткої залежності між рівнем специфічних антитіл класу IgA і клінічним перебігом хвороби не виявлено. І хоч на поверхні слизової оболонки кишечника співвідношення антитіл класу IgA з антитілами інших класів може бути не таким, як у крові, вирішальна роль у формуванні місцевого імунітету, очевидно, належить клітинним факторам. Зв'язок між рівнем антитіл класу IgA і рівнем імунітету, напевно, непрямий і досить складний, хоч і є дані, що антитіла цього класу особливо ефективно діють як опсоніни [24].

Результати наших досліджень свідчать про наявність зрушень клітинних факторів імунітету при дизентерії. Виявлені істотні зміни функціональної активності нейтрофільних лейкоцитів під «розрішальним» впливом дизентерійних алергенів у напрямку її зниження. На зниження фагоцитарних властивостей лейкоцитів при алергічних процесах вказував О. О. Богомолець [7]. Ця закономірність підтверджена в експериментах на тваринах [10, 12, 16, 22]. Наші результати свідчать про пригнічення функціональної активності фагоцитів під впливом алергенів у людей, хворих на дизентерію. Інгібіція фагоцитарної активності лейкоцитів *in vitro* під впливом дизентерину та зміни їх амебоїдної рухливості під впливом обох дизентерійних алергенів свідчать про наявність у обстежених хворих гіперчутливості уповільненого типу. Отже, можна вважати, що під впливом дизентерійного мікроба і продуктів його метаболізму знижується функціональна активність полінуклеарних фагоцитів, і процес очищення організму від збудника гальмується. А в основі цього явища лежать алергічні механізми. Ці наші дані доповнюють і дозволяють пояснити спостереження про здатність дизентерійного алергену, одержаного методом ультразвукової дезінтеграції, в малих дозах порушувати фізіологічні функції організму [3]. В наших дослідженнях цей алерген у тесті ППН виявився ефективнішим порівняно з дизентерином. Хоч середні величини ППН при застосуванні цих алергенів були дуже близькі ($0,2 \pm 0,03$ і $0,21 \pm 0,01$), на «ультразвуковий»

алерген позитивно реагували лейкоцити більшої кількості хворих. Причиною цієї розбіжності, на нашу думку, полягає в якості алергену, в меншій його денатурації при обробці ультразвуком.

Висновки

1. В здатності організму хворих синтезувати специфічні протидизентерійні антитіли класу IgA та інших класів існує паралелізм. Між рівнем специфічних антитілів класу IgA та сумарних антитілів виявлена позитивна кореляція.

2. У хворих на дизентерію відзначаються функціональні зміни лейкоцитів, які виявляються *in vitro* під «розрішальним» впливом дизентерійних алергенів підвищенням ППН та інгібіцією фагоцитарної активності.

3. Більш ефективним за кількістю позитивних реакцій у тесті ППН був дизентерійний алерген, одержаний методом ультразвукової дезінтеграції.

Література

1. Адо А. Д. Общая аллергология. М., «Медицина», 1970. 543 с.
2. Алексеева М. Н. Материалы изучения аллергии методом ППН (показатель повреждения нейтрофилов крови *in vitro*) при дизентерии.— Кишечные инфекции. Труды 2 Моск. мед. ин-та, сер. инф. бол., 1974, 32, № 2, с. 28—31.
3. Бернасовская Е. П., Гуревич М. И., Ильевич Н. В. Опыт изучения действия ультразвуковых колебаний на некоторые микроорганизмы. Сообщ. II. Изучение токсических веществ дизентерийных микробов, полученных с помощью ультразвука.— Вопросы микробиологии и эпидемиологии кишечных инфекций, МЗ УССР, Киевский НИИ эпид., микроб. Киев, 1960, с. 100—102.
4. Бибинова Л. С., Хавкин Т. Н., Никульникова Н. С., Круглихина З. М. Экспериментальная дизентерия у морских свинок при энтеральном заражении. Исследование с применением флюоресцирующих антител.— Журнал гиг., эпид., микробиол. и иммунол., 1968, 12, № 3, с. 314—319.
5. Билибин А. Ф., Щетинина И. Н. Итоги 25-летнего изучения лечения дизентерии.— Кишечные инфекции. Труды 2 Моск. мед. ин-та, сер. инф. бол., 1974, 32, № 2, с. 5—14.
6. Богданов И. Л. Аллергия в патогенезе, клинике и терапии инфекционных болезней. М., «Медицина», 1974. 246 с.
7. Богомолец А. А. Анафилаксия, как интрацеллюлярная реакция связывания компонента.— Врачебн. дело, 1922, № 7—9, с. 125—128.
8. Бычковский В. Н., Богодельников И. В. О специфической альтерации лейкоцитов крови как показателе сенсibilизации организма при острой дизентерии.— Вопр. охраны материнства и детства, 1974, № 12, с. 15—19.
9. Гольдсман С. Я., Сухоруслова Л. И., Старшинова В. С., Мальчиковский Р. Г. Специфический иммунный ответ и продукция иммуноглобулинов при кишечных инфекциях. Антитела и иммуноглобулины сыворотки у больных дизентерией и сальмонеллезом.— Журн. микробиол., 1974, № 6, с. 55—59.
10. Гюллинг Э. В. Использование реакции фагоцитоза для изучения специфической реактивности клеток ретикуло-эндотелиальной системы.— Лабор. дело, 1967, № 9, с. 543—546.
11. Елкин И. И., Крашенинников О. А. Дизентерия. М., «Медицина», 1975. 191 с.
12. Зильберман Ф. А. К вопросу о фагоцитозе при анафилаксии.— Мед. журн., АН УРСР, 1935, 5, № 2, с. 319—320.
13. Колтыпин А. А. Патогенетические основы клинической классификации острых инфекционных болезней у детей. М., Медгиз, 1948. 96 с.
14. Кравченко А. Т., Фрадкин В. А., Лодинова Л. М., Белоцкий С. М. Экспериментальное изучение сенсibilизирующих свойств дизентерина.— Журн. микробиол., 1968, № 7, с. 32—35.
15. Лодинова Л. М., Тюркян Р. А. Реакция нейтрофилов крови на дизентерию (тест ППН) у больных дизентерией детей.— Журн. микробиол., 1974, № 3, с. 100—103.
16. Ногачевский И. И. Изменение фагоцитарной активности и устойчивости лейкоцитов при сенсibilизации алергенами грибов-сапрофитов.— Вопросы иммунологии, Киев, «Здоров'я», 1969, 4, с. 134—138.
17. Сеппи И. В. Бактериальная дизентерия. М., Медгиз, 1963. 366 с.

