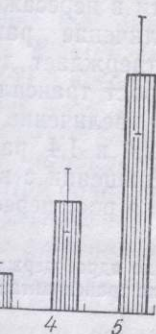


ованным тимусом
животные с транс-
животные с
лее, если число
олодой организм,
ента, то у старых
одому реципиенту
и в собственной,



ета на 10^6 ядро-
енке хозяина (свет-
3 мес после пере-
новорожденных до-

К и спленэкто-
ызывает сумми-
подсадка тиму-
ым угнетением
а. Одна сплен-
ый ответ пере-
есадки тимуса
е числа ПАОК
езенке, как это
ее содержание
еще в большей
нной селезенке
и сохраненной
ответственно),
ем на порядок
ены супрессии
а.

о может быть
ого сигнала в
туса в старый
ет существен-
вать в пользу
ается не толь-
органа-мише-
ование харак-
Здесь откры-
старости. Еще
енные резуль-
X в селезенке
ыми механиз-
ототе

G. M. Butenko, A. I. Kharazi, I. N. Pishel

THE EFFECT OF SPLENECTOMY ON THE DEVELOPMENT OF NEONATAL LYMPHOID ORGANS TRANSPLANTATS IN ANIMALS OF DIFFERENT AGE

The effect of splenectomy on the development of newborn thymus and spleen grafted under the kidney capsule of young and old mice has been investigated. Preliminary splenectomy is shown to increase cell counts in grafted spleen that is more conspicuous in young recipients as compared with old ones. This result suggests a decrease with age in the inhibitory effect of the host spleen on the maturation of spleen grafted from newborn donor. Combined transplantation of newborn thymus and spleen has revealed a decrease of cell counts in the donor spleen grafted to the young splenectomized recipients and, on the contrary, increase of this parameter in old ones. Immune response in donor spleen with combined transplantation of the thymus to the old splenectomized recipients is much higher as compared with the same parameter in recipient without splenectomy. It is concluded that partial destruction of the old immune system is essential for its correction.

Institute of Gerontology, Academy
of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Г. М., Харази А. И., Пишель И. Н. Влияние возраста реципиента на эффект трансплантации лимфоидных органов новорожденных доноров // Физиол. журн.— 1990.— 36, N 5.— С. 27—31.
2. Butenko G. M., Gubril I. B. Inhibition of the immune responses of young adult CBA mice due parabiosis with their old partners // Exp. Gerontol.— 1980.— 15, N 4.— P. 605—610.
3. Butenko G. M., Kharazi A. I. Effects of thymus grafts of various ages on the immunologic system formation in CBA mice // Mech. Ageing Dev.— 1985.— 30, N 2.— P. 227—237.
4. Jerne N. K., Nordin A. A. Plaque formation in agar by single antibody-production cells // Science.— 1963.— 140, N 3565.— P. 405.
5. Metcalf D. Restricted growth capacity of multiple spleen grafts // Transplantation.— 1964.— 2, N 2.— P. 387—392.
6. Tavasoli M. Limitation of splenic growth as studied by heterotopic splenic implants // Blood.— 1975.— 46, N 4.— P. 631—635.
7. Westermann J., Peshel P., Pabst R. Immunoarchitecture of regenerated splenic transplants: influence of donor and host age on the regeneration of splenic compartments // Cell Tissue Res.— 1988.— 254, N 3.— P. 403—413.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 22.03.91

УДК 615.373.001.6

Л. В. Назарчук, С. И. Бидненко, О. Б. Лютко, Е. А. Федоровская

Экспериментальное изучение иммуногенности поливалентного протейного антигена

В опытах на 52 кроликах породы шиншилла изучены различные схемы подкожной иммунизации поливалентным НО-протейным антигеном с высоким содержанием Н-компонента (Н1, Н2; Н3 антигенов протеев, наиболее часто встречающихся). В изучаемых схемах варьировали: доза вводимого антигена, кратность прививок, интервал между ними, длительность иммунизации, период года. Установлена оптимальная схема иммунизации, которая состоит из трех подкожных прививок (0,25—0,25—0,5 мг) интервалом 7 сут и однократной ревакцинации (0,25 мг) через месяц после окончания иммунизации.

