

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

### STUDY OF LIPID METABOLISM ABNORMALITIES IN PSORIASIS PATIENTS

V.V. Vais

*SUMMARY. Gas chromatography results of blood serum lipids fatty acid structure in psoriasis patients*

*were described. Determined characteristic changes of lipid metabolism due to essential fatty acids content have to be taken into account during development of individual therapeutic strategy.*

© Колектив авторів, 2006  
УДК 61:612.017:615.371

### А.Ю. Волянський, Л.Л. Симиренко, І.Ю. Кучма, Ю.В. Никитченко, С.Л. Крестецька МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ СПЕЦИФІЧНОГО АНТИТІЛОГЕНЕЗУ ЗА УМОВ ІМУНІЗАЦІЇ ЩУРІВ АДП-АНАТОКСИНОМ

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, м. Харків

*Процес формування гуморальної імунної відповіді має особливості щодо специфічного антитілогенезу до дифтерійного та правцевого анатоксинів за умов імунізації інтактних 3-місячних самців щурів лінії Вістар АДП-анатоксином. Дозу 0,25 мл препарату, що містить 0,15 флокулюючих одиниць (ЛФ) дифтерійного та 5 антитоксинз'язувальних одиниць (ОЗ) правцевого анатоксинів, може бути обрано як мінімальну ефективну для моделювання імунної відповіді на АДП-анатоксин у подальших дослідженнях на експериментальних моделях з використанням щурів. Отримано експериментальні математичні моделі процесу специфічного антитілогенезу у динаміці імунної відповіді до АДП-анатоксину в дослідженому інтервалі значень.*

Відповідно до програми Європейського бюро ВООЗ «Здоров'я-XXI: основи політики досягнення здоров'я для усіх в Європейському регіоні ВООЗ», головним завданням на перші десятиліття XXI століття слід вважати, поряд з іншими, ліквідацію правця немовлят, кору, а одним із пріоритетних – боротьбу із захворюваністю на дифтерію. Завдання ерадикації правця новонароджених в Україні виконано [1], а показник захворюваності на дифтерію знижується протягом останніх 5 років [2]. Однак слід відзначити, що достатньо надійного контролю за імунізацією щодо дифтерії в постепідемічний період досягти не вдалось. Адже на тлі різкого зниження захворюваності підвищується

роль носіїв коринебактерій дифтерії, які підтримують існування цієї інфекції. Фахівці вважають за доцільне розглядати збільшення носійства нетоксигенних штамів збудника дифтерії індикатором напруженості епідемічного процесу [3]. Особливо актуально залишається профілактика інфекційних захворювань в ослаблених дітей та людей похилого віку. Незважаючи на високі показники охоплення активною імунізацією проти дифтерії, діти 7-14 та 3-6 років є найбільш ураженими групами населення в постепідемічний період [3]. Таким чином, виявилось, що і в умовах масової імунізації можливе повернення керованих інфекцій, якщо число щеплених опускається нижче критичного рівня. Доведено можливість відновлення контролю над ситуацією шляхом повного охоплення населення щепленнями (у Росії й Україні вказане підтверджено як на прикладі дифтерії, так і поліомієліту). На підставі аналізу епідемічного процесу щодо дифтерії в Україні в цілому, провідні вчені вважають, що досі у державі зберігається досить високий рівень захворюваності на неї [1-4]. Вказане потребує подальшого удосконалення системи боротьби з цією інфекцією. Трирічний імунологічний моніторинг (1995-2004 рр.) визначив спад напруженості популяційного імунітету до правця у населення України з віддаленим періодом масової активної імунізації. У віковому аспекті правець сьогодні в країні є хворобою людей похилого віку [4].

