

УДК 57.083.3



В.В. Яворський

Імунологічна реактивність у первинних і кадрових донорів залежно від донорського стажу

Харківська медична академія післядипломної освіти

Ключові слова: імунологічна резистентність, донори плазми.

Дослідження імунної системи при хронічній донації плазми показали, що на першій і сьомий день констатується зниження функціональної й метаболічної активності нейтрофілів на 30-й і 120-й хвилині, тоді як функціональна активність моноцитів різко збільшується, що підтверджено наявністю негативного взаємозв'язку ФЧМ30—ФЧН30 ($r = -0,8$) [2]. Поглинальна й перетравна здатність як нейтрофілів, так і моноцитів на 30-й і 120-й хвилині перевищувала показники донорів. Бактерицидна активність уже в першу добу була зниженою. На 21-й день показники нейтрофільної ланки на 30-й і 120-й хвилині залишалися незмінними, тимчасом як із боку моноцитів відзначено зниження функціональної активності й різке зменшення перетравної здатності на 30-й хвилині, тобто виявлено порушення процесів переробки й подання антигену та зниження кількості клітин, спеціалізованих на цій функції [5]. Можливо, подібне зниження активності факторів неспецифічної резистентності — необхідна умова, яка виконує роль сигналу до подальшого включення адаптаційних процесів, спрямованих на компенсацію клітинного дефіциту [4].

За даними Є.А. Селіванова [2], вплив плазмодонорства на Т-клітинний імунітет, а саме на CD4 (Т-хелпери), відіграє важливу роль у реалізації імунної відповіді. У результаті застосування плазмодонорства відбувається незначне пригнічення CD4+—лімфоцитів, значне зниження абсолютного й відносного вмісту клітин CD4+, а також імунорегуляторного індексу (співвідношення CD4/ CD8), який характеризує клітинну систему імунітету [5]. Водночас при введенні чужорідних компонентів крові підвищуються концентрації IgG, IgA, IgM, тобто відбувається напруження гуморальної ланки системи імунітету. Натомість плазмодонорство не викликає вироблення IgG — після плазмодонорства спостерігається пригнічення Т-клітинного імунітету за рахунок знижен-

ня субпопуляції клітин CD4+ на тлі напруження гуморального імунітету за рахунок імуноглобулінів класів G, A, M [6].

Крім того, у клінічному дослідженні А.П. Ржанович [1] виявлено, що екстракція плазми призводила до підвищення рівня Т-хелперів, Т-супресорів та Т-кілерів, зниження рівня ЦІК, підвищення концентрації IgA та IgG ($p < 0,05$). Тобто однозначних даних щодо імунологічної реактивності в первинних і кадрових донорів залежно від донорського стажу дотепер не існує.

Мета роботи — визначення імунологічної реактивності в первинних і кадрових донорів залежно від донорського стажу.

Матеріали та методи

На базі Харківського обласного центру служби крові було здійснено клінічне дослідження із залученням 36 донорів плазми всіх груп крові за системою АВ0 віком ($40,7 \pm 1,1$) року із донорським стажем ($5,8 \pm 2,4$) року; серед учасників було 12 (33,3 %) жінок і 24 (66,7 %) чоловіків.

Автоматичний плазмаферез виконували на апараті AUTOPHERESIS-C фірми Baxter (США) методом мембранної фільтрації. Об'єм заготовленої плазми становив ($750,0 \pm 55,0$) мл за один сеанс. Інтервали між донаціями — 14, 21, 28 та 45 діб, між циклами — 30, 60, 90 діб, кількість циклів — 1, 2, 3, 4, кількість донацій — 4, 5, 6. Дослідження проводили в сім етапів: під час першої плазмадочі, через три, шість, дев'ять, дванадцять, п'ятнадцять та вісімнадцять місяців.

Залежно від донорського стажу учасників дослідження поділили на дві групи: I група — первинні донори ($n = 15$), II група — кадрові донори ($n = 21$). Кожну групу дослідження було розділено на три підгрупи: I⁴ і II⁴ — чотири донації, I⁵ і II⁵ — п'ять донацій та I⁶ і II⁶ — шість донацій відповідно.