© Л. В. НАЗАРЧУК, С. И. БИДНЕНКО, О. Б. ЛЮТКО, Е. А. ФЕДОРОВСКАЯ, 1991

ISSN 0201-8489. Физиол. журн. 1991. Т. 37. № 5

6—1-491

81

Введение

В настоящее время особо актуальными продолжают оставаться вопросы повышения специфического иммунитета к грамотрицательным условно-патогенным бактериям, в том числе протеем. Имеются сообщения о протективных свойствах некоторых антигенных препаратов из протеев [1, 4, 5]. Наиболее полно они изучены у препарата, изолированного из клеток высокоиммуногенного штамма *P. mirabilis* с помощью солянокислого гидроксилана [3]. Этот препарат индуцировал выработку антител к О-антигену протей и, вероятно, к некоторым общим антигенам других бактерий. Антитела принадлежали к IgM, обладали протективными свойствами в эксперименте и клинике, однако формирующийся иммунитет имел выраженный серогруппоспецифический характер [2, 3].

В системе комплексного лечения острых и хронических гнойно-воспалительных заболеваний, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, особенно их тяжелых форм, все более важное место занимает воздействие на специфические факторы иммунитета больного с помощью антигенных и иммунных препаратов.

Нами разработан поливалентный препарат с высоким содержанием наиболее распространенных Н-антигенов протей, имеющих патогенетическое значение при протейной инфекции [1, 8]. Препарат получен из суточных культур трех штаммов *P. mirabilis* обработкой ультразвуком в щадящем режиме и поэтому обладает широкой антигенной специфичностью. При внутривенном введении животным обнаруживает высокую иммуногенность, индуцируя антитела к О- и Н-антигенам, принадлежащие к IgM и, преимущественно, к IgG [1].

Цель нашей работы состояла в экспериментальном изучении динамики и выраженности специфического гуморального ответа на подкожное введение протейного полиантигена в зависимости от схемы иммунизации для определения принципиальной возможности и целесообразности использования данного препарата в качестве иммуногена.

Методика

Поливалентный протейный антиген (ПА) готовили по разработанной ранее методике [1]. Лиофилизированный ПА был апиногенен, практически нетоксичен, содержал более 50 % белка, его остаточная влажность составляла 12—14 % исходной. Вводимая одноразовая доза ПА

Таблица 1. Схемы подкожной иммунизации кроликов поливалентным протейным антигеном

Условие прививок	Прививка										I-X
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
Доза вводимого антигена, мл	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,3
Интервал, сут	—	2	3	3	3	3	3	4	4	4	29
Доза вводимого антигена, мг	0,25	0,25	0,50	0,75	1,00	—	—	—	—	—	2,75
Интервал, сут	—	5	5	5	5	—	—	—	—	—	20
Доза вводимого антигена, мг	1,25	1,25	2,50	—	—	—	—	—	—	—	5,00
Интервал, сут	—	6	7	—	—	—	—	—	—	—	13
Доза вводимого антигена, мг	0,25	0,25	0,50	—	—	—	—	—	—	—	1,00
Интервал, сут	—	7	7	—	—	—	—	—	—	—	14
Доза вводимого антигена, мг	0,20	0,20	0,40	—	—	—	—	—	—	—	0,8
Интервал, сут	—	7	7	—	—	—	—	—	—	—	14

для животного составляла от 0,03 до 2,5 мг. Сухой ПА растворяли в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия, стерилизовали облучением бактерицидной лампой в кварцевых пробирках в течение часа на расстоянии 20 см.

В работе использовали 52 кролика обоего пола породы шиншилла массой 1,5—3,3 кг. Препарат вводили подкожно в объеме 1,0 мл от 3 до 10 инъекций на курс, интервалы между инъекциями — от 2 до 7 сут. Суммарная доза ПА в цикле иммунизации варьировала от 0,3 до 5,0 мг на животное. Различные схемы иммунизации представлены в табл. 1.

Перед каждой инъекцией и еженедельно после иммунизации из ушной вены кроликов забирали кровь в объеме около 1,0 мл. Титр антипротейных антител в сыворотке крови определяли в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) микрометодом («Takachi», ВНР) с помощью поливалентного протейного эритроцитарного диагностикума (ПЭД), разработанного нами [8] (производство Киевского НИИ эпидемиологии и инфекционных болезней им. А. В. Громашевского МЗ УССР).

