

Из экспериментального отделения (завед. проф. Л. Л. Бродский) Одесского дермато - венерологического института им. Е. С. Главче (директор проф. М. Г. Хорошин).

Реакция связывания комплемента на сифилис с экстрактом из бледной спирохеты.

М. М. Израэльсон и Е. П. Головань.

Несмотря на то, что в текущем году исполнилась тридцатая годовщина открытия реакции Вассермана, необходимо признать, что под нее еще не подведена прочная теоретическая база.

Необычайно стройная теория Сакса об аутоиммунизации собственными липоидами — взрывается изнутри. Ландштейнер и Левэн, Одорт, Мальтанер показали, что ни очищенные лецитин и кефалин, ни холестерин не в состоянии вызывать выработки антител против липоидов, даже если они были введены в организм животного в смеси с сывороткой свиньи. Очищенный препарат лецитина, по Мак Лину, не дает реакции и *in vitro* с сифилитической сывороткой. Предложенные Ф. Клопштоком и Гетгенсом антигены из культур бледной спирохеты заставили снова предполагать, что при сифилисе происходит истинная иммунизация возбудителем, точно такая же, как и при всех других инфекционных заболеваниях. Тот же факт, что с сывороткой сифилитиков, наряду со спирохетным антигеном, можно получить положительную реакцию и с экстрактами из нормальных органов, толкнул теоретическую мысль серологов по двум направлениям: одни, подобно Кроо и Шульце и отчасти Саксу, предполагают, что у сифилитиков в процессе болезни вырабатывается 2 типа реактивных тел: один — относительно термостабильный, специфичный исключительно к бледной спирохете, второй — термолабильный, получающийся в результате аутоиммунизации собственными липоидами и дающий реакцию исключительно с экстрактами из органов. Другие же, подобно Феликсу Клопштоку, Гельтцеру с сотрудниками, стоят на той точке зрения, что р. В. представляет собой истинную реакцию иммунитета в смысле Бордэ - Жангу, но что и спирохеты и экстракты из органов содержат общие или родственные друг другу активные антигенные группы (по терминологии Ландштейнера) — гаптены.

Несмотря на то, что большинство авторов (Накано, Гетгенс, Клопшток, Гехт, Гельтцер с сотрудниками, Маркар, Фовинкель, Нагель), испытывавших экстракты из бледных спирохет в реакции связывания комплемента на сифилис, признают их прекрасные антигенные качества, — в широкую серологическую практику антигены из бледной спирохеты пока еще не вошли.

Мы решили испытать экстракты из бледной спирохеты в реакции связывания комплемента не только с теоретической целью — испытания их антигенных свойств, но и с чисто практической. Утверждение Клопштока, Гетгенса, Кроо, Шульце и

друг., что эти антигены отмечают случаи первичного сифилиса, еще отрицательные по обычному Вассерману, придает им особую ценность как в глазах клинициста, так и серолога.

Всего со спирохетными экстрактами было нами исследовано 2425 сывороток.

Большинство наших реакций мы ставили с экстрактами из культур 1-го штамма бл. спирохеты Аристовского-Гельтцер. 194 реакции были произведены одновременно как со спиртовыми экстрактами из бл. спирохеты, так и с водными карболизированными взвесьями (по методу Гетгенса (см. табл. 1).

Таблица 1.

Диагноз	Количество случаев	Орган. экстр. А			Орган. экстр. В			Карбол. спирох. антиген			Спиртовый спирох. антиг.		
		Резко	Слабо	(—)	Резко	Слабо	(—)	Резко	Слабо	(—)	Резко	Слабо	(—)
Сифилис:													
перв. акт. . . .	26	10	5	11	10	5	11	10	6	10	11	5	10
втор. "	23	22	—	1	22	—	1	22	—	1	22	—	1
трет. "	19	8	2	9	8	2	9	8	2	9	8	2	9
врожд. "	6	6	—	—	6	—	—	6	—	—	6	—	—
скрытый	43	3	10	30	2	11	30	3	12	28	5	10	28
Нейросифилис .	22	10	—	12	10	—	12	9	1	12	9	1	12
Подозрит. на сифилис	28	3	—	25	2	—	25	2	—	26	2	—	26
Несифилитич. заболевания . .	27	—	—	27	—	—	27	1	—	26	1	—	26
Итого	194	62	17	115	60	18	115	61	21	112	64	18	112