За допомогою двоколірної проточної лазерної цитометрії з використанням моноклональних антитіл (Caltag laboratories, США) проводили

фенотипування популяції Т-лімфоцитів із визначенням відносного та абсолютного вмісту в крові Т-лімфоцитів (CD3+19-), субпопуляції Т-хелперів/індукторів — CD4+8- і Т-супресорів/кілерів — CD4-8+. Для оцінки їх активності використовували показник інтенсивності флуоресценції (ІФ). Фагоцитарну активність нейтрофілних гранулоцитів та моноцитів периферичної крові та нейтрофілів визначали за їхньою здатністю до поглинання часток латексу (підраховували показник фагоцитозу (ПФ — кількість фагоцитарних клітин) і фагоцитарне число (ФЧ — показник активності кожної окремої клітини)) та рівнем кисень-залежного метаболізму, який оцінювали в НСТ-тесті.

Для обробки отриманих результатів використовували нестационарний нейромезовий аналіз головних компонент, в основі якого лежить алгоритм навчання нейронної мережі Т. Сенгера, що забезпечує компроміс між властивостями фільтрування та стеження процедур обчислення головних компонент нестационарних масивів даних. Застосування інших традиційних методів статистичної обробки не дає змоги визначити закономірності впливу донації плазми.

Результати та обговорення

Аналіз отриманих даних як у кадрових, так і в первинних донорів не виявив достовірних відмінностей від нормальних значень (табл. 1). При

цьому слід відзначити тенденцію до зниження порівняно з первинними донорами рівня абсолютного вмісту Т-, В- і нульових лімфоцитів у крові відповідно на 17,4, 8,5 і 7,7 %. Зміна відсоткового співвідношення субпопуляції Т-лімфоцитів відбулася на недостовірному збільшенні порівняно з контролем індексу імунорегуляції (на 13,2 %; $p = 0,0000485$), який, однак, був істотно нижчим за аналогічний показник у кадрових донорів (на 18,5 %; $p = 0,0000368$). Іншою відмінністю імунної відповіді через дев'ять місяців від початку першої донації мікст був достовірно нижчий рівень відсоткового та абсолютного вмісту в крові активних розеткоутворювальних клітин порівняно з відповідними показниками в первинних донорів (на 20,4 %; $p = 0,0008264$ і 20,0 %; $p = 0,00001928$).

Через рік від початку первинної донації в кадрових донорів спостерігалось достовірне відносно нормального значення зниження в крові абсолютної кількості Т-лімфоцитів (на 17,4 %; $p = 0,00001179$) і недостовірне — В-лімфоцитів (на 12,7 %; $p = 0,0000183$) та нульових клітин (на 9,6 %; $p = 0,00009981$). При цьому відзначалося несуттєве зростання порівняно з контролем і попереднім етапом спостереження відсоткового вмісту в крові теофілінрезистентних Т-лімфоцитів і достовірно нижчі цифри щодо вихідного рівня відносного вмісту теофілінрезистентних Т-лімфоцитів (на 30,9 %; $p = 0,0000998$). Унаслідок

