



РЕАКЦИИ НЕПРЯМОЙ ГЕМАДСОРБЦИИ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ

Маматова Муборак Нурпулатовна,
профессор СамГМУ

Абдуллаев Азамат Самадуллоевич,

Эшпулатов Бехруз Ризаматович,

Отамуродов Одил Содикович,

врач лаборант

**Самаркандский Государственный Медицинский Университет, Самарканд,
Узбекистан**

Аннотация: Результаты экспериментов показали, что даже кратковременная обработка клеток антигеном, примененным для иммунизации животного, привела к значительному угнетению реакции непрямой гемадсорбции (число клеток с прилипанием эритроцитов в контроле - 1,7%, в опыте 0,45%). Причем это не было следствием токсического повреждения клеток, так как при обработке их неспецифическим КА число активных клеток по сравнению с контролем увеличилось. Следовательно, РНГ обусловлена взаимодействием антител, синтезируемых клеткой, с антигеном, находящимся на поверхности эритроцитов.

Ключевые слова: Антиген, гемадсорбция, синтез, эритроциты.

INDIRECT HEMADSORPTION REACTIONS DURING IMMUNIZATION

Mamatova Muborak Nurpulatovna,

Professor, Samarkand State Medical University

Abdullaev Azamat Samadulloevich,

Eshpulatov Behruz Rizamatovich,

Otamurodov Odil Sodikovich,

Laboratory Physician

Samarkand State Medical University, Samarkand, Uzbekistan

Abstract: The experimental results showed that even short-term treatment of cells with the antigen used for animal immunization led to a significant suppression of the indirect hemadsorption reaction (the percentage of cells with adhered erythrocytes was 1,7% in the control group and 0.45% in the experimental group). Importantly, this effect was not due to toxic damage to the cells, since treatment with a nonspecific CA resulted in an increased number of active cells compared to the control. Therefore, the indirect hemadsorption reaction is due to the interaction of antibodies synthesized by the cell with the antigen located on the surface of erythrocytes.

Keywords: Antigen, hemadsorption reaction, synthesized, erythrocytes.

IMMUNIZATSIYA PAYTIDA BILVOSITA GEMADSORBSIYA REAKSIYALARI

Mamatova Muborak Nurpulatovna,

SamDTU professori

**Abdullayev Azamat Samadulloyevich,
Eshpulatov Behruz Rizamatovich,
Otamurodov Odil Sodikovich,**
laboratoriya shifokori

Samarqand Davlat Tibbiyot Universiteti, Samarqand, O'zbekiston

Annotatsiya: Tajribalar natijalari shuni ko'rsatdiki, hayvonni immunizatsiya qilish uchun qo'llanilgan antigen bilan hujayralarga hatto qisqa muddatli ishlov berish ham bilvosita gemadsorbsiya reaksiyasining sezilarli darajada susayishiga olib kelgan (nazoratda eritrotsitlar yopishgan hujayralar soni – 1,7%, tajribada esa – 0,45%). Bunda bu holat hujayralarning toksik shikastlanishi oqibati emasligi aniqlandi, chunki ularga nospetsifik KA bilan ishlov berilganda faol hujayralar soni nazoratga nisbatan ortgan. Demak, RNG hujayra tomonidan sintez qilinayotgan antitanachalarning eritrotsitlar yuzasida joylashgan antigen bilan o'zaro ta'siri bilan bog'liq.

Kalit so'zlar: antigen, gemadsorbsiya, sintez, eritrotsitlar.

Введение. В последние годы предложено несколько методов изучения синтеза антител одиночными лимфоидными клетками. В период исследования было замечено, что в ряде случаев эритроциты, сенсibilизированные бактериальными гаптенами, плотно прикрепляются к поверхности одиночных клеток, изолированных из лимфатических узлов иммунизированных животных. Этот феномен использовали для разработки нового метода изучения образования антител одиночными клетками - реакции непрямой гемадсорбции (РНГ) [1, 2, 7]. Результаты изучения основных свойств этой реакции показали, что по чувствительности она не уступает реакции прилипания подвижных бактерий [3, 4], а по специфичности превосходит ее и особенно реакцию прилипания неподвижных микроорганизмов.

Цель и методы исследования. Целью настоящей работы было выяснение природы и характеристика условий РНГ.

Основные опыты проводили на белых крысах весом 200-250 г. Кроме того, использовали белых мышей весом 18-20 г, морских свинок весом 250-300 г и кроликов весом 2-2,5 кг. Животных иммунизировали 1 или 2 раза с перерывом между инъекциями 3-4 недели. Крысам, кроликам и морским свинкам антигены вводили под кожу подошвенной поверхности обеих задних лап, мышам - под кожу нижней трети бедра. Животных забивали на 5-й день после последней инъекции антигена. Извлекали лимфатические узлы, дренирующие место введения антигена (паховые у мышей, подколенные у остальных видов животных), и готовили из них взвеси изолированных клеток на сбалансированном солевом [5, 6] или других растворах, которые будут названы ниже. Осадок отмытых клеток разводили в отношении 1:8.