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Існування населення нашої країни в умовах забрудненого середовища та високого рівня соціального психоемоційного навантаження створює підвищені вимоги до адаптаційних систем організму для соціальної та екологічної адаптації. Особливості епідемічного процесу тісно пов'язані зі станом загальної резистентності організму. Зниження ефективності профілактичних вакцинацій та рівня колективного імунітету значною мірою може бути пов'язано зі змінами у фізіологічному стані організму на тлі порушень функції окремих ланок ендокринної системи, віковим виснаженням загальних адаптаційних систем.

Для подальших досліджень особливостей імунного процесу за вказаних умов в експерименті з використанням щурів розроблено модель формування антитоксичної імунної відповіді до дифтерійного та правцевого анатоксинів у 3-місячних щурів лінії Вістар. Щури належать до лабораторних тварин, які поряд з іншими раціонально використовувати для створення експериментальних моделей при вивченні особливостей вакцинального процесу [5-7].

### Матеріали і методи

Особливості формування специфічного антитілогенезу за умов імунізації досліджено на інтактних 3-місячних самцях щурів лінії Вістар. Тварин імунізовано адсорбованим дифтерійно-правцевим (АДП) анатоксином – *Anatoxinum diphthericocotanicum purificatum adsorptum fluidum*. Міжнародна непатентована назва – *Diphtheria and Tetanus Toxoids Adsorbed (DT Adsorbed)*. Препарат складається із суміші очищених дифтерійного та правцевого анатоксинів, адсорбованих на гідроксиді алюмінію, і має в 1 мл 60 ЛФ дифтерійного та 20 ОЗ правцевого анатоксинів. Експеримент проводили на 12 групах тварин: 1-а та 2-а групи – контрольні, отримували 0,25 та 0,5 мл фізіологічного розчину відповідно; 3-12-а групи – дослідні. Щурам 3-7-ї груп вводили вакцину в дозі 15 ЛФ дифтерійного та 5 ОЗ правцевого анатоксинів у 0,25 мл розчину; щурам 8-12-ї груп вводили вакцину в дозі 30 ЛФ дифтерійного та 10 ОЗ правцевого анатоксинів у 0,5 мл розчину. Вакцину вводили одноразово, підшкірно, о 10-й годині ранку. Кожна група складалася з трьох тварин. Динаміку розвитку імунної відповіді досліджували до імунізації та через 3, 7, 14, 21 та 28 діб після щеплення. Кров для аналізу відбирали при декапітації тварин. Антитіла до дифтерійного та правцевого токсинів визначали у сироватці крові в реакції пасивної гемаглютинації за допомогою стандартного комерційного «Діагностикуму еритроцитарного дифтерійного антигенного рідкого», серія 59-63 з активністю 1:3200, та «Діагностикуму еритроцитарного правцевого антигенного рідко-

го», серія 44-608 з активністю 1:1280, 1:2800, виготовлених АОВТ «Біомед» ім. І.І. Мечникова. Автори вдячні Н.А. Цейтліну за участь у статистичній обробці результатів дослідження.

### Результати досліджень та їх обговорення

Формування імунної відповіді в інтактних 3-місячних щурів лінії Вістар за умов щеплення АДП-анатоксином відрізнялося як за особливостями специфічного антитілогенезу до дифтерійного та правцевого анатоксинів, так і залежністю від дози препарату. Антидифтерійну імунну відповідь на щеплення у дозі 0,25 мл препарату визначено з 14-ї доби після імунізації (0,007 МО/мл). Максимального рівня концентрація аглютининів досягла до 21-ї доби (1,0 МО/мл), після чого поступово знижувалася до 0,125 МО/мл до 28-ї доби. При підвищенні дози анатоксинів до 0,5 мл препарату ініціювання процесу антитілогенезу починалося на два тижня раніше. Аглютиніни з'являлися у крові, починаючи з 3-ї доби після імунізації (0,007 МО/мл), але досягали максимального рівня також до 21-ї доби після щеплення (1,0 МО/мл), після чого знижувалися до 28-ї доби. Формування антитоксичної імунної відповіді до правця суттєво не залежало від дози препарату, антитіла було визначено на 14-у добу, після чого їх рівень зростав однаково в обох групах тварин і досягав 2,0 МО/мл на 28-у добу після щеплення.