Таблиця 1

Динаміка розеткоутворювальних клітин у групах дослідження

Показник	Теофілінрезистентні Т-лімфоцити		Теофілінчутливі розетки		Індекс імунорегуляції	Розеткоутворювальні клітини	
	%	абс.	%	абс.		%	абс.
I група							
Під час першої плазмадачі	42,9 ± 1,8	0,78 ± 0,05	9,5 ± 0,4**	0,17 ± 0,01***	4,53 ± 0,29**	32,8 ± 2,1***	0,60 ± 0,04**
Через 3 міс	40,7 ± 2,4	0,79 ± 0,08	11,5 ± 0,9	0,22 ± 0,03	3,53 ± 0,36	25,6 ± 2,6	0,49 ± 0,05
Через 6 міс	40,3 ± 2,1	0,75 ± 0,06	10,9 ± 0,8	0,20 ± 0,03	3,69 ± 0,30	26,1 ± 2,4	0,48 ± 0,04
Через 12 міс	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05
Через 15 міс	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Через 18 міс	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
II група							
Під час першої плазмадачі	43,1 ± 1,2	0,79 ± 0,04	8,7 ± 0,4**	0,16 ± 0,01***	4,95 ± 0,30***	30,3 ± 1,9**	0,56 ± 0,03*
Через 3 міс	39,7 ± 1,9	0,74 ± 0,05	10,1 ± 0,9	0,18 ± 0,02**	3,93 ± 0,29	24,4 ± 2,1	0,45 ± 0,04
Через 6 міс	38,9 ± 1,7	0,78 ± 0,06	9,8 ± 0,8*	0,19 ± 0,02**	3,96 ± 0,27	24,5 ± 2,2	0,49 ± 0,04
Через 12 міс	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Через 15 міс	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05
Через 18 міс	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Примітка. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,005$.

цього відбувалося наростання індексу імунорегуляції до $4,95 \pm 0,30$, що було на 51,8 % ($p = 0,0000139$) вище від вихідного показника і на 9,3 % ($p = 0,0000919$) — від показника через дев'ять місяців від початку донації плазми. Однак абсолютний вміст у крові теофілінрезистентних Т-лімфоцитів продовжував залишатися зниженим порівняно з вихідним показником на 9,2 % ($p = 0,000659$). Активні теофілінчутливі розетки у кадрових донорів, як і раніше, на попередньому етапі спостереження, достовірно перевищували відсотковий та абсолютний вміст цих клітин в крові у всіх донорів. У первинних донорів через дев'ять місяців від початку донації плазми реєструвалось істотне зростання порівняно з вихідним значенням відсоткового вмісту в крові теофілінчутливих розеток (на 20,8 %; $p = 0,0000375$) і недостовірне збільшення їх абсолютної кількості (на 6,4 %; $p = 0,000281$). При цьому відносний вміст цих клітин у крові перевищував аналогічний показник у первинних донорів на 19,7 % ($p = 0,000385$). У динаміці в них спостерігалось статистично недостовірне зниження в крові щодо вихідного рівня й попереднього етапу спостереження відносної та абсолютної кількості Т-лімфоцитів і абсолютного вмісту 0-клітин. Для первинних донорів характерні нижчі порівняно з кадровими донорами показники відсоткового (на 7,9 %; $p = 0,000279$) і абсолютного (на 6,3 %; $p = 0,0000996$) вмісту в крові Т-лімфоцитів із переважно хелперною активністю (теофілінрезистентних Т-лімфоцитів). Незважаючи на зниження порівняно з контрольною групою відсоткового (на 19,8 %; $p = 0,000284$) й особливо абсолютного (30,8 %; $p = 0,000375$) вмісту в крові теофілінрезистентних Т-лімфоцитів, їх кількість і в тому, і в іншому випадку недостовірно перевищувала аналогічні показники в первинних донорів, що відбулося на істотно нижчому індексі імунорегуляції впродовж усього дослідження (на 20,6 %; $p = 0,0000741$) порівняно кадровими донорами. Також достовірно нижче порівняно з кадровими донорами було утримання в крові в первинних донорів активних розеткоутворювальних клітин.

Імунологічна реактивність у всіх донорів демонструвала недостовірне зниження в крові порівняно з вихідним рівнем кількості Т-клітин, особливо їх відсоткового вмісту (на 9,5 %; $p = 0,0009586$), і активацію В-ланки імунної відповіді. Відносний вміст теофілінчутливих розеток був на 22,6 % ($p = 0,0009629$) вище від контрольного рівня й на 21,5 % ($p = 0,0000492$) — від аналогічного показника в кадрових донорів. Абсолютний зміст В-лімфоцитів також істотно перевищував їх кількість у первинних донорів (на 31,7 %;

