

Н. Д. ВАРТАЗАРЯН, А. В. ОВСЕПЯН

ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ СЫВОРОТОК КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ БРУЦЕЛЛЕЗОМ С АНТИГЕНАМИ ТКАНЕЙ СУСТАВОВ, СЕРДЦА, ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ МЕТОДОМ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ

В сыворотке больных бруцеллезом иммунофлюоресцентным методом выявляли циркулирующие в крови антитела к антигенам тканей суставов, сердца, печени и селезенки. Выявление аутоантител к клеточным элементам соединительной ткани указанных органов дает возможность судить об интенсивности аутоиммунных процессов, активности бруцеллезной инфекции и степени поражения.

Патологический процесс у больных бруцеллезом охватывает многие органы, часто сопровождается аутоиммунными процессами с появлением в крови циркулирующих антител [1—3, 5, 6, 8]. Изучение этих антител может иметь важное значение как для диагностики, так и для выявления степени поражения органов и тканей при бруцеллезной инфекции.

Задача настоящей работы состоит в выявлении в крови больных хроническим бруцеллезом циркулирующих антител к тканям суставов, сердца, печени и селезенки с целью определения выраженности аутоиммунных процессов, их места в патогенезе органных поражений.

Содержание циркулирующих антител к антигенам соединительной ткани суставов, сердца, печени, селезенки определялось непрямой реакцией иммунофлюоресценции в сыворотке крови 80 больных, страдающих бруцеллезом. В качестве антигена использовали срезы толщиной 4—5 микрон, приготовленные в криостате при температуре -20°C из ткани суставов, сердца, печени, селезенки быка, а также человека, погибшего от острой травмы.

Наличие антител определяли непрямым методом иммунофлюоресценции с использованием чистых антител к JgA, JgG, JgM человека. Препараты исследовали люминесцентным микроскопом МЛ-2 и фотографировали на пленку ПФ-3. Наличие в исследуемой сыворотке антител к различным структурным элементам органов регистрировалось при специфическом ярко-зеленом свечении (+++). Специфическим считалось свечение (++) , начиная с разведения сыворотки 1×16. Титрование сывороток показало максимальное разведение, вызывающее интенсивное свечение. В качестве контроля использовали сыворотки 10 практически здоровых лиц.

Для избежания неспецифической реакции сыворотки предварительно адсорбировали порошок мышинной печени, исследовали в разведениях от 1:2 до 1:512. Иммунологическую специфичность реакции контролировали обработкой срезов препаратом меченых антител к иммуноглобулинам [4]. Для контроля специфичности испытуемые сыворотки адсорбировали гомогенатом из ткани сердца, суставов, печени, селезенки быка и человека.

Исследования показали, что в сыворотке крови больных бруцеллезом обнаруживаются аутоантитела, реагирующие со стенкой сосудов, суставов, сердца и печени. Отмечается также диффузное свечение клеточных элементов стромы органов.

При изучении срезов, приготовленных из тканей суставов, наблюдалась люминесценция отдельных синовиальных клеток, а также стенок мелких сосудов волокнистого слоя в синовиальной оболочке. Свечение в основном наблюдалось на срезах из суставов быка и главным образом при испытании сывороток больных с выраженными признаками артрита или полиартрита. В срезах из тканей суставов человека люминесценция наблюдалась исключительно редко (единичные люминесцирующие синовиальные клетки). Поэтому при оценке уровня антител к структурам суставов в реакции иммунофлюоресценции нами были учтены лишь результаты, полученные на срезах из образцов тканей суставов быка.

Обнаруживались очаговая и диффузная люминесценции клеток, главным образом покровного слоя синовиальной оболочки. Свечения со стороны соединительнотканых структур в срезах из органов человека не наблюдалось. Такое отличие в реакции иммунофлюоресценции на срезах быка и человека, как считает И. М. Лямперт [4], объясняется тем, что соединительная ткань животных содержит одни и те же антигенные субстанции, которые локализованы более поверхностно, тогда как антигены тканей человека в норме недоступны для антител.

Исследование срезов суставов непрямым методом иммунофлюоресценции показало, что в сыворотке 7 больных не обнаружено антител, реагирующих с суставной капсулой и синовиальной оболочкой. Однако сыворотки 10 больных диффузно реагировали со стенками мелких сосудов и адвентициальными клетками артерий.

