

УДК 616—056.3

В. А. МКРТЧЯН, С. А. ЗАКАРЯН

КОМБИНИРОВАННАЯ МЕТОДИКА ДЛЯ ИНДИКАЦИИ
ЗАМЕДЛЕННОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
in vitro

Для широкого внедрения в медицинскую практику и получения полноценного представления о наличии сенсибилизации лимфоцитов авторами разработана и апробирована в клинике ревматизма комбинированная методика по индикации данного типа аллергии. Показано, что постановка этой реакции может заменить три из четырех существующих для этой цели реакций.

В настоящее время имеется несколько методов для выявления аллергических реакций *in vitro*. В частности, Дэвид [1] рекомендует применять реакции бласттрансформации лимфоцитов, торможения миграции макрофагов и цитотоксический тест иммунных лимфоцитов на клетках-мишенях. В последнее время появилось сообщение [3], согласно которому к этим реакциям можно прибавить и агрегацию макрофагов *in vitro*. Однако все эти методы трудновыполнимы, требуют определенных навыков, в силу чего они до сих пор не нашли широкого применения в клинико-экспериментальной практике. С другой стороны, не всегда возможно получить материал в достаточном количестве от одного и того же больного для постановки всех реакций. Исходя из этих соображений, мы решили совместить различные методы в одной реакции, упростить технику постановки, используя обычную лабораторную посуду и питательные среды.

Методика постановки реакции заключается в следующем. Приготавливается обычный 0,1%-й агар, который разливается тонким слоем в стерильные чашки Петри. После застывания на его поверхность наносится среда 199, которая диффундирует в толщу агара.

Поверхность последнего в зависимости от количества исследований разделяется на несколько секторов. В центре каждого сектора делается маленькая лунка, куда помещаются либо кусочки эксплантатов лимфоидных органов, либо сгустки клеток, полученные после центрифугирования внутрибрюшинного экссудата, плазмы периферической крови и т. д.

В тех секторах, где предполагается исследовать влияние антигена, предварительно на агар наносится одна-две капли антигена в дозе, несколько превышающей дозу трубочного теста. Клеточная взвесь или эксплантат помещается в центре площади распространения антигена. После этого чашки инкубируются в термостате при 37°, и через сутки

производится учет реакции. При этом следует обратить внимание на три феномена—агрегацию клеток, уменьшение их числа и торможение роста (миграции). Сущность первого из них заключается в том, что под воздействием гомологичного антигена происходит склеивание клеток, особенно макрофагов, в результате чего образуются многочисленные клеточные агрегаты. Иногда вместо этого замечается резкое падение числа культивируемых элементов в силу цитотоксического действия антигена на них. Зачастую вместо вышеописанного наблюдается торможение зоны роста. В противоположность этому в контрольных камерах наблюдается пышный рост без каких-либо признаков агрегации и уменьшения числа клеток.

Для сравнения результатов апробированных методик с нашей исследовали 5 больных с первичным ревмокардитом (активность III степени), имевших высокие показатели титра АСЛ-О, 10 больных с возвратным ревмокардитом (активность I степени) и 5 практически здоровых лиц. Исследовали также эксплантаты из 5 миндалин, удаленных у больных ревматизмом в период ремиссии.

Ставилась реакция торможения миграции макрофагов по Дэвид с соавт. [2], реакция агрегации макрофагов [3] и цитотоксический тест иммунных лимфоцитов на клетки-мишени гомологичного эмбрионального миокарда.

Результаты опытов показали, что у 5 больных в период ревматической атаки под влиянием стрептолизина—О не происходит ни торможения миграции из капиллярных трубок, ни агрегации клеток. Цитотоксическое действие лимфоцитов обнаружено в 3 из 5 наблюдений. Следует отметить, что при культивировании лейкоцитов периферической крови с 1 доз/мл стрептолизина—О к 5—6-му дню культивации отмечалось снижение числа клеток, т. е. наблюдался цитотоксический эффект антигена. При постановке реакции на агаре в двух случаях рост клеток под воздействием антигена не отличался от контроля. При этом в трех наблюдениях клетки сферически мигрировали, однако количество их было несколько меньше, чем в контрольных опытах.

У 10 больных с вялым течением ревматизма во всех случаях индекс миграции (ИМ) был меньше 0,6, в 8 наблюдениях положительной оказалась реакция агрегации клеток и наблюдалось цитотоксическое действие лимфоцитов на миокардиальные клетки эмбриона человека. При комбинированной методике на поверхности агара, как правило, обнаруживали изолированные клеточные агрегаты и торможение зоны роста их. Однако цитотоксическое действие антигена на лейкоциты отмечалось лишь у 6 больных. В противоположность этому в контрольных камерах и в тех случаях, когда мы вместо стрептолизина—О добавляли туберкулин, наблюдалось резкое увеличение зоны роста.

Из тонзиллэктомированных миндалин готовили эксплантаты величиной 2×2 мм и переносили на поверхность агара.

Рядом помещался эксплантат предсердия эмбриона человека на расстоянии 2—3 мм. Во всех наблюдениях замечалась миграция клеток

миндалины в сторону клеток-мишеней, прилипание их к ним с последующим цитотоксическим действием.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что с помощью предложенной нами методики возможно получить ответ на три реакции одновременно. Кроме того, эта методика пригодна и для изучения цитотоксического действия эксплантатов лимфоидных органов и кроветворных клеток на различные клетки-мишени.

Следует отметить, что использование клеток периферической крови еще больше расширяет возможности применения этой реакции при замедленной гиперчувствительности в любых условиях.

Преимущество этой методики заключается в следующем.

1. Применяется простая среда агара. 2. При наличии клеточного типа аллергии, как правило, один из феноменов проявляется. 3. Нет необходимости специальной подготовки персонала. 4. Реакцию можно широко применять в практической медицине и в научно-исследовательской практике. 5. После постановки этой реакции нет необходимости постановки теста бластоидной трансформации лимфоцитов. 6. Учет реакций не представляет особых трудностей.

Институт кардиологии
МЗ Арм. ССР

Поступила 2/III 1973 г.

Վ. Ա. ՄԿՐՏՅԱՆ, Ս. Ա. ԶԱԲԱՐՅԱՆ

ԴԱՆԴԱՂԵՑՎԱԾ ՁԵՎԻ ԳԵՐՁԳԱՅՈՒԹՅԱՆ ՀԱՅՏՆԱՐԵՐՄԱՆ ՀԱՄԱԿՑՎԱԾ ՄԵԹՈԴ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հեղինակների կողմից մշակված է մի նոր մեթոդ, որը հնարավորություն է տալիս հայտնաբերել դանդաղեցված ձևի գերզգայության առկայությունը:

Ռեմատիզմով հիվանդների արյան և նշագեղձերի բջիջների ուսումնասիրությունից պարզվել է, որ միայն այս մեթոդի սովորներից ելնելով կարելի է գաղափար կազմել հիվանդների մոտ բջջային ձևի ակերզիկ վիճակի մասին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. David J. R., Bull N. Y. Acad. Med., 1967, № 11, 949.
2. David J. R., Lavurence H. S., Thomas L. J. Immunol., 1964, 93, № 2, 274.
3. Lolekha S., Dray S., Gotoff S. P. J. Immunol., 1970, 104, № 2, 296.