Животных иммунизировали комплексным антигеном (КА) сальмонелл Абердин, экстрагированным по методу Буавена. Доза КА на 1 инъекцию для крыс и морских свинок была 0,1 мг, для кроликов - 0,15 мг, а для мышей - 0,05 мг.

Суточную агаровую культуру сальмонелл смывали с чашки 5 мл физиологического раствора и кипятили на водяной бане 1½/часа. Бактерии осаждали центрифугированием при 10000 об/мин 15 мин. Надосадочную жидкость хранили при 4° в течение 2-3 месяцев и использовали для сенсibilизации эритроцитов. Одну часть осадка из трижды отмытых эритроцитов соединяли с 10 частями сенсibilизирующего антигена. Смесь инкубировали 1 час при 37° на водяной бане, дважды отмывали и из осадка готовили 5% суспензию на том же растворе, который применяли для получения взвеси клеток.

Техника выполнения РНГ. Смесь клеток и эритроцитов выдерживали при комнатной температуре 30 минут или в других условиях, которые будут описаны ниже. Предметное стекло покрывали слоем вазелинового масла. Небольшое количество смеси клеток с эритроцитами наносили тонко оттянутой пастеровской пипеткой на стекло под слой масла и излишек отсасывали той же пипеткой. Препарат накрывали покровным стеклом и изучали под микроскопом с применением иммерсионной фазово-контрастной оптики.

Как известно, одной из основных особенностей иммунных реакций является необходимость присутствия электролитов в среде. В среде, содержащей электролиты, из 7084 клеток выявлено 125 с прилипанием эритроцитов (-1,7%), а при изучении 15860 клеток в среде с изотоничным раствором сахарозы найдено только 5 таких клеток (-0,03%). Таким образом, в этом отношении РНГ не отличается от других иммунологических тестов.

Во II серии опытов изучали специфичность этой реакции. Взвесь клеток от крыс, дважды иммунизированных КА Абердин, делили на 3 порции. Первую из них в течение 5 минут при комнатной температуре инкубировали с КА Абердин, растворенным в сбалансированном солевом растворе (1 мг в 1 мл), и однократно отмывали. Вторую порцию таким же образом обрабатывали КА сальмонелл Церро. Третья порция оставалась без обработки (контрольная). После обработки изучали взаимодействие клеток с сенсibilизированными эритроцитами.

Результаты экспериментов показали, что даже кратковременная обработка клеток антигеном, примененным для иммунизации животного, привела к значительному угнетению реакции непрямой гемадсорбции (число клеток с прилипанием эритроцитов в контроле - 1,7%, в опыте 0,45%). Причем это не было следствием токсического повреждения клеток, так как при обработке их неспецифическим КА число активных клеток по сравнению с контролем увеличилось. Следовательно, РНГ обусловлена взаимодействием антител, синтезируемых клеткой, с антигеном, находящимся на поверхности эритроцитов [8, 10].

Важнейшим условием иммунных реакций является выбор оптимальной температуры, экспозиции, состава среды и ее pH. С целью определения этих показателей проведены опыты на 12 крысах, распределенных на 4 равных групп. Клетки, выделенные от животных каждой группы, объединяли вместе, делили на число порций, соответствующее числу вариантов опыта, и наблюдали их взаимодействие с сенсibilизированными эритроцитами. При изучении влияния температуры и экспозиции отмывание и разведение клеток и эритроцитов производили по принятой методике, а при определении воздействия на чувствительность РНГ состава и реакции среды (табл. 1) - теми растворителями, которые соответствовали условиям опытов.

Таблица 1

Влияние pH и состава среды на чувствительность реакции непрямой гемадсорбции

Среда	Число изученных клеток	Число выявленных клеток-продукторов	
		абс.	%
Буферный фосфатный раствор с pH 7,8	4500	60	1,3
Буферный фосфатный раствор с pH 7,2	4610	72	1,6

Буферный фосфатный раствор с pH 6,8	4500	69	1,5
Буферный фосфатный раствор с pH 6,4	4660	73	1,7
Солевой раствор +10% инактивированной адсорбированной крысиной сыворотки (pH 7,2)	4100	65	1,6
Солевой раствор -30% инактивированной адсорбированной крысиной сыворотки (pH 7,2)	4700	83	1,9
Сбалансированный солевой раствор (pH 7,2)	4520	80	1,6
Физиологический раствор (pH 6,4)	5000	91	1,8

РНГ уже при обычной комнатной температуре проходит довольно быстро. В случае необходимости может быть использована и температура рефрижератора. В противоположность этому при 37° уже через 5 минут клетки вместе с эритроцитами образовывали большие конгломераты недоступные для микроскопического изучения. Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что РНГ не особенно чувствительна к составу реакционной среды.

