

Institutul de cercetare a silicozei, Bochum (R.F. a Germaniei)
(director: prof. dr. W. T. Ulmer) și Disciplina de fiziologie (cond.: prof. dr. S. Szabó)
a I.M.F. Tîrgu Mureș

STUDIUL SEROLOGIC AL SECREȚIEI BRONȘICE (Notă preliminară)

dr. Brigitte Rasche, dr. S. Szabó, dr. Éva Lapohos, dr. Etelka Szabó-Adorján

Imunoglobulinele secretorii reprezintă un important mecanism defensiv natural al organismului, împotriva microorganismelor patogene cu calea de pătrundere prin mucoase. Cercetările executate pe oameni vaccinați și pe voluntari infectați confirmă valoarea protecătoare a anticorpilor din secreția nazală, împotriva virusurilor gripale (7), paragripale (17) și rinovirusuri (10). Lipsa anticorpilor secretorii este însoțită de o susceptibilitate pronunțată față de infecțiile regiunilor respective (18), mărind predispoziția față de recidive și favorizând cronicizarea maladiilor (8). Imunizarea activă prin vaccinări locale împotriva gripei, poliomielitei etc. constituie o aplicare practică de mare importanță a descoperirilor recente privitoare la rolul biologic al sistemului imunitar secretor.

Prezența imunoglobulinelor în secreția bronșică a fost observată de mai mulți autori prin metode bazate pe evidențierea antigenicității lor (6, 8, 9, 12, 13, 14, 16, 21, 22, 25). Privitor la funcția de anticorp a acestor imunoglobuline nu avem decât date sporadice (23, 24).

În lucrarea de față am dorit să aducem contribuții la problema acțiunii biologice a imunoglobulinelor din secreția bronșică umană. În acest scop am analizat din punct de vedere serologic sputele obținute de la bolnavi de bronșită cronică obstructivă, cercetînd anticorpii față de unele microorganisme patogene, autoanticorpi organospecifici și hemaglutinine naturale.

Material și metodă

Sputele obținute de la un număr de 40 de bolnavi au fost centrifugate timp de 4 ore cu 25000 turații pe minut la 10°C. Faza de sol. astfel obținută a fost desemnată ca fracțiunea I. Faza mucinoasă-gelatinoasă a fost tratată ultrasonic timp de 4 min. la 20 kHz, apoi centrifugată 20 min. cu 4000 turații pe minut la 40°C. Supernatantul constituie fracțiunea II. Ambele fracțiuni au fost liofilizate. Serurile bolnavilor au fost păstrate de asemenea în stare liofilizată.

Titrările de anticorp au fost efectuate cu microtitrator. În testele serologice și imunochimice s-a folosit materialul liofilizat, redizolvat în pro-

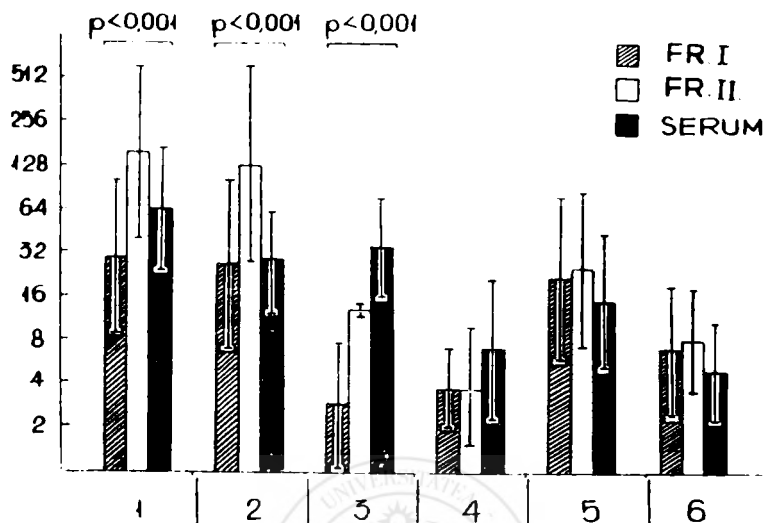


Fig. nr. 1: Titrurile anticorpilor din fracțiunile de secreție bronșică (FR I și FR II) și din serul sanguin 1. Anticorpii față de virusul gripal tip A₂. 2. Anticorpii față de virusul gripal B. 3. Antistreptolizina. 4. Isohemaglutininele. 5. Aglutininele naturale față de hematii de iepure. 6. Aglutininele naturale față de hematii de șobolan. Ordonată: valorile reciproce ale titrurilor (medii) și erorile standard

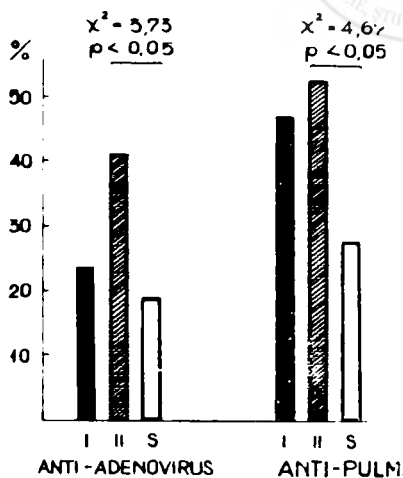


Fig. nr. 2: Prezența în spută și în serul sanguin a anticorpilor față de adenovirus și a autoanticorpilor față de țesutul pulmonar. Ordonată: procentul cazurilor pozitive. I: Fracțiunea I a secreției bronșice. II: Fracțiunea II a secreției. S: Serul sanguin

porție de 100 mg/1 ml în tampon fosfat 0,003 M, pH 7.3. Probele au fost inactivate la 56°C timp de 30 min.