Статистична обробка даних дослідження проведена методом лінійного регресійного аналізу [8]. Метою математичного опису процесу було отримання емпіричних математичних моделей інтерполяції процесу специфічного антитілогенезу в динаміці імунної відповіді залежно від дози імуногену. У свою чергу, ці моделі дозволяють здійснити і наближену екстраполяцію процесу в певному інтервалі значень.

Доза препарату – АДП-анатоксину (Д) має два рівні варіювання (0,25 та 0,5 мл), а термін після імунізації (t) – більше двох, тому зміни у рівні антитоксичних антитіл протягом формування імунної відповіді можливо апроксимувати поліномом (U) першого ступеню відносно Д і третього ступеню відносно t з парою взаємодій:

$$AT = E(U_{AT}); U_{AT} = b_0 + b_1 D + b_2 t + b_3 t^2 + b_4 t^3 + b_5 Dt + b_6 Dt^2; \quad (1)$$

де AT – концентрація антитіл (протибифтерійних – АТД або протиправцевих – АТП, МО/мл);  $E(U_{AT})$  – функція аргументу  $U_{AT}$ , що набуває значення:  $E(U_{AT}) = 0$ , коли поліном  $U_{AT} < 0$  та  $E(U_{AT}) = U_{AT}$ ,

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

коли  $U_{ATi}0$ ;  $b_i$  ( $i = 0, 1, \dots, 6$ ) – емпіричні коефіцієнти регресії.

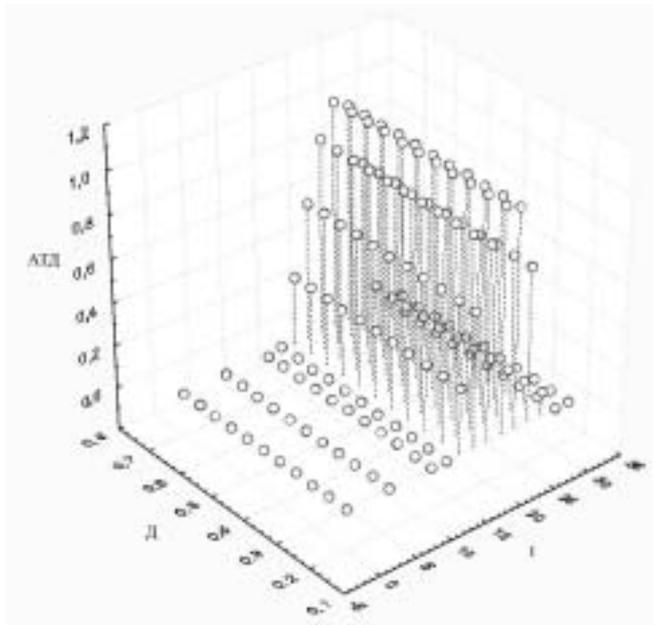
Аналіз результатів досліджень дозволив отримати емпіричні функції регресії (ЕФР). Для зміни концентрації протидифтерійних антитіл після імунізації АДП-анатоксином:

$$ATD = E (3,77 + 0,0758D - 0,950t + 0,0679t^2 - 0,00138t^3 - 0,00295Dt); \quad (2)$$

середньоквадратичне відхилення останньої похибки поліному  $S_{ATD} = 0,005$  МО/мл. Зміни рівня протидифтерійних АТ протягом формування імунної відповіді на  $R^2 = 81\%$  ( $P < 0,001$ ) пов'язані зі змінами терміну після щеплення і на  $19\%$  – із впливом інших, неврахованих факторів.