$p = 0,000002859$). У Т-клітинній ланці імунітету найістотнішим порівняно з контролем було зниження в крові відносного (на 22,2 %; $p = 0,00000274$) і абсолютного (на 26,9 %; $p = 0,000002385$) вмісту теофілінрезистентних Т-лімфоцитів. Разом з тим слід відзначити зниження, хоча статистично й недостовірне, відносного (на 5,4 %; $p = 0,0000568$) і абсолютного (на 10,3 %; $p = 0,000196$) вмісту в крові розеткоутворювальних клітин. При цьому відносний вміст у крові Т-хелперів у первинних донорів було істотно нижчим, ніж у кадрових. Виявлена помірна депресія Т-ланки імунної відповіді в первинних донорів переважно за рахунок розеткоутворювальних клітин і меншою мірою за рахунок теофілінрезистентних Т-лімфоцитів відбувалася на несуттєвому збільшенні індексу імунорегуляції відносно вихідного показника (на 21,5 %; $p = 0,0000482$) і його достовірно нижчого рівня щодо показника в кадрових донорів (20,0 %; $p = 0,0004728$). Порівняно з відповідним показником у первинних донорів при регулярній донації плазми фіксували достовірно нижчий відсотковий вміст у крові активних розеткоутворювальних клітин (на 19,1 %; $p = 0,0000572$).

На прикінцевих етапах дослідження в первинних донорів відбувалося повернення до вихідного рівня більшості показників імунограми. У менший бік недостовірно відрізнявся відносний вміст у крові теофілінчутливих клітин, унаслідок чого індекс імунорегуляції також дещо перевищував контрольний показник на 14,1 % ($p = 0,0000274$). На завершальному етапі спостереження реєструвалось недостовірне перевищення контрольного рівня відносного та абсолютного вмісту в крові розеткоутворювальних клітин — на 18,3 % ($p = 0,00004572$) і на 19,1 % ($p = 0,000274$) відповідно.

Отже, регулярна донація плазми в первинних донорів зумовлювала недостовірно нижчий відносно вихідного рівня абсолютний вміст загального пулу Т-лімфоцитів на 9,6 % ($p = 0,0000274$) переважно за рахунок теофілінрезистентних Т-лімфоцитів, зниження кількості 0-клітин (на 9,6 %; $p > 0,05$) на тлі деякої активації В-ланки імунної відповіді на 10,6 % ($p = 0,000375$). У кадрових донорів за регулярної плазмодачі на перших етапах дослідження параметри імунограми не відрізнялися від вихідних даних. Водночас, на відміну від первинних донорів, у них формувалася більш виражена В-лімфоцитарна імунна відповідь. Абсолютний вміст розеткоутворювальних клітин істотно перевищував відповідний показник у первинних донорів — на 17,8 % ($p = 0,000385$).

Таблиця 2
Кореляційний взаємозв'язок між Т-лімфоцитами
й частотою донорської плазми

Група	Динаміка Т-лімфоцитів	Донорський стаж
I	0,00194	0,000173
II	0,00748	0,00818

Найхарактерніші зміни імунологічної резистентності в кадрових донорів — зниження відсоткового та абсолютного вмісту в крові субпопуляції теофілінчутливих Т-лімфоцитів, яке корелювало із частотою донорської плазми (табл. 2). При регулярній донорській плазми кількість теофілінрезистентних Т-лімфоцитів перебувала в межах норми. У первинних донорів відбувалося достовірне зниження щодо контролю відносної й абсолютної кількості теофілінрезистентних Т-лімфоцитів на 33,3 % ($p = 0,0002749$).

Відносний і абсолютний вміст теофілінрезистентних Т-лімфоцитів у кадрових та первинних донорів статистично не відрізнявся від вихідних показників. Збільшення частоти донорської плазми, яке спостерігалось у кадрових донорів, призводило до того, що відсотковий вміст теофі-

лінчутливих розеток достовірно перевищував вихідний рівень на 23,6 % ($p = 0,000038487$), а їх вміст за стандартної донорської плазми в первинних донорів — на 30,6 % ($p = 0,000039585$). Абсолютний вміст теофілінрезистентних клітин також збільшувався з навантаженням процесу донорської плазми і достовірно перевищував аналогічні показники при стандартному заборі плазми — на 24,7 % ($p = 0,00000568$).