Anticorpilor antigripali au fost determinați cu metoda hemaglutinoinhibării, utilizându-se antigen de virus A₂ (Hong-Kong) și de virus B (Masachusetts), preparate ale Institutului I. Cantacuzino. Antistreptolizina O a fost titrată cu metoda adaptată la microtitrator, utilizându-se streptolizina O activată (Inst. Cantacuzino). Anticorpilor adenovirali au fost determinați prin RFC. Izoaglutininele și aglutininele naturale, față de eritrocitele de iepure și de șobolan ca și hemolizinele corespondente le-am titrat după procedeul uzual, adaptat la varianta micro. Autoanticorpilor organospecifici anti-plămîn au fost evidențiați cu RFC, aplicându-se ca antigene extrase apoase de plămîn, obținut din cadavru uman de grupa sanguină 0. Pentru determinarea concentrațiilor de IgA, IgG și IgM am aplicat imunodifuziunea radială Mancini, utilizând plăcile „Partigen“ (Behringwerke).

Pentru prelucrarea statistică a rezultatelor am aplicat testul „t“ al lui Student și proba X², efectuând operațiunile matematice asupra log₂ a valorilor reciproce ale titrurilor.

Rezultate

Anticorpilor antigripali și antistreptolizina au fost prezente la toți bolnavii atât în ser, cât și în ambele fracțiuni de secreție bronșică (fig. 1). Anticorpilor adenovirali au fost găsiți în 23,7%, resp. 41,4% a probelor de spută și la 19,4% a serurilor (fig. 2). Izoaglutininele anti-A și anti-B au fost puse în evidență la bolnavii aparținând grupelor sanguine corespunzătoare în ser și — cu excepția unor cazuri izolate — în ambele fracțiuni de spută. Hemaglutininele anti-iepure și anti-șobolan au prezentat titruri mai ridicate în comparație cu izoaglutininele. Fracțiunile de spută nu au posedat activitate de hemolizină. RFC pentru autoanticorpilor anti-plămîn au dat rezultate pozitive în 47,4, resp. 52,8% a probelor de spută și în 27,7% a serurilor (fig. 2).

Comparând activitatea serologică a celor două fracțiuni de spută, am obținut titruri mai ridicate în fracțiunea II, diferențele fiind semnificative în cazul anticorpilor gripali și al streptolizinei (fig. 1).

IgG a fost găsită în cele două fracțiuni de secreție bronșică în concentrații practic identice (0,09 și 1,03 mg¹⁰⁰) în timp ce IgA prezintă o concentrație mai mare în fracțiunea II decît în fracțiunea I (2,08 resp. 0,99 mg¹⁰⁰). IgM nu a putut fi pusă în evidență cu metoda aplicată, decît în unele cazuri și în cantități reduse.

Discuții

Rezultatele privitoare la conținutul în imunoglobuline de diferite clase al fracțiunilor de secreție bronșică sînt în concordanță cu datele obținute în alte cercetări (3). Din cercetările noastre se pot constata că aceste imunoglobuline dispun de activități serologice variate, funcționînd printre altele ca anticorpi față de agenți patogeni, ca hemaglutinine naturale și ca autoanticorpi organospecifici. Activitatea serologică mai exprimată a fracțiunii II de spută este explicată de conținutul său mai înalt în imunoglobuline. Biserte și colab. (5) au constatat că tratarea ultrasonică a fazei de

gel nu influențează simțitor capacitatea antigenică a proteinelor constituente. Rezultatele noastre arată că o astfel de preparare mecanică nu afectează nici funcția de anticorp a imunoproteinelor din fracțiunea mucinoasă.

Nivelul anticorpilor față de virusurile gripale și titrurile de anistreptolizina din ser corespund valorilor observate în general la populația sănătoasă. Anticorpul fixator de complement față de adenovirus i-am observat numai la o parte a cazurilor studiate, fapt constatat și de alți autori (4, 5).

Considerăm ca fenomen interesant existența autoanticorpilor anti-plămîn în sputele bolnavilor, într-un procent mai ridicat decât în singe. Cu toate că acești anticorpi apar în singele bolnavilor pulmonari (3, 19), prezența lor în secreții bronșice nu a fost semnalată în literatură și ea poate fi corelată cu existența unor antigene specifice în mucoasa bronșică (15) și în sputa astmaticilor (11), care posedă determinanți antigenici comuni cu țesutul pulmonar.

