

участвовал в любительских спектаклях в качестве сценариста, актера, режиссера, гримера, суфлера.

Еще в 1923 г. Президиумом ЦИК Чувашской АССР К. В. Волкову было присвоено почетное звание героя труда, а в 1927 г. к 30-летию юбилею врачебной деятельности К. В. Волкова Ядринской лечебнице было присвоено его имя. Он избирался членом ЦИК Чувашской АССР, членом Ядринского горсовета и горкома партии многих созывов. С 1932 г. К. В. Волкова избрали в состав правления Всесоюзного общества хирургов. Он был членом центральной комиссии улучшения быта ученых (ЦЕКУБУ), членом ученого совета при Наркомпросе РСФСР, потом при Наркомздраве РСФСР и СССР, членом сельской комиссии при Наркомздраве РСФСР и состоял членом правления других выборных местных, областных и республиканских организаций. Он был соредактором или членом редколлегии 6 научных журналов и Большой Медицинской Энциклопедии.

К. В. Волков получал приглашения занять кафедру в медицинских институтах Казани, Днепрпетровска, Харькова, Саратова, Перми. Но он до конца своих дней сохранил верность практической врачебной деятельности в Ядрине.

К. В. Волков умер 28 июня 1938 г. Тысячи жителей Ядрина и окрестных населенных пунктов Чувашии провозжали в последний путь любимого хирурга.

Такова яркая жизнь воспитанника Казанского и Московского университетов врача К. В. Волкова, насыщенная обширной практической, общественной, культурно-просветительной деятельностью.

## РАЦИОНАЛИЗАТОРСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

УДК 611 — 013. 84 — 612. 433. 62

### ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА

*Л. М. Ишимова, Н. А. Шамова*

НИИАЛ АМН СССР (зав.— действ. член АМН СССР проф. А. Д. Адо) и кафедра акушерства и гинекологии (зав.— проф. А. А. Лебедев) педиатрического факультета 2 Московского медицинского института им. Н. И. Пирогова

Настоящее время характеризуется интенсивным внедрением во многие клинические дисциплины различных иммунологических методов исследования для диагностики, прогноза и лечения.

В акушерстве и гинекологии в последние годы все большее распространение получают различные иммунологические тесты для диагностики ранних сроков беременности.

Впервые серологическую реакцию для диагностики беременности пытались использовать Опиц и Липман (1903). Путем иммунизации кроликов экстрактом из плацентарной ткани они получали сыворотку, которая при взаимодействии с сывороткой беременной женщины давала помутнение. Данные авторов были противоречивы, и предложенная ими методика не нашла применения. Только спустя более тридцати лет Ehrlich (1934, 1935) и Twombly (1936) установили, что хорионический гонадотропин обладает антигенными свойствами и иммунизация им кроликов ведет к образованию специфических антител против гормона. Однако попытки использовать специфическую иммунную реакцию антиген-антитело для диагностики беременности до 1960 г. были тщетными из-за недостаточной очищенности препарата хорионического гонадотропина (Van den Ende — 1939; Coben и Freda — 1940; Schuyler с сотрудниками — 1950).

В 1960 г. сразу появился ряд работ из различных лабораторий по иммунологической диагностике беременности. Были предложены реакция преципитации (Mc Kean), реакция связывания комплемента (Brody, Carlström) и реакция торможения гемагглютинации (Wide и Gemzell). Goldin (1962) предложил тест задержки осаждения частичек латекса.

Предложенные реакции быстро заслужили признание клиницистов. Их применяли не только для диагностики беременности, но и для количественного определения хорионического гонадотропина при нормальной и патологической беременности (Brody и Carlström — 1961; Wide и Gemzell — 1960, 1961, 1962, 1963; Lohmeyer — 1964; Mc Carthy с сотрудниками — 1964; и многие другие).

Были предложены быстрые трехминутные иммунологические тесты на предметных стеклах с адсорбцией хорионического гонадотропина на частичках латекса, на частичках млечного сока или на эритроцитах человека (Russo, Valenzano — 1964; Noto, Miale — 1964; Kline — 1964; Vallo с сотрудниками — 1964; Yahia, Таумог — 1964).

Наиболее широкое распространение получила предложенная Wide и Gemzell'ом реакция торможения гемагглютинации. В основу ее положена реакция пассивной гемагглютинации по Boyden'у (1951).

Известно, что эритроциты, обработанные танином, приобретают способность адсорбировать на своей поверхности различные антигены, в том числе могут адсорбировать и хорионический гонадотропин. В результате взаимодействия хорионического гонадотропина, адсорбированного на поверхности таннизированных эритроцитов со специфическими антителами, наблюдается макроскопически видимая агглютинация эритроцитов. Хорионический гонадотропин, выделяющийся мочой беременных, соединяясь со специфическими антителами против гормона, препятствует агглютинации эритроцитов.

Моча небеременной женщины, не содержащая хорионического гонадотропина, не влияет на реакцию гемагглютинации.