Эти ориентировочные опыты дали нам хорошие результаты с обоими спирохетными антигенами, но спиртовый экстракт, приготовленный по методу Клопштока, отметил реакцию несколько яснее, резче,—поэтому для дальнейшей работы мы употребляли исключительно спиртовые экстракты из бледной спирохеты. Средой для ее культивирования служила человеческая сыворотка без прибавления каких бы то ни было кусочков ткани (во избежание экстракции тканевых субстратов). Культура, залитая слоем вазелинового масла, выдерживалась 5—6 дней в термостате. Если при исследовании в темном поле зрения она содержала очень много спирохет (количество которых в поле зрения мы уже подсчитать не могли), то мы переводили культуру в другую пробирку без вазелинового масла, центрифугировали на мощной центрифуге в течение часа, сливали сыворотку и трижды промывали осадок физиологическим раствором; затем к такому отмытому осадку доливали столько же спирта 95°, сколько слито было среды. После 2-недельной экстракции применяли для реакции. Здесь мы должны отметить, что несмотря на совершенно одинаковую технику культивирования спирохет и приготовления из культур экстрактов, не-

смотря на употребление одного и того же штамма (А-Г 1 шт.), нам почти никогда не удавалось получить два спирохетных экстракта с совершенно одинаковыми свойствами. Попадались серия экстракта, работавшая в реакции замечательно, но попадалась и другая, приготовленная точно так же, выращенная на человеческой сыворотке того же происхождения, но отмечающая очень слабо положительные сыворотки и дающая неспецифические задержки. Объяснить такие колебания в показателях различных экстрактов из одного и того же штамма спирохет мы пока еще не в состоянии. Клопшток, Гельтцер и Юнусова также отмечают неравноценность различных серий спирохетных экстрактов. Гельтцер и Юнусова отмечают еще их лабильность — даже отлично работающие экстракты не выдерживают пересылки по почте: посланные в Харьковский бак. институт для испытания они оказались там малопригодными. Кроме того, необходимо подчеркнуть, что спирохетные антигены обладают резко-выраженными антикомплементарными свойствами, которые в противовес экстрактам из сифилитических печеней, не умеряются при прибавлении нормальной человеческой сыворотки.

Из 2425 сывороток (см. табл. 2), исследованных со спиртовыми экстрактами из бледных спирохет, 2288, т. е. 94,4%, дали полное совпадение с органэкстрактами. При первичном сифилисе спирохетный антиген отмечал несколько сильнее органэкстрактов, но даже и при первичном сифилисе в 4 случаях он дал отрицательный результат при положительной р. В., в остальных же случаях активного сифилиса он отставал в своих показаниях от органэкстрактов. Немного чувствительнее показал себя спирохетный экстракт в группе табеса. Прогрессивный паралич дал совершенно одинаковые результаты с обоими видами экстрактов. Скрытый сифилис на нашем материале спирохетные антигены отметили несколько слабее органэкстрактов — положительный результат получен при нем в 20,7% случаев, органэкстракты же дали положительный результат в 22,8% случаев. Гетгенс, Клопшток со спирохетным экстрактом почти всегда получали большее количество положительных результатов при первичном сифилисе, более же поздние стадии сифилиса дают, по этим авторам, со спирохетными антигенами чаще отрицательный результат. Рейтер также отмечает, что реакция со спирохетным антигеном при скрытом сифилисе слабее, чем с органэкстрактом. Гехт же, наоборот, считает ее сильнее. Почти все авторы указывают, что спирохетные экстракты дают определенный небольшой процент неспецифических положительных результатов (Гетгенс 0,5%, Фовинкель 0,6%). В одном проценте случаев при несифилитических заболеваниях, мы получили изолированный положительный результат только со спирохетным экстрактом.

Мы не думаем, чтобы спирохетные антигены приобрели когда-нибудь большое практическое значение — неудобство их приготовления, их нестойкость и вариабельность всегда будут помехой этому.

Таблица 2.