Во время иммунизации кроме показателей антителогенеза изучали показатели периферической крови (количество гемоглобина, число эритроцитов, лейкоцитов), массу тела, наблюдали за общим состоянием животных. Классоспецифичность антипротейных антител (IgM, IgG) определяли с помощью солянокислого цистеина [6]. Полученные результаты обрабатывали статистически [7].

Результаты и их обсуждение

У экспериментальных животных подкожное введение ПА при всех апробированных схемах иммунизации индуцировало выработку специфических сывороточных антител, сравнимых с таковыми, полученными

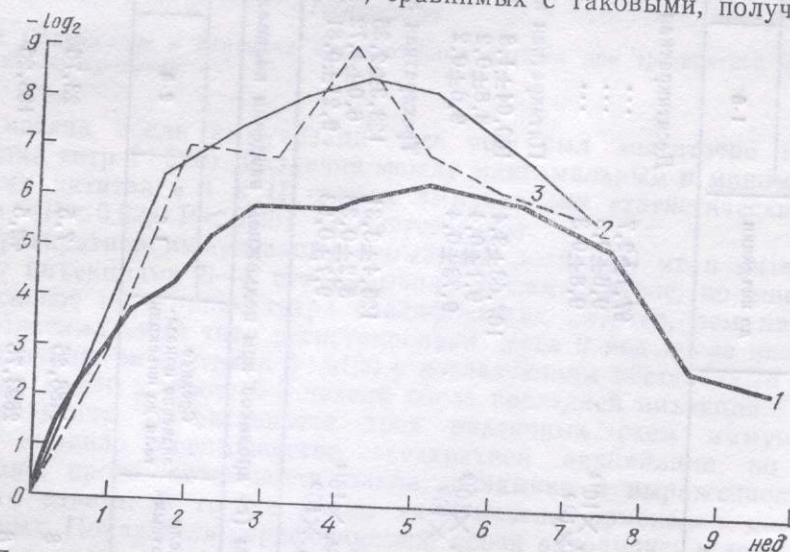


Рис. 1. Динамика иммунного ответа на подкожное введение поливалентного протейного антигена в зависимости от кратности иммунизации: 1 — десятикратная иммунизация (I схема), 2 — пятикратная иммунизация (II схема); 3 — трехкратная иммунизация (III схема).

при внутривенной иммунизации [1]. Однако в зависимости от использованной схемы введения ПА динамика и выраженность иммунного ответа на подкожное введение несколько различались (рис. 1). Как видно из рис. 1, при десятикратной иммунизации с общей суммарной дозой 0,3 мг и интервалом между инъекциями 2—3 сут средние титры антител возрастали лишь после каждой из первых пяти инъекций, в дальнейшем до конца цикла мало изменялись. Максимальный титр

Таблица 2. Состояние периферической крови кроликов при подкожной иммунизации протейным поливалентным антигеном

Показатель	Среднее значение показателей (M±m)						
	до инъекции		после инъекции				
	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	10-й	
Десятикратная иммунизация (I)							
Концентрация гемоглобина, г/л	97,1±2,7	...	...	...	100,7±1,2	101,0±3,6	
Число эритроцитов в 1 л крови, ×10 ¹²	9,6±0,3	...	...	...	10,0±0,3	9,7±0,5	
Число лейкоцитов в 1 л крови, ×10 ⁹	9,8±0,3	...	...	...	9,9±0,3	9,9±0,2	
Пятикратная иммунизация (II)							
Концентрация гемоглобина, г/л	107,63±3,4	100,04±1,8	102,08±1,7	107,38±3,0	105,6±3,3	108,0±2,1	...
Число эритроцитов в 1 л крови, ×10 ¹²	9,1±0,4	8,8±0,2	9,0±0,3	9,18±0,4	9,15±0,4	9,56±0,3	...
Число лейкоцитов в 1 л крови, ×10 ⁹	9,73±0,4	9,6±0,2	9,66±0,3	9,7±0,5	10,6±0,4	10,3±0,3	...
Трехкратная иммунизация (III)							
Концентрация гемоглобина, г/л	125,4±3,31	123,3±2,35	123,7±2,87	122,15±3,19	...	...	...
Число эритроцитов, в 1 л крови, ×10 ¹²	5,2±0,38	6,0±4,72	5,09±0,35	5,03±0,35	...	...	...
Число лейкоцитов в 1 л крови, ×10 ⁹	9,7±0,93	9,21±0,81	12,56±1,7	11,25±1,11	...	...	...