Для зміни концентрації протиправцевих антитіл після імунізації АДП-анатоксином:

$$ATP = E (0,042891 - 0,066771t + 0,004929t^2 + 0,103841Dt - 0,003831Dt^2); \quad (3)$$



Мал. 1. Протидифтерійна імунна відповідь на щеплення щурів АДП-анатоксином.

Примітки (тут і далі): АТД – протидифтерійні антитіла, МО/мл; Д – доза АДП-анатоксину, мл; t – термін після імунізації, доби.

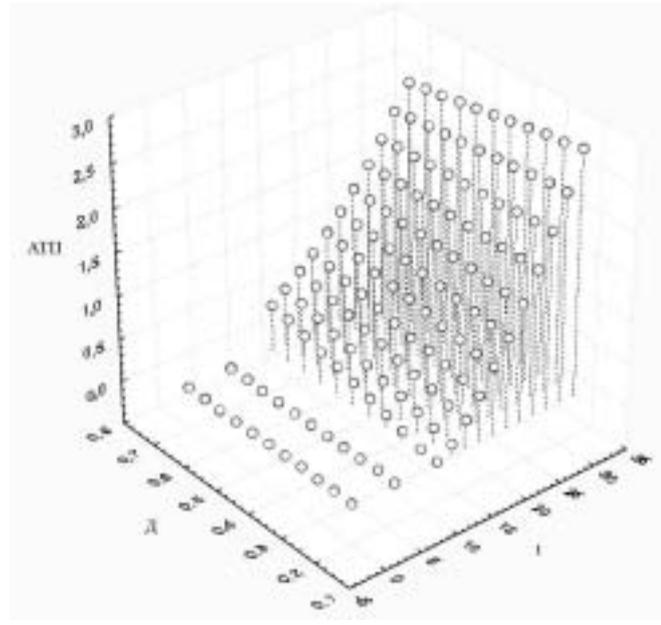
Значення концентрації протидифтерійних антитіл практично не залежать від дози препарату, а залежать лише від терміну після імунізації. У свою чергу, значення концентрації протиправцевих антитіл достовірно залежать від дози препарату лише при малих термінах після імунізації.

Для побудови моделі імунного процесу за умов імунізації необхідне визначення мінімальної ефек-

$S_{ATP} = 0,14$  МО/мл. Зміни рівня протиправцевих АТ протягом формування імунної відповіді на  $R^2 = 97\%$  ( $P < 0,001$ ) пов'язані зі змінами терміну після щеплення і на  $3\%$  – з впливом інших, неврахованих факторів.

Область визначення отриманих моделей обмежена даними експерименту:  $0,25 < D < 0,5$  мл та  $0 < t < 28$  діб. Висока точність рівнянь (2) і (3) ілюструється значеннями виміряних і розрахованих величин.

Висока точність отриманих ЕФР (2) і (3) дозволяє інтерполяцію показників антитоксичної імунної відповіді, що обмежується діапазоном  $0,25 < D < 0,5$  мл та  $0 < t < 28$  діб, та екстраполяцію, що обмежується діапазоном  $0,22 < D < 0,25$  мл,  $0,5 < D < 0,55$  мл та  $28 < t < 30$  діб. Дані табулювання результатів інтерполяції та екстраполяції рівня специфічного анти-тілогенезу відображено на мал. 1, 2.



Мал. 2. Протиправцева імунна відповідь на щеплення щурів АДП-анатоксином.

Примітка. АТП – протиправцеві антитіла, МО/мл.

тивної дози препарату для максимального зниження антигенного навантаження. Отже, в дослідженому інтервалі значень дозу  $0,25$  мл, що містить  $15$  ЛФ дифтерійного та  $5$  ОЗ правцевого анатоксинів, може бути обрано за мінімальну ефективну для моделювання імунної відповіді на АДП-анатоксин у подальших дослідженнях. Ця доза становить  $0,5$  дози препарату для дітей при першому щепленні.