Д и а г н о з	Количество случаев	Совпадение с р. В.				Несовпадение с р. В.				Всего (+)		Всего (+)	
		Количество случаев	%	Количество положительных рез.	Количество отрицат. рез.	р. В. (-) сп. ант. (+)	р. В. (+) сп. ант. (-)	со сл. ант.	с орг. экстр.	колич. случ.	%	колич. случ.	%
Сифил. I акт.	52	41	79,0	18	23	7	13,4	4	7,6	25	48,0	22	42,3
» II »	62	46	74,2	43	3	5	8,0	11	17,8	48	77,4	54	87,0
» врожд.	13	13	100,0	12	1	—	—	—	—	12	92,3	12	92,3
» скрытый	608	529	90,4	98	441	28	2,9	41	6,7	126	20,7	139	22,8
» внутр. орган.	43	39	90,7	18	21	1	2,3	3	7,0	19	44,1	21	48,8
Нейросифилис	29	25	83,2	9	16	1	3,4	3	13,4	10	34,4	12	41,3
Табес	27	22	81,6	9	13	3	11,1	2	7,3	12	44,4	11	40,7
Прогресс. парал.	8	8	100,0	6	2	—	—	—	—	6	75,0	6	75,0
Всего группа сифилиса	869	758	88,3	230	528	45	5,1	66	7,6	275	31,6	296	37,0
Члены семей сифилитиков	172	164	95,4	15	149	5	2,9	3	1,7	20	11,6	18	10,4
Мягкий шанкр	77	75	92,2	3	72	2	2,6	—	—	5	6,4	3	3,9
Заб. ц. н. с. невыясн. происход.	21	21	100,0	—	21	—	—	—	—	—	—	—	—
Пахов. лимфогрануломатоз.	9	8	88,9	—	8	1	11,1	—	—	1	11,1	—	—
Беременные	95	92	96,8	3	89	3	3,2	—	—	6	6,4	3	3,2
Роженцы	48	46	95,9	2	44	2	4,1	—	—	4	8,2	2	4,1
Плацентарн. кровь	22	21	95,5	1	20	1	4,5	—	—	2	9,0	1	4,5
Дети Дома грудного ребенка	133	130	97,8	1	129	2	1,5	1	0,7	3	2,2	1	0,7
Кожные болезни	84	83	98,8	—	83	—	—	1	1,2	—	—	1	1,2
Массовые обслед.	895	890	99,5	14	876	3	0,3	2	0,5	17	1,9	16	1,8
Группа несифилитических забол.	1384	1265	98,7	24	1342	14	1,0	4	0,3	38	2,7	27	1,9
И т о г о	2425	2288	94,4	269	2019	64	2,8	73	3,0	333	13,7	341	14,6

Большого преимущества спирохетных экстрактов перед орган-экстрактами мы не видим. В общей сложности, за исключением нескольких случаев первичного сифилиса, спирохетные экстракты оказались слабее органэкстрактов. Кроо и Шульце, Кольмер с сотрудниками отмечают, что за исключением Syph. I, все остальные серопозитивные по Вассерману сыворотки дают всего в 50% случаев положительный результат с антигенами из спирохет. Все же на нашем материале мы отмечаем случаи (а они встречаются во всех стадиях сифилиса), когда спирохетные антигены давали положительный результат при отрицательной р.В.

В старых культурах бледной спирохеты одна из нас (Израэльсон) описала зернистые формы спирохет, а впоследствии и их лизис. Нам было интересно проследить, не потеряли ли такие старые, изменившие свой морфологический вид спирохеты свою антигенную активность.

Приготовляли мы спиртовые экстракты из старых культур 7—8-месячной давности обычным способом. С такими экстрактами из старых культур всего было исследовано 164 сыворотки (см. табл. 3).

Таблица 3.

Диагноз	Количество случаев	Совпадения с рВ	Экстр. из стар. сп. (+) Орган-экстр. (—)	Экстр. из стар. спир. (—) Орган-экстр. (+)
Сифилис первичн. актив.	9	7	1	1
" вторичн. " 	11	11	—	—
" третичн. " 	7	6	1	—
" врожден. " 	4	4	—	—
" скрытый	73	70	1	2
Нейросифилис	8	8	—	—
Табес	2	2	—	—
Члены семей сифилит.	21	20	—	1
Несифилитич. заболеваний.	29	29	—	—
Итого:	164	157/95,7%	3	4

Оказалось, что и они дали 95,7% совпадений с обычными органэкстрактами. Таким образом деформированные спирохеты в старых культурах обладают такими же антигенными свойствами, как и свежие культуры.