Таблица 3. Изменения массы (г) кроликов при подкожном введении поливалентного протейного антигена

Схема	Число животных	Среднее значение показателя до инъекции	Плотность средних значений показателя после инъекции							
			1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	6-й и 7-й	8-й и 9-й	10-й
I Десятикратная иммунизация	8	1486,25	7,5	23,75	38,75	65,0	97,5	128,75	152,5	178,75
II Пятикратная иммунизация	8	2893,75	42,5	136,25	163,75	177,5	257,5	...	...	...
III Трехкратная иммунизация	18	3238,64	40,53	90,92	138,15	...	...	...	...	...

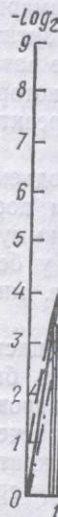


Рис. 2. Состояние кроликов после иммунизации

2-го мес (средний титрами верны (Трех между интенсивная. Мак иммуниза нием до Сравни четко вы инъекций, мунного животных пределах, свидетель цины [3] Полу зации ка ясниения з и периода фического однократн через 4 не ным опре серии опы

1	178,75	...	...
II	152,5	...	...
III	128,75	...	...
IV	97,5	257,5	...
V	65,0	177,5	...
VI	38,75	163,75	138,15
VII	23,75	136,25	90,92
VIII	7,5	42,5	40,53
IX	1486,25	2893,75	3238,64
X	8	8	18

(1:906) отмечен через неделю после окончания иммунизации с последующим постепенным снижением титра антител в течение 2 нед и резким спадом на 3-й и 4-й неделе после последней инъекции (до среднего титра 1:56).

Пятикратная иммунизация общей суммарной дозой 2,75 мг и интервалом между инъекциями 4—5 сут приводила к быстрому последовательному нарастанию титра антипротейных антител после каждой прививки. Максимальный титр был достигнут также через неделю после окончания иммунизации и составил 1:3880. Высокий титр антител сохранялся еще 2 нед, затем начал снижаться, но к началу

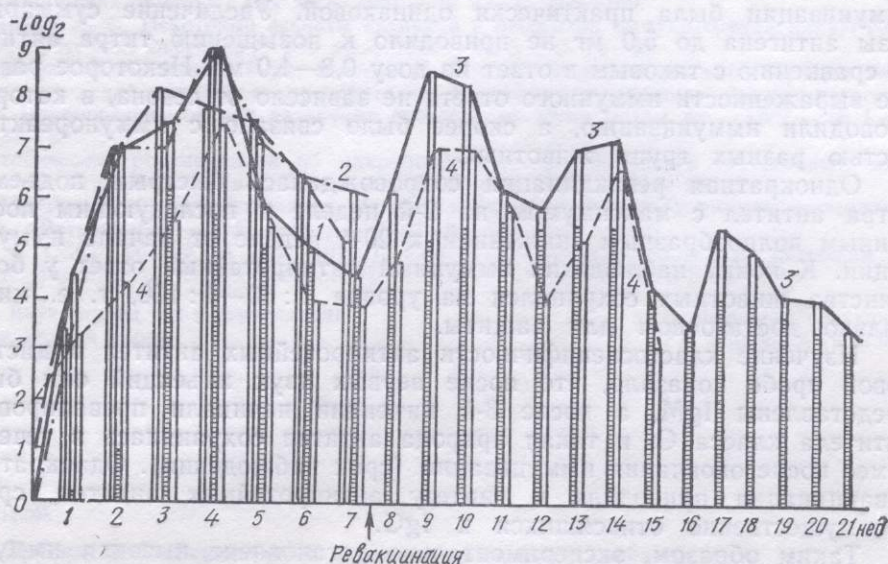


Рис. 2. Содержание и динамика антипротейных антител при трехкратной подкожной иммунизации кроликов.

2-го месяца после иммунизации все еще был достаточно высоким (средний титр 1:520). Различия между максимальным и минимальным титрами антител в I и II схемах иммунизации статистически достоверны ($P < 0,02$; $P < 0,001$ соответственно).