При изучении суставной капсулы в околосуставной соединительной ткани люминесценция имела пятнистый характер. В отдельных случаях в срезах из ткани суставов быка наблюдалось свечение по ходу пучков коллагеновых волокон. Диффузное свечение устанавливалось главным образом со стороны отдельных клеток синовиальной оболочки и периваскулярной соединительной ткани. Люминесценция в основном отмечалась со стороны наружного клеточного слоя синовиальной оболочки в виде диффузного и краевого свечения. Часто люминесценция наблюдалась со стороны клеточных элементов околосуставной жировой ткани (рис. 1а). В этих местах сыворотка реагировала с клеточной оболочкой или же диффузно со всей цитоплазмой. У большинства больных с явными клиническими признаками полиартрита сыворотка реагировала с эндотелиальными клетками и адвентицией артерий околосуставной ткани (рис. 1б). Мышечные элементы стенок артерий реагировали с сывороткой исключительно редко, лишь у больных со слабopоложительной реакцией Бюрне и отрицательной реакцией Райта и Хеддельсона, что, по-видимому, связано со снижением активности бруцеллезной инфекции и степени бактериальной аллергии, с уси-

лением интенсивности аутоиммунных процессов в связи с повышенном общей иммунологической реактивности организма.

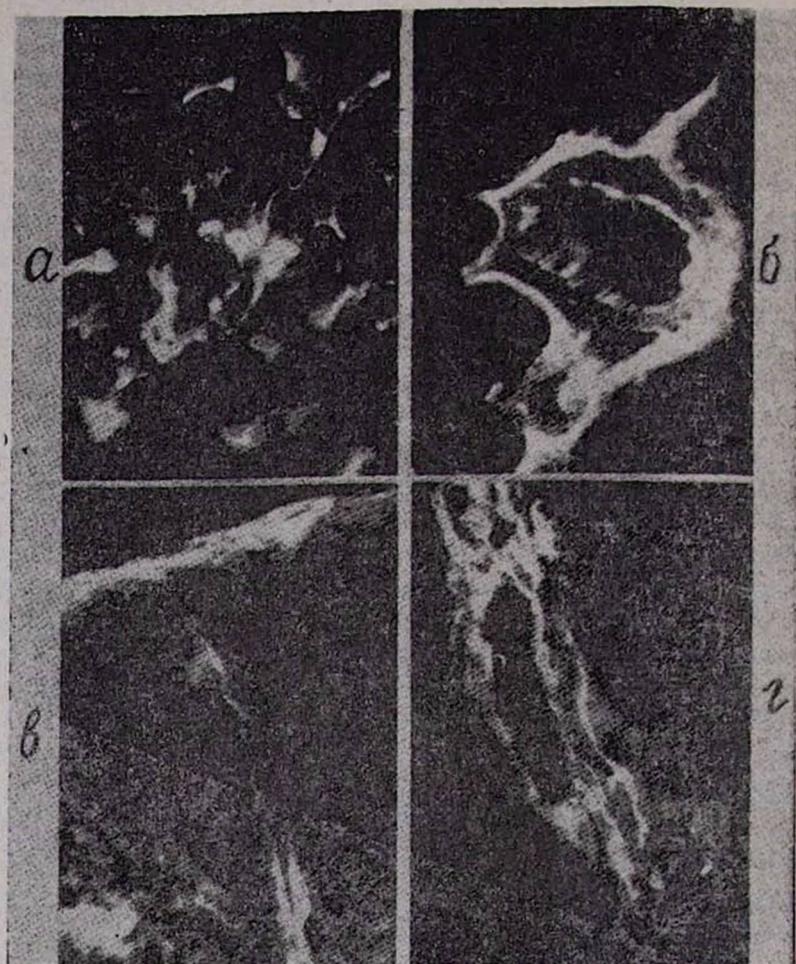


Рис. 1. Непрямой метод иммунофлюоресценции. Об.Х40, гомель 3. а. Свечение клеток околоуставной жировой ткани в непрямо́й реакции с сывороткой больного мышечно-суставной формой хронического бруцеллеза. б. Диффузная люминесценция эндотелиальных клеток, адвентиции артерии и пучков коллагеновых волокон околоуставной соединительной ткани. в. Диффузная, яркая люминесценция эпикарда, единичных интерстициальных клеток сердца и миоцитов в области сарколеммы. г. Свечение стенок междольковых сосудов и соединительной ткани печени в срезе, обработанной сывороткой больного хроническим бруцеллезом.

Таким образом, антитела к тканям суставов обнаружены у 20 больных хроническим бруцеллезом, среди которых у 9 отмечались признаки полиартрита. Наличие циркулирующих антител к элементам синовиальной оболочки и параартикулярной соединительной ткани следует считать важным показателем повреждения суставного аппарата у исследованных больных с появлением персистирующих аутоантигенов, ответственных за аутоиммунные реакции.