Висновки

Таким чином, для всіх донорів характерна Т-клітинна імунодепресія різного ступеня. Однак отримані нами дані дають підстави говорити про відмінності імунної відповіді при регулярній та первинній донорській плазми і, отже, стверджувати наявність відмінностей в імунопатогенезі цих форм залучення донорської плазми. Зменшення частки теофілінчутливих розеток було найістотнішим у первинних донорів, тому індекс імунорегуляції в цієї категорії донорів достовірно перевищував аналогічний показник у кадрових донорів. На відміну від первинних донорів, при регулярній донорській плазми формувалася більш виражена В-лімфоцитарна імунна відповідь.

Література

1. Ржанович А.П., Кочемасов В.В., Яралова П.В. Социологические аспекты донорства // Гематология. — 2009. — № 1. — С. 37—39.
2. Селиванов Е.А., Данилова Т.А. Современное состояние службы крови России и перспективы ее развития // Информационный бюллетень «Новое в трансфузиологии». — 2010. — № 1. — С. 5—16.
3. Dorey F., Zigelboim J. Immunologic variability in a healthy population // Clinical Immunology and Immunopathology. — 2011. — Vol. 16. — P. 406—415.
4. Jaime J., Cazarez R., Mares M. Iron stores in remunerated blood donors as evaluated by plasma ferritin levels // Transfusion. — 2008. — Vol. 1. — P. 62—68.
5. Koepeke J.A., Wu K.K., Hoak J.C. Effect of long-term plasmapheresis on plasma protein // Transfusion. — 2010. — N 16. — P. 191—192.
6. Sandler S., Trimble J., Mallory D. Coexistent IgG2 and IgA deficiencies in blood donors // Transfusion. — 2011. — Vol. 36. — P. 256—268.
7. Tseveren V., Theodosiadis G., Bellia M. Evaluation of adverse reactions during blood donation // Transfusion. — 2011. — Vol. 74. — P. 16—26.

В.В. Яворский

Иммунологическая реактивность у первичных и кадровых доноров в зависимости от донорского стажа

Влияние плазмодонорства на Т-клеточный иммунитет, а именно на CD4 (Т-хелперы), играет важную роль в реализации иммунного ответа. В результате применения плазмодонорства происходит незначительное угнетение CD4+ лимфоцитов, значительное снижение абсолютного и относительного содержания клеток CD4+, а также иммунорегуляторного индекса (соотношение CD4/CD8), который характеризует клеточную систему иммунитета. Вместе с тем, при введении чужеродных компонентов крови происходит повышение концентраций IgG, IgA, IgM. Однако однозначных данных об иммунологической реактивности у первичных и кадровых доноров в зависимости от донорского стажа сих пор не существует, определение ее и составило цель данного исследования. Полученные нами данные позволяют утверждать о различиях иммунного ответа при регулярной и первичной донорской плазме и, следовательно, имеющихся различиях в иммунопатогенезе этих форм привлечения донорской плазмы. Уменьшение доли теофилинчувствительных розеток наиболее существенно происходило у первичных доноров.

*V.V. Jaworski***Immunological reactivity in primary and regular donors based on donor experience**

The effect of plasma donation on T-cell immunity, namely CD4 (T-helper) plays an important role in the realization of the immune response. As a result of plasma donation, the following processes take place: slight depression CD4+ lymphocytes, a significant reduction in the absolute and relative number of cells CD4+, and immunoregulatory index (ratio CD4/CD8), which characterizes the cellular immune system. Moreover, at the introduction of alien blood components, the concentrations of IgG, IgA, IgM increase. However there is still no unambiguous data on the immunological reactivity of the primary and regular donors in dependence from the donor's experience; and the aim of the presented investigation was to detect this reactivity. Our data suggest the differences of the immune response in regular and immediate donation of plasma and therefore the existing differences in the immune pathogenesis of these forms of involvement of donor plasma. The decrease of the theophylline-sensitive rosettes was most significant in primary donors.