Трехкратная иммунизация суммарной дозой 1,0 мг и интервалом между инъекциями 6—7 сут вызывала также быстрое, но еще более интенсивное нарастание титра специфических антител, чем пятикратная. Максимальный титр регистрировали через 2 нед после окончания иммунизации, он составил 1:5120 с последующим постепенным снижением до 1:640 к концу 5-й недели после последней инъекции.

Сравнение эффективности трех различных схем иммунизации четко выявило преимущества трехкратной вакцинации по числу инъекций, продолжительности цикла, динамике и выраженности иммунного ответа. В то же время не отмечены изменения поведения животных. Показатели периферической крови находились в допустимых пределах, наблюдался прирост массы животных, расценивающийся как свидетельство отсутствия «хронической» токсичности протейной вакцины [3] (табл. 2 и 3).

Полученные результаты определили выбор трехкратной иммунизации как наиболее эффективной для более глубокого изучения: выяснения зависимости иммунного ответа от вводимой дозы антигена и периода года, а также изучения динамики и выраженности специфического иммунного ответа на ревакцинацию. Последнюю проводили однократно, в минимальной разовой дозе антигена (0,2 или 0,25 мг) через 4 нед после окончания иммунизации с последующим еженедельным определением титра сывороточных антител. Выполнено четыре серии опытов, в двух из них трехкратный курс иммунизации дополнен

реиммунизацией. Суммарные дозы антигена в иммунизации составляли 0,8—1,0 мг и 5,0 мг на животное. Иммунизацию проводили в зимне-весенний период (февраль—март), весенне-летний (май—июнь), летне-осенний (август—сентябрь), осенне-зимний (ноябрь—декабрь). Как показали результаты исследований (рис. 2: 1—1,25—1,25—2,5 мг, ноябрь; 2—0,2—0,2—0,4 мг, март; 3—0,25—0,25—0,5 мг, ревакцинация—0,25 мг, май—июнь; 4—0,2—0,2—0,4 мг, ревакцинация—0,2 мг, август—сентябрь; заштрихованная часть столбиков—титр антител после обработки солянокислым цистеином), во всех четырех сериях опытов динамика антителогенеза в период иммунизации и реиммунизации была практически одинаковой. Увеличение суммарной дозы антигена до 5,0 мг не приводило к повышению титра антител по сравнению с таковым в ответ на дозу 0,8—1,0 мг. Некоторое различие выраженности иммунного ответа не зависело от сезона, в который проводили иммунизацию, а скорее было связано с иммунореактивностью разных групп животных.

Однократная ревакцинация сопровождалась быстрым подъемом титра антител с максимумом на 2-й неделе и последующим постепенным волнообразным снижением к 20-й неделе от начала иммунизации. К концу наблюдения иммунный антипротейный ответ у большинства животных сохранялся на уровне 1:80—1:160, т. е. минимально достаточном для защиты.

Изучение классоспецифичности антипротейных антител в цистеиновой пробе показало, что после первых двух инъекций они были представлены IgM, а после 3-й инъекции начинали превалировать антитела класса G, и такая природа антител сохранялась в течение 1 мес после окончания иммунизации (срок наблюдения). Однократная ревакцинация приводила к синтезу антипротейных антител, сразу преимущественно относящихся к IgG.

Таким образом, экспериментально установлена высокая иммуногенность поливалентного протейного антигена при подкожном введении и отработана оптимальная схема иммунизации, позволяющая поддерживать в течение почти полугода достаточный ритм специфических антипротейных антител, представленных преимущественно IgG.

Выводы

1. Поливалентный протейный антиген с высоким содержанием Н-компонента индуцирует значительную выраженность специфического гуморального ответа организма.

2. Оптимальная схема иммунизации включает три подкожные инъекции полиантигена в дозе 0,25—0,25—0,5 мг с интервалом 7 сут и однократную реиммунизацию в дозе 0,25 мг через 1 мес после окончания вакцинации.

3. При иммунизации вырабатываются специфические антитела класса M, сменяющиеся после 3-й инъекции на IgG, сохраняющиеся до 6 мес от начала иммунизации (срок наблюдения).