Тест отличается высокой степенью чувствительности. Высокая чувствительность реакции обеспечивается использованием специфических антисывороток с высокими титрами антител, полученных путем иммунизации животных хорошо очищенными препаратами гонадотропина

## МЕТОДИКА

Для постановки реакции торможения гемагглютинации необходимы: 1) иммунная сыворотка, содержащая антитела против гормона, 2) эритроциты, адсорбировавшие на своей поверхности хорионический гонадотропин, 3) исследуемая моча.

Для получения сыворотки мы иммунизировали хорионическим гонадотропином 10 кроликов (самок и самцов) весом 2—4 кг.

В нашем распоряжении были следующие гормональные препараты:

а) хорионический гонадотропин производства Бакинского завода медпрепаратов (сокращенно ХГТ-Б), серия 5;

б) хорионин производства завода Гедеон Рихтер — Венгрия (сокращенно ХГ-В), № выпуска 640253642;

в) гонабион производства Германской Демократической Республики (сокращенно ГБ-Г), серия 76063.

Схему иммунизации см. в табл. 1.

Гормон вводили в дозе 1500—12000 ME на одну инъекцию, эмульгированный в 2 мл стерильного адьюванта Ramon'a: Lanolini — 16,0, Ol. Vaselini — 48 мл, Sol. Natrii chlorati — 0,9% — 24 мл или Freund'a: Lanolini — 20 мл, Ol. Vaselini — 40 мл, сухой вакцины БЦЖ — 30 мг.

Через 7—12 дней после последней инъекции кролики обескровливались. Полученную сыворотку инактивировали и сохраняли в замороженном состоянии при  $T^{\circ} - 16^{\circ}$ .

Приготовление эритроцитов состоит из трех этапов: а) формализации эритроцитов, б) таннизации их, в) адсорбции антигена на поверхности их.

а) Формализация. Эритроциты барана, сохранившиеся в растворе Альсевера (Glucosae — 2,05; Natrii citrici — 0,8; Natrii chlorati — 0,42; Aq. destillatae ad 100,0), трижды отмывали 8—10 объемами физиологического раствора. 8% суспензия этих эритроцитов в физрастворе инкубировалась в течение 18—20 час. при  $T^{\circ} + 37^{\circ}$  с равным объемом 3% раствора формалина, рН которого был доведен до 7,2 0,1% раствором NaOH.

Избыток формалина четырехкратно отмывали в 50 объемах физиологического раствора. Эритроциты в виде 10% суспензии в физрастворе с мертиолатом натрия 1/10000 могли сохраняться до 6 месяцев при  $T^{\circ} + 2, + 4^{\circ} C$ .

Обработка бараньих эритроцитов формалином способствует стабилизации эритроцитов, дает возможность сохранять их длительное время и применять для непосредственной гемагглютинации как свежие эритроциты (Weinbach, 1958). Они под микроскопом аналогичны свежим, не подвергаются лизису в дистиллированной воде (Сох, Fingerhut, 1956) и в то же время, подобно свежим эритроцитам, могут адсорбировать на своей поверхности различные белковые антигены (Weinbach, 1959), в том числе и гонадотропин.

б) Таннизирование эритроцитов. Формализированные эритроциты дважды отмывались фосфатным (рН 6,4) буфером, и 2% суспензия этих эритроцитов в буферном растворе инкубировалась в водяной бане 30 мин. при  $T^{\circ} + 56^{\circ} C$  с равным объемом таниновой кислоты 1/40000. Избыток танина трижды отмывали буфером рН 6,4.

в) Адсорбция хорионического гонадотропина. 2% суспензия таннизированных эритроцитов инкубировалась в водяной бане при  $T^{\circ} + 56^{\circ} 2$  часа с равным объемом буфера рН 6,4, содержащего в 1 мл 25 ME гормона. Избыток гормона отмывали буферным раствором. 2,5% суспензия этих эритроцитов в буферном растворе, содержащем 0,25% нормальной кроличьей сыворотки, применялась в реакции и могла сохраняться до 6 месяцев.

Годность приготовленных эритроцитов проверялась реакцией пассивной гемагглютинации.

Для постановки иммунологической реакции на беременность брали первую утреннюю порцию мочи в количестве 10—15 мл, фильтровали через бумажный фильтр. Если моча оставалась мутной и после фильтрации, фильтровали повторно.