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Відомо, що розробка ефективних схем імунізації тривала й потребує значних витрат, тому отримані регресійні рівняння раціонально використовувати як експериментальні математичні моделі для прогнозу рівня специфічного антитілогенезу у динаміці формування імунної відповіді в дослідженому інтервалі значень ( $0,25 < D < 0,5$  мл та  $0 < t < 28$  діб) за умов щеплення щурів АДП-анатоксином.

### Висновки

1. Формування гуморальної імунної відповіді має особливості щодо специфічного антитілогенезу до дифтерійного та правцевого анатоксинів за умов імунізації інтактних 3-місячних самців щурів лінії Вістар АДП-анатоксином.

2. Дозу 0,25 мл препарату, що містить 15 ЛФ дифтерійного та 5 ОЗ правцевого анатоксинів, може бути означено за мінімальну ефективну для моделювання імунної відповіді на АДП-анатоксин у подальших дослідженнях імунної відповіді на експериментальних моделях з використанням щурів.

3. Динаміку формування специфічної імунної відповіді залежно від дози АДП-анатоксину означено регресійними рівняннями, за допомогою яких можна визначати активність антитілогенезу за даними дози вакцини та терміном після імунізації у дослідженому часовому інтервалі.

### Література

1. Колеснікова І.П. Реалізація в Україні 7-ої задачі програми Європейського бюро ВООЗ "Health for All, XXI" // Вакцинопрофілактика керованих інфекцій та її безпека: Тези доповідей наук.-практ. конф. (13-14 квітня 2006 р.). – Київ, 2006. – С. 11-12.

2. Красюк Л.С., Брижата С.І., Алаєва О.М. та ін. Характеристика епідемічного процесу дифтерії в м. Києві на сучасному етапі // Там само. – Київ, 2006. – С. 86-87.

3. Гладка О.А., Тарасюк О.О., Мотика О.І., Слесарчук О.М. Характеристика епідемічного процесу дифтерійної інфекції в Україні в умовах зниження захворюваності // Там само. – Київ, 2006. – С. 84-85.

4. Чумаченко С.С., Гладка О.А., Тарасюк О.О., Слесарчук О.М. Епідеміологічні особливості правця в Україні через 10 років після масової активної імунізації населення // Там само. – Київ, 2006. – С. 100-101.

5. Mountzouros K.T., Belanger K.A., Howell A.P. et al. A glycoconjugate vaccine for *Neisseria meningitidis* induces antibodies in human infants that afford protection against meningococcal bacteremia in a neonate rat challenge model // *Infect. Immun.* – 2002. – V. 70, N 12. – P. 6576-6582.

6. Carrera M.R., Ashley J.A., Zhou B. et al. Cocaine vaccines: antibody protection against relapse in a rat model // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – V. 97, N 11. – P. 6202-6206.

7. Van der Ven L.T., van den Dobbels G.P., Nagarajah B. et al. A new rat model of otitis media caused by *Streptococcus pneumoniae*: conditions and application in immunization protocols // *Infect. Immun.* – 1999. – V. 67, N 11. – P. 6098-6103.

8. Цейтлин Н.А. Из опыта аналитического статистика. – Харьков: Константа, 2005. – 427 с.

### THE ACTIVITY OF SPECIFIC ANTIBODY GENESIS DURING THE ADT-ANATOXIN IMMUNIZATION

A.Yu. Volyansky, L.L. Symyrenko, I.Yu. Kuchma, Yu.V. Nykytchenko, S.L. Krestetska

*SUMMARY. The anti-diphtheria and anti-tetanus antibody genesis characteristics of intact male rats, aged 3 months, line Wistar, that were immunized with different anatoxin doses were discovered. The dose of 0,25 ml, that contained 0,15 LF of diphtheria and 5 UL tetanus toxins, can be chosen as the minimal effective dose for the anti-ADT-anatoxin immune response simulation in the further studies with rat models. The regressive models of specific antibody genesis in the dynamics of anti-ADS-anatoxin immune response were obtained.*