Trebuie să menționăm că secrețiile examinate în aceste cercetări sînt produși patologici proveniți de la bolnavi de bronșită cronică și că ele sînt contaminate, într-o oarecare măsură, cu secreție nazală și cu salivă. Analiza acestui material nu ne indică exact proprietățile serologice ale secreției bronșice normale, spre deosebire de lichidul obținut de la indivizii sănătoși prin spălătură bronșică. Constatarea lui Falk și colab. (9) ne îndreptățește totuși să extrapolăm datele la condițiile fiziologice: acești autori nu au observat deosebiri remarcabile între conținutul în imunoglobuline al spălăturii bronșice obținută de la indivizii sănătoși și de la bolnavii de bronșită cronică obstructivă. Rezultatelor obținute în cercetările noastre nu le putem atribui o valoare de diagnostic sau prognostic, ci le apreciem doar ca date cu caracter biologic general, care ne informează asupra funcției de anticorp a imunoglobulinelor din secreția studiată și indică în mod indirect rolul posibil al acestor factori imunologici în apărarea antimicrobiană și în procesele de autoimunitate.

Concluzii

S-a examinat activitatea de anticorp a secrețiilor bronșice obținute de la 40 de bolnavi de bronșită cronică obstructivă. Sputele au fost pregătite pentru analizele serologice prin ultracentrifugare, tratare ultrasonică, liofilizare și redizolvare. S-a pus în evidență prezența, în diferite titruri, a următorilor anticorpi: anticorpi față de virusul gripal tip A₂ și B, antistreptolizina, izohemaglutinine, aglutininele naturale față de eritrocitele de iepure și de șobolan, autoanticorpul organospecific anti-plămîn. Faza de gel a secrețiilor a prezentat o activitate serologică mai exprimată decât faza apoasă.

Sosit la redacție: 12 martie 1973.

Bibliografie

1. ARTENSTEIN M. S., BELLANTI J. A., BUESCHER E. L.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. (1964), 117, 558; 2. ATHANASIU P., PETRESCU A., SURDAN C., MOISA I.: Studii Cerc. Virusol. (1972), 23, 9; 3. BARBU Z., SZABO S., LUKÁCS E., ADORJÁN C., MUNTYÁN G.: Presse Méd.

(1969), 77, 287; 4. BELLANTI J. A.: Amer. J. Diseases Child. (1968), 115, 239; 5. BISERTE G., HAVEZ R., CUVELIER R.: Exposéés ann. Biochim. méd. (1963), 24, 85; 6. BONOMO L., GILLARDI U., LISO V.: Bol. Soc. it. Biol. sper. (1967), 43, 542; 7. BOYDEN S. V.: Adv. Immunol. (1966), 5, 1; 8. BÜRGI H.: Respiration (1971), 28, 480; 9. FALK G. A., OKINAKA A. J., SISKIND G. W.: Amer. Rev. Respir. Diseases (1972), 105, 14; 10. KNOPF H.L.S., PERKINS J. C., BETRAN D. M., ZAPIKIAN A. Z., CHANOCK R. M.: J. Immunol. (1970), 104, 566; 11. MENDES E., OTTENSOOSER F., GERMANO SILVA A., LACAZ C. S., CINTRA A. U.: Allergie u. Asthma. (1961), 7, 197; 12. OLIVIER D., BOCCHINO M., CAPUTI M.: Arch. Mon. Fisiol. (1970), 25, 537; 13. RASCHE B., ULMER W. T.: Pneumonologie (1971), 144, 10; 14. RASCHE B., MARICIC I., ULMER W. T.: Pneumonologie (1972), 146, 321; 15. ROSE N. R., BONSTEIN H. S., MAZOW J. B., ARBESMAN C. E., WITEBSKY E.: J. Immunol. (1965), 94, 741; 16. SITKA U.: Allergie u. Immunol. (1971), 17, 9; 17. SMITH C. B., BELLANTI J. A., CHANOCK R. M.: J. Immunol. (1967), 99, 133; 18. SOUTH M. A., COOPER M. D., WOLLHEIM F. A., GOOD R. A.: Amer. J. Med. (1968), 44, 168; 19. SZABÓ S., BARBU Z., LUKÁCS E., BARBU E., ADORJÁN E., ALEXA M.: Arch. Roum. Path. exp. Microbiol. (1971), 30, 257; 20. TOMASI T. B., BIENENSTOCK J.: Advances Immunol. (1968), 9, 2; 21. TÜRK E., WIERBITZKY S.: Dtsch. med. Wschr. (1969), 94, 2554; 22. VIDAL J., SERRE A., MICHEL F. B., MONTGINOUL C., LEVY A.: Presse Méd. (1971), 79, 483; 23. WALDMAN R. H., KASEL J. A., FULK R. V., TOGO Y., HORNICK R. B., HEINER G. G., DAWKINS A. T., MANN J. J.: Nature (1968), 218, 594; 24. WALDMAN R. H., MANN J. J., KASEL J. A.: J. Immunol. (1968), 100, 80; 25. ZEDDA S., AMANTE L., AMBROSI L.: Med. Lavoro (1969), 60, 350.