Схема иммунизации кроликов

Кролики №	Препарат гонадотропина	Адьювант	Количество гонадотропина на каждую инъекцию	Инъекции по неделям	Конечный титр антител по реакции гемагглютинации
1	Гонабион (ГБ-Г)	Ramon'a	1 500 ME	1, 2, 3	1/160
3	Хорионический гонадотропин (ХГТ-Б)	Ramon'a	2 500 ME	1, 2, 3, 4, 5, 6	1/5120
4	Хорионический гонадотропин (ХГТ-Б)	Ramon'a	2 500 ME	1, 2, 3, 4, 5, 6	1/2560
5	Хорионический гонадотропин (ХГТ-Б)	Ramon'a	2 500 ME	1, 2, 3, 4, 5, 6	1/5120
6	Хориогонин (ХГ-В)	Ramon'a	12 000 ME	1, 2, 3, 4, 5, 6	1/10240
7	Гонабион (ГБ-Г)	Ramon'a	2 500 ME	1, 2, 3, 4, 11, 12, 13, 22, 23	1/2560
8	Гонабион (ГБ-Г)	Freund'a	3 000 ME	1, 2, 3, 4, 11, 12, 13, 22, 23	1/10240
9	Хориогонин (ХГ-В)	Freund'a	3 000 ME	1, 2, 3, 4, 11, 12, 13, 22, 23	1/10240
11	Гонабион (ГБ-Г)	Ramon'a	3 000 ME	1, 2, 3, 4, 5, 6, 15, 16	1/40960
12	Хориогонин (ХГ-В)	Ramon'a	3 000 ME	1, 2, 3, 4, 5, 6, 15, 16	1/20480

Реакцию ставили в двух пробирках. В обе пробирки наливали по 0,25 мл мочи, в первую (опытную) пробирку добавляли 0,2 мл иммунной сыворотки, разведенной в рабочей дозе, во вторую (контрольную) 0,2 мл разводящей жидкости (солевой фосфатный буфер pH 7,2, содержащий 1% нормальной кроличьей сыворотки). В обе пробирки приливали по 1 капле (0,05—0,065 мл) эритроцитов с адсорбированным антигеном. Пробирки встряхивали и оставляли при комнатной температуре на 1,5 часа. Рабочая доза иммунной сыворотки равнялась ее титру, умноженному на 2,5 (если титр сыворотки 1/250, то рабочая доза составляла  $\frac{1 \times 2,5}{250} = 1$  (100)).

Моча небеременной женщины, не содержащая хорионического гонадотропина, не тормозит агглютинирующего действия иммунной сыворотки, тогда как моча беременных, содержащая хорионический гонадотропин, задерживает возникновение гемагглютинации. Реакция считается положительной на беременность, если на дне обеих пробирок эритроциты оседают в виде кольца с ровными краями, т. е. нет разницы между опытной и контрольной пробирками. Реакция считается отрицательной, если в опытной пробирке возникает агглютинация эритроцитов с фестончатыми краями, а в контрольной — равномерное кольцо.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Котлярская Е. И., Роганова К. Т. Акуш. и гин. 1965, 1.—2. Boyden S. V. J. Exp. Med. 1951, 93, 107—120.—3. Brody S., Carlström G. Lancet, v. 2, 1960, p. 99; Scand. J. clin. lab. invest., v. 13, 1961, p. 683; J. clin. endocr. and Metab. 1962, v. 22, 5, p. 564—574.—4. Brosswitz E., Lohmeyer H. Ztbl. Gynäk. 1963, v. 85, 1095—1097.—5. Coben H. R., Freda V. C. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), v. 43, 1940, p. 22.—6. Cox C. D., Fingerhut B. I. J. lab. clin. med. 1956, v. 46, p. 298—303.—7. Ehrlich H. Wien. klin. Wschr. 1934, j. 47, s. 1323; Wien. klin. Wschr. 1935, j. 48, s. 410.—8. Goldin M. Amer. j. clin. Path. 1962, v. 38, p. 335—338.—9. Kline B. S. Amer. J. of clin. Path. 1963, v. 40, 3, p. 246—251.—10. Liepman N. Dtsch. med. Wschr. 1903, j. 29, s. 80—81.—11. Lohmeyer H., Brosswitz E. Z. Geburts. 1964, 162, 1, s. 11—17.—12. Mc Carthy. Amer. j. Obstet. Gynec., v. 89, 1964, p. 1074—1077.—13. Mc Kean Ch. Amer. j. obstet. Gynec., v. 80, 1960, 3, p. 596—600.—14. Noto T. A., Miale J. B. Amer. j. clin. Path., v. 41 (1964), p. 273—278.—15. Opitz E. Dtsch. med. Wschr. 1903, j. 29, s. 597—601.—16. Russo P., Valenzano M. Minerva ginec. 1964, 16, 23, 1001—3.—17. Twombly G. H. Endocrinology. 1936, v. 20, p. 311—317.—18. Vallo D., Szasz I., Perked I. Med. exp. (Basel), 1964, 10, 3, p. 144—152.—19. Van den Ende. J. Endocr. 1, 156, 1939.—20. Weinbach R. Schweiz. Ztsch. alg. Path. u. Bakter. 1958, j. 21, 6, s. 1043—1052; Schweiz. Z. Path. 22 (1959), 1, s. 1—11.—21. Wide L., Gemzell C. A. Acta endocr., v. 35, 1960, p. 261; Ciba Foundation on endocrinology, v. 14, 1962, p. 296—309.—22. Yahia C., Taumor M. L. Obstet. and Gynec. 1964, v. 23, p. 37—40.