L. V. Nazarchuk, S. I. Bidnenko, O. B. Lyutko, E. A. Fedorovskaya

EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF POLYVALENT PROTEUS ANTIGEN IMMUNOGENICITY

The experiments on 52 rabbits have been carried out to show the possibility to use Proteus antigen with high content of H-component (H1; H2; H3 Proteus antigens are most frequently found) for active immunization to make highly specific humoral immunity. The optimal scheme of immunization consists of 3 subcutaneous injections in doses of 0.25-0.25-0.5 mg of antigen within 7 days intervals and 0.25 mg dose of single revaccination. The duration of cycle immunization is 14 days.

Research Institute of Hematology and Blood Transfusion,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бидненко С. И. Серодиагностика и иммунологические аспекты протейной инфекции. Сообщ. 2. Сравнительное изучение гуморального иммунного ответа на цельную клетку протеев, их флагеллы и антигенные препараты различного спектра. Депонирована // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — № 4463—81. — МРЖ. — 1981. — № 12. — реф. 3787. — с. 14.
2. Зайцева Е. В., Левина Л. А. Протейный перитонит — бактериемия мышей — модель для изучения поствакцинального антипротейного иммунитета // Там же. — 1990. — № 7. — С. 74—78.
3. Крейнин Л. С., Каверина К. Г., Левина Л. А., Бутакова Л. Ю. Доклиническое изучение безвредности вакцинных препаратов. Определение токсичности лечебных вакцин в хронических опытах // Там же. — 1981. — № 9. — С. 106—109.
4. Крейнин Л. С. Некоторые аспекты активной и пассивной иммунотерапии хирургической протейной инфекции // Там же. — 1985. — № 5. — С. 19—25.
5. Кузьмина Л. А., Власов Г. С., Егорова Н. Б. и др. Экспериментальное изучение иммунологической активности препарата из антигенных комплексов условно-патогенных микроорганизмов при различных способах введения // Там же. — 1987. — № 1. — С. 59—63.
6. Методические рекомендации по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями / Татаринова С. Д. и др. — М., 1984. — 230 с.
7. Сайдулдин Т. С. Статистическая обработка результатов серологических исследований // Ветеринария. — 1981. — № 7. — С. 62—64.
8. А. с. СССР 908323, А 61В 10(00). Способ диагностики протейной инфекции // С. И. Бидненко, Д. Е. Дыховичная, Л. В. Опенько. — Оpubл. 1982, Бюл. № 8.

Киев. науч.-исслед. ин-т гематологии
и переливания крови

Материал поступил
в редакцию 19.12.90

УДК 612.323

В. А. Губкин, Т. В. Береговая, Б. С. Полинкевич, С. Д. Гройсман

Влияние различных видов ваготомий на гистаминовую желудочную секрецию у собак

В хронических экспериментах на собаках с фистулами фундального отдела желудка изучали влияние различных видов ваготомий (селективной проксимальной — СПВ, селективной дистальной — СДВ, подкардиальной — ПВ, селективной — СВ, экстрагастральной — ЭВ и стволовой — СтВ) на желудочную секрецию, стимулированную градуальными дозами гистамина (0,015—0,12 мг/кг, подкожно). Установлено, что частичная денервация желудка (СПВ, СДВ, ПВ) понижает секреторные ответы желудка, вызванные субмаксимальными и максимальными дозами гистамина. СВ и ЭВ не изменяют гистаминовую желудочную секрецию у собак. СтВ усиливает желудочную секрецию, стимулированную максимальной дозой гистамина. Ввиду того, что СВ и СтВ не понижают чувствительности желудочных желез к гистамину, а при парциальной денервации глубина угнетения гистаминовой секреции не зависит от зоны денервации, сделано предположение, что функциональные изменения, приводящие к данному феномену, происходят не в самих железах, а на другом регуляторном уровне. Этим уровнем, по-видимому, является интрамуральная нервная система, а точнее, мейснеровское сплетение.

Введение

В отличие от человека, у которого отмечено значительное угнетение секреторной реакции желудка на гистамин после СПВ [9], СВ [2, 10], СтВ [2, 6, 10], результаты, полученные на собаках, неоднозначны.

© В. А. ГУБКИН, Т. В. БЕРЕГОВАЯ, Б. С. ПОЛИНКЕВИЧ, С. Д. ГРОЙСМАН, 1991