Параллельное исследование реакции сывороток крови указанных больных с тканями сердца человека и быка показало, что люминесценцию в основном удается выявить со стороны клеток соединительной ткани эндокарда и перикарда. Нередко имело место свечение отдельных клеток интерстиции, а также стенок коронарных сосудов. Реакция сыворотки наблюдалась преимущественно на территории цитоплазмы клеток. Ядерные структуры не люминесцировали. Что касается миокарда, то в отдельных случаях имело место свечение волокон на уровне саркоплазмы, сарколеммы и дисков срезов из ткани сердца человека (рис. 1в). Пучки коллагеновых волокон не люминесцировали.

Свечение элементов соединительной ткани сердца быка было обнаружено в пяти случаях. Остальные сыворотки 12 больных с тканями сердца не вызывали люминесценции. Так как у большинства больных сыворотки не реагировали с антигенами сердца и миокард не люминесцировал, можно думать об отсутствии циркулирующих антикардиальных антител. То же самое можно сказать и в отношении эпикарда, диффузное и очаговое свечение которого отмечалось лишь в двух случаях (рис. 1в).

Не наблюдалось реакции сывороток также с паренхиматозными элементами печени. Антитела обнаруживались лишь к антигенам стромы, преимущественно элементам соединительной ткани, что говорит о наличии в сыворотке крови циркулирующих антител. Свечение имело место главным образом со стороны сосудов, которое выявлялось в виде диффузной ярко-зеленой (+ + + +) люминесценции стенок междольковых артерий и вен (рис. 1г), а также пучков междольковой соединительной ткани.

При изучении срезов тканей селезенки лишь в единичных случаях наблюдалось свечение грабекул. В 4 случаях в срезах ткани селезенки отмечалась люминесценция ядер отдельных лимфоцитов и ретикулярных клеток преимущественно в зоне лимфоидных фолликулов.

Можно полагать, что иммунный ответ на бруцеллезную инфекцию в данных случаях сопровождался продукцией антинуклеарных антител, диффузно реагирующих с ядерными структурами лимфоцитов. При этом, как показали результаты исследований, выявленные антитела во всех положительно реагирующих сыворотках относились к классу JgG, так как интенсивность свечения (+ + + +) отмечалась лишь в срезах, обработанных анти-JgG сывороткой. Данный факт является также показателем активности инфекционного процесса как у больных с острым, так и хроническим течением. Титр антител JgG, вызывающих специфическую люминесценцию, колеблется в пределах 1:128—1:1024.

Люминесценция, вызванная реакцией JgM и JgA, выявлялась в более низких титрах (1:16—1:64). При этом сыворотка доноров реагировала с компонентами клеточных элементов при использовании препаратов, обработанных анти-JgG в разведениях не выше 1:16, а при использовании препаратов анти-JgA и анти-JgM вовсе не реагировала. Предварительная адсорбция сыворотки гомогенатом соединительной ткани суставов резко ослабляла или полностью предотвращала реакцию с компонентами клеточных элементов.

Таким образом, с помощью метода иммунофлюоресценции в сыворотке больных с хроническим бруцеллезом удалось выявить аутоантигены к тканевым структурам суставов, сердца, печени и селезенки с определенной тканевой специфичностью. Это свидетельствует о присоединении аутоиммунного процесса, который больше выражен у лиц с клиническими признаками поражения суставов, что дает основание судить не только о степени повреждения, но и об активности инфекционного процесса, имеющего важное прогностическое значение.

Наличие аутоантител к тканевым структурам различных органов является важным показателем иммунной реакции организма к собственным антигенам как следствие патологического процесса. Можно также считать, что антитела к клеткам соединительной ткани сердца быка в сыворотках больных бруцеллезом направлены к антигенам, которые являются общими для соединительной ткани человека и быка. Наличие в сыворотках больных бруцеллезом циркулирующих антител к антигенам клеток интерстициальной ткани сердца быка в реакции иммунофлюоресценции может служить одним из критериев выраженности иммунопатологических реакций, степени повреждения и оценки активности бруцеллезного процесса.

Следовательно, определение циркулирующих антител к компонентам клеточных элементов соединительной ткани позволит использовать реакцию иммунофлюоресценции для определения степени повреждения отдельных структур сердца, суставов и печени, судить об интенсивности аутоиммунных процессов, имеющих важное значение при оценке активности бруцеллезной инфекции и степени органических поражений.

Кафедра патанатомии Ереванского медицинского института,
больница скорой помощи г. Ленинскана

Поступила 15/XI 1981 г.