18. Сиротинин Н. Н., Бродская С. А. Судьба дизентерийных бактерий в различных участках желудочно-кишечного тракта.— Аннотации научных работ АМН СССР за 1954 г., М., 1955, с. 351—352.
19. Тимаков В. Д. О некоторых вопросах патогенеза острой бактериальной дизентерии.— Патогенез инфекц. заболеваний, Новости мед., 1949, М., в. 13, с. 1—9.
20. Фрадкин В. А. Реакция нейтрофилов крови как показатель инфекционной и лекарственной аллергии.— Сов. медицина, 1962, № 9, с. 41—47.
21. Фрадкин В. А. Вопросы механизма теста ППН.— Клини. и лабор. диагностика аллергич. заболев. Тез. 2 республ. конф. по аллергии. Киев—Ужгород, 1974, с. 142—143.
22. Хатунцев В. В. К вопросу о взаимоотношении аллергии и иммунитета. Автореф. канд. дис. Киев, 1951. 15 с.
23. Kaur J., Burrows W., Furbong M. A. Immunity to cholera: antibody response in the lower ileum of the rabbit.— J. Inf. Dis., 1971, 124, N 4, p. 359—366.
24. Knop I., Breu H., Wernet P., Rowley D. The relative antibacterial efficiency of Ig M, Ig G and Ig A from pig colostrum Austral.— J. Exp. Biol. and Med. Sci., 1971, 49, p. 405—413.
25. Mancini G., Carbonare A. O., Heremans J. F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.— Immunochemistry, 1965, 2, N 3, p. 235—254.
26. Nash D. R., Crable P. A., Heremans J. F. Sequential immunofluorescent staining: a simple and useful technique.— Immunology, 1969, 16, p. 785—796.
27. Wernet P., Breu H., Knop I., Rowley D. Antibacterial action of specific Ig A and transport of IgM, IgA and IgG from serum into the small intestine.— J. Inf. Dis., 1971, 124, N 2, p. 224—226.

НДІ епідеміології, мікробіології та паразитології;
Київський медичний інститут ім. О. О. Богомольця

Надійшла до редакції
16.V 1977 р.

I. I. Nogachevskij, M. I. Grutman, S. L. Jagud,
M. A. Kovbasko, B. A. Gorskij, A. Ja. Bogush

FUNCTIONAL CHANGES IN LEUCOCYTES UNDER THE INFLUENCE OF ALLERGENS AND PRODUCTION OF IMMUNOGLOBULINS AND SPECIFIC IGA ANTIBODIES WITH DYSENTERY

Summary

A positive correlation is revealed between the contents of IgA class and total antibodies with dysentery. The level of IgA and specific antibodies in children was less than that in adults. No dependence was observed between the levels of specific antibodies of the IgA class and the clinical course of the disease. A higher activity of the dysentery allergens as well as the inhibitory effect of these allergens on the functional properties of leucocytes (inhibition of phagocytic activity of neutrophils and increase of neutrophils damage index — NDI) were found.

Research Institute of Epidemiology,
Microbiology and Parasitology;
The A. A. Bogomoletz Medical Institute
Kuev