Принципиально важен вопрос о том, представляет ли собой реакция связывания комплекта со спирохетным экстрактом при сифилисе истинную иммуно-биологическую реакцию, где антигеном служит экстракт из тела возбудителя. На основании всего того, что нам известно по литературным данным, и на основании своего собственного опыта, мы думаем, что для этого нет достаточно веского основания. Культуральная спирохета по своим иммуно-биологическим свойствам резко отличается от тканевой. При иммунизации людей и животных культуральной спирохетой у них вырабатываются специфические спирохетоли-

зины, агглютинины, тромбоцитобарины, у людей же и кроликов, больных сифилисом, никогда не находят ни спирохетолизин, ни тромбоцитобаринов, ни специфических к спирохете агглютининов.

Единственная реакция иммунитета, которая, как правило, получается с сывороткой сифилитиков,—это реакция связывания комплемента со спирохетными экстрактами. Но Клопшток получил реакцию связывания комплемента при сифилисе и с экстрактами из *Sp. dentium*. Реакция связывания комплемента с сывороткой сифилитиков получается в большом проценте случаев и с экстрактом из туберкулезной палочки. Не напрасно при постановке реакции связывания комплемента при туберкулезе почти всегда рекомендуется ставить контрольную пробирку с сифилитическим антигеном. Дебус отмечает, что почти из всех богатых липоидами микробов можно получить экстракты, дающие положительный результат при сифилисе. Уодсорт подобно Клопштоку предполагает, что между антигенными свойствами органэкстракта и спирохетного экстракта глубокой разницы нет, что здесь действуют одни и те же или родственные друг другу антигенные группы, но противоположно Клопштоку, он думает, что специфический фактор иммунитета в реакции сифилитических сывороток с этими экстрактами еще не доказан.

Мы решили наряду с антигенами из культуральной спирохеты испытать еще в реакции связывания комплемента и антигенные свойства тканевой спирохеты. Чтобы по возможности исключить влияние самой ткани на антигенные свойства полученных экстрактов, мы кусочки орхита или шанкра кролика разрезали на довольно крупные кусочки и пропускали через маленький пресс для тканевых культур. Полученный густой экстракт, не содержащий почти совсем обрывков ткани, но содержащий довольно большое количество спирохет, мы промывали физиологическим раствором, высушивали, остаток взвешивали и экстрагировали 1:20 спиртом.

Всего с экстрактом из тканевой спирохеты было проверено 122 сыворотки.

Таблица 4.

Диагноз	Количество случаев	Совпаден. с р.В.	Экстракт из ткан. спир. (+) органэкстракт. (—)	Экстракт. из ткан. спир. (—) органэкстр (+)
Сифилис первичн. акт.	3	3	—	—
" вторичн. "	5	5	—	—
" третичн. "	1	1	—	—
" скрытый	43	40	1	2
Табес	5	4	—	1
Члены семей сифилит.	28	27	1	—
Несифилитич. заболеван.	37	36	1	—
Итого:	122	116 (95%)	3	3

В виду недостаточного количества исследованного нами материала мы не вдаемся в детальную оценку полученных нами результатов, но мы ясно видим, что и экстракт из тканевой спирохеты способен дать *in vitro* положительную реакцию с сыворотками сифилитиков. Попытка же иммунизировать животное такой тканевой спирохетой окончилась у нас неудачей.

Выводы: 1. Как водные карболизированные, так и спиртовые экстракты из культур бледной спирохеты могут служить антигенами в реакции связывания комплемента при сифилисе.

2. Спиртовые экстракты оказались несколько чувствительнее водных и дали большее количество положительных результатов при сифилисе.

3. Экстракты из бледных спирохет более чувствительны, чем органэкстракты, лишь в некоторых случаях первичного сифилиса, во всех же остальных стадиях сифилиса они оказываются слабее органэкстрактов.

4. Экстракты из бледной спирохеты дают около 1% изолированных положительных результатов при несифилитических заболеваниях.

5. Старые культуры с деформированными бледными спирохетами полностью сохраняют свои антигенные качества.

6. Реакцию связывания комплемента удается получить и со спиртовыми экстрактами из тканевых спирохет.