Ն. Դ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Ա. Վ. ՀՈՎՍԵՓՅԱՆ

ԽՐՈՆԻԿԱԿԱՆ ԲՐՈՒՅԵԼԻԶՈՋՈՎ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ՇԻՃՈՒԿԻ ՌԵԱԿՏԻՎԱՅԻՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀՈԴԵՐԻ, ՍՐՏԻ, ԼՅԱՐԴԻ ՈՒ ՓԱՅՏԱՂԻ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ԱՆՏԻԳԵՆՆԵՐԻ ՀԵՏ ԻՄՈՒՆՈՖԼՈՐԵՍԵՆՑԻԱՅԻՆ ՄԵԹՈԴՈՎ:

Բրուցելլոզով տառապող 80 հիվանդի արյան շիճուկում իմունոֆլուորեսցենսային մեթոդով որոշվել են հոդերի, սրտի, լյարդի ու փայծաղի հյուսվածքային անտիգեններին համապատասխան շրջող հակամարմինների առկայությունը: Պարզվել է, որ այդ հակամարմինները ունեն որոշակի հյուսվածքային սպեցիֆիկություն: Վերջինս խոսում է առտոիմուն պրոցեսների առկայության մասին, որոնք արտահայտված են հիմնականում այն անհատների մոտ, ովքեր ունեն համապատասխան օրգանների ախտահարման կլինիկական նշաններ: Հետևաբար սրտի, հոդերի, լյարդի շարակցական հյուսվածքի անտիգեններին համապատասխան հակամարմինների հայտնաբերումն արյան շիճուկում թույլ է տալիս դատելու ինչպես առտոիմուն պրոցեսների ինտենսիվության, այնպես էլ բրուցելլոզային ինֆեկցիայի աղտիվության ու օրգանների ախտահարման աստիճանի մասին:

STUDY OF THE REACTION OF THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH CHRONIC BRUCELOSIS WITH ANTIGENS OF THE JOINTS HEART, LIVER AND SPLEEN TISSUES BY METHOD OF IMMUNOFLUORESCENCE

In the serum of patients with chronic brucellosis by the immunofluorescentive method there have been revealed antibodies to the antigens of the joints, heart, liver and spleen tissues. This fact allows to have opinion about the intensivity of the autoimmune processes, activity of brucellosis infection and the degree of the affection.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Беклемишев Н. Д. Хронический и латентный бруцеллез. Алма-Ата, 1965.
2. Вершилова П. А., Чернышова М. И., Книзева Э. Н. Патогенез и иммунология бруцеллеза. М., 1974.
3. Иоффе В. И. Клиническая и эпидемиологическая иммунология. Л., 1968.
4. Лямперт Н. М. Вopr. ревматизма, 1971, 4, стр. 14.
5. Мусабаев И. К., Назармухамедова М. Н., Николаев А. И. Клиника и иммунологические показатели при бруцеллезе. Алма-Ата, 1979.
6. Назармухамедова М. Н. Мед. ж. Узбекистана, 1977, 7, стр. 54.
7. Назармухамедова М. Н. Мед. ж. Узбекистана, 1978, 1, стр. 24.
8. Очкур П. П. Патологическая морфология бруцеллеза у человека. Алма-Ата, 1951.

УДК 616—018.2:612.112

Э. Е. НАЗАРЕТЯН, Э. А. ГУЛЯН

ОБМЕН АДЕНОЗИНА В ЛЕЙКОЦИТАХ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Изучено изменение активности аденозиндезаминазы (АДА), 5'-нуклеотидазы и АМФ-дезаминазы в лейкоцитах больных периодической болезнью (ПБ). Показано, что у больных ПБ отмечается повышение активности 5'-нуклеотидазы и понижение АМФ-дезаминазы как вне, так и во время приступов. При осложнении ПБ амилоидозом отмечается сильное ингибирование АДА и 5'-нуклеотидазы.

В последние годы отмечается неуклонный рост заболеваемости периодической болезнью [1—3, 14]. ПБ с ее загадочной этиологией и многогранным патогенезом затрагивает многие звенья иммунологической цепи [1, 14, 18]. Существует мнение, что решающее значение в генезе ПБ имеет генетически детерминированное своеобразное иммунодефицитное состояние, в частности нарушение трехклеточной системы иммунитета [1, 19, 20].

Обнаружение наследственных заболеваний, связанных с поражением Т- и В-лимфоцитов и обусловленных дефицитом или полным отсутствием в организме тех или иных ферментов пуринового обмена, например АДА и 5'-нуклеотидазы [11, 15], вызвало интерес к вопросу о возможной роли ферментов этого участка обмена в механизме клеточного иммунитета у больных ПБ. Поскольку при наследственных заболева-