Некоторые авторы [9, 11] изучали возможность применения в реакции непрямого гемагглютинации эритроцитов человека и различных животных. Представлялось целесообразным изучить этот же вопрос и в отношении РНГ.

Лучшие результаты получены с эритроцитами барана (1,7%) и морской свинки (1,7%) по сравнению с эритроцитами человека, лошади, кролика, собаки, мыши (1,2-1,4%).

Вследствие высокой чувствительности, доступности и устойчивости при хранении в консерванте мы считаем целесообразным применение в качестве тест-антигенов для РНГ сенсibilизированных эритроцитов барана.

Таблица 2

**Применение реакции непрямого гемадсорбции для изучения синтеза антител
одиночными клетками различных лабораторных животных**

Животные	Число изученных клеток	Число выявленных клеток-продуторов	
		абс.	%
Морские свинки	7010	38	0,54
Кролики	5950	36	0,6
Мыши	7050	39	0,57

В последней серии опытов была поставлена задача выяснить возможность использования РНГ при изучении синтеза антител лимфоидными клетками, выделенными от основных видов лабораторных животных. В эти эксперименты были включены мыши, кролики и морские свинки. Иммунизацию производили однократно (табл. 2).

В результате этих опытов установлено, что РНГ можно использовать для изучения образования антител в лимфатических узлах разных видов лабораторных животных.

Выводы

1. Реакция непрямой гемадсорбции представляет собой иммунологический тест, механизм которого состоит во взаимодействии антител, синтезируемых одиночными клетками иммунного животного, с антигеном, адсорбированным на поверхности эритроцитов.

2. Оптимальными условиями протекания реакции являются применение в качестве носителя антигенов эритроцитов барана и инкубация клеток с сенсibilизированными эритроцитами в течение 30 минут при комнатной температуре.

3. Реакция непрямой гемадсорбции может быть использована для изучения синтеза антител одиночными клетками, выделенными от различных видов животных.

Использованные литературы:

1. Маматова М.Н. Гистологическая диагностика неэффективного эритропоэза // Ж. Бухоро Т.И. Тиббиётда янги кун. 2024, 7 (69).

2. Кадиров Ж.Ф., Ризаев Ж.А., Маматова М.Н. и др. Влияние полиморфизма RS8084 гена HLA-DRA на течение ВИЧ1 инфекции // Журнал теоретической и клинической медицины. Ташкент, - 2025, С. 11-17.

3. Шайкулов Х.Ш., Исокулова М.М., Маматова М.Н. Степень бактериоциногенности антибиотикорезистентных штаммов стафилококков, выделенных в Самарканде // Eurasian journal of medical and natural sciences. 2023, № 3(1).

4. Мамедова Л.Т. Факторы прогноза и отдаленные результаты лечения рака шейки матки // Вестн. РОНЦ им. Н. Блохина РАМН. 2002, №2.

5. Муродхужаев Н., Худойкулов Т., Жураев М. Онкология // Тошкент, Абу Али Ибн Сино номидаги тиббиёт нашриёти. 2002, 241-246 б.

6. Нечушкина В.М., Кузнецов В.В., Лазарева Н.И., Морхов К.Ю. Современные представления о лечении рака тела матки // Сибирский онкологический журнал. 2007. Источник: cyberleninka.ru.

7. Козаченко В. П. Клиническая онкогинекология: руководство // 2-е изд., перераб. и доп. – Москва: БИНОМ, 2016.

8. Руководство по ранней диагностике рака [Guide to cancer early diagnosis] // Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2018. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

9. Oboskalova T.A., Kononova I.N., Voroshilina E.S., Kuzina T.V. The effectiveness of rehabilitation measures after destructive methods of scratching in patients with cervical pathology associated with human papillomavirus infection // Obstetrics and gynecology. 2012, No. 2. P- 86-89.

10. International Conference on Advance Research in Humanities, Applied Sciences and Education Hosted from New York, USA <https://conferencea.org> October, 28th 2023, 34.

11. Machida H., Blake E.A., Eckhardt S.E. et al., Trends in single women with malignancy of the uterine cervix in United States. // J Gynecol Oncol. 2018 Mar;29(2): e24. doi: 10.3802/jgo.2018.29. e24. Epub 2017 Dec 27.