

УДК 616.61—089.843:612.017.1

В. С. Шевченко

ГОМЕОСТАЗ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО КОМПОНЕНТОВ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Несмотря на значительные успехи в изучении трансплантационного иммунитета, до настоящего времени не удалось полностью раскрыть главные компоненты и механизмы иммунологической системы, играющие решающую роль в отторжении трансплантата. Этим объясняется необходимость дальнейшего разностороннего исследования гомеостаза иммунологической системы реципиента после аллотрансплантации различных органов и тканей. Целью настоящей работы является изучение некоторых особенностей гомеостаза клеточного и гуморального компонентов иммунологической системы реципиента после аллотрансплантации почки.

Методика исследований

Нами обследовано 36 больных хроническим гломерулонефритом после аллотрансплантации почки (из них пятерым она произведена дважды) в Киевском институте урологии. Реципиенты подвергались стандартной иммунодепрессии преднизолоном и имураном, а для купирования кризов отторжения трансплантата использовались ударные дозы преднизолона и урбазона с быстрым и сильным противовоспалительным действием. Кризы отторжения распознавались общепринятым способом, в основе которого лежит симптоматика воспаления трансплантированной почки.

Активность иммунокомпетентных клеток определяли методом бласттрансформации лимфоцитов (БТЛ) реципиента под действием разрушенных спленоцитов донора почки. Для этого пробы лейкоцитов крови ($1-1,5 \times 10^6$) реципиента с постоянным преобладанием лимфоцитов культивировали при 37°C в 1 мл среды 199 с добавлением гомологичной сыворотки АВ группы, в присутствии равного количества донорских спленоцитов, которые предварительно суспендировали в той же среде, разрушали повторными замораживаниями (-70°C) и оттаиваниями ($+37^\circ\text{C}$) и хранили при -30°C . Результат учитывали по проценту бластных клеток среды мономорфнонуклеарных клеток через 3—5 сут культивирования, во время пика реакции. Гуморальные факторы иммунитета изучали на примере нормальных противотканевых преципитинов (НПП) сыворотки крови, которые определяли ранее описанным методом [2, 4]. Содержание γ -глобулина в сыворотке крови определяли методом электрофореза на бумаге.

Реципиентов обследовали систематически, через каждые 4—7 дней, в 16 случаях на протяжении 10—14 дней и в 25 случаях более длительно, до 3 мес после трансплантации.

Результаты исследований и их обсуждение

В первые семь дней после трансплантации бласттрансформативная способность лимфоцитов в 100 % случаев была резко нарушена, вплоть до полного отсутствия, происходил интенсивный лизис мономорфнонуклеарных клеток, как в присутствии донорских спленоцитов, так и без них. Важно подчеркнуть, что в этот период посттрансплантационного лизиса мономорфнонуклеарных клеток и подавленной бласттрансформативной способности лимфоцитов у многих больных развивались кризы отторжения. Не исключая других причин, мы полагаем, что описываемый феномен, совпадающий по времени с фазой распознавания и

становлением пр
самого раннего
иммунных клет
невыми антиген
нарушается ста
полной гибели,
убийство» клето

Содержание у	
Реципиенты	до транс
А.Н.М.	19,6
А.Я.К.	12,1
Г.С.Н.	13,9
П.В.И.	10,3
С.Н.В.	14,2
Т.А.В.	16,4
М.В.П.	15,6
О.В.И.	18,0
В.П.И.	13,9
С.Л.Н.	7,5

Свидетельств
мономорфнонукл
нологических пр
может быть и то
связную терапию
клетками, как п
а в большинстве
трансплантацион

Период цитос
ности у реципие
стабильности и
происходящую н
бочий ритм и по
трансплантата. Е
ности в некоторы
и поэтому може
С другой сторон
активности може
ной чувствительн
о нарушении регу

Систематичес
ления стабильнос
обнаружило разл
БТЛ менее 1 %
ренные и более
отторжения тран
жения протекли
0,3 %) без како

становлением продуктивной фазы иммуногенеза, является отражением самого раннего и бурного, недостаточно регулируемого взаимодействия иммунных клеток с клетками-мишенями трансплантата и вообще с тканевыми антигенами, вследствие чего истощается реактивность и резко нарушается стабильность таких эффекторных клеток вплоть до их полной гибели, т. е. иными словами, происходит своеобразное «самоубийство» клеток-киллеров и других иммунокомпетентных клеток.

Таблица 1

Содержание γ -глобулина (в %) у реципиентов до и после трансплантации

Реципиенты	до трансплантации	после трансплантации	Реципиенты	до трансплантации	после трансплантации
А.Н.М.	19,6	19,0	К.Г.К.	12,3	19,3
А.Я.К.	12,1—19,8	18,5	Б.В.И.	10,0	27,2—31,6
Г.С.Н.	13,9—21,7	19,5	А.В.В.	17,3	34,0
П.В.И.	10,3—16,9	14,1—21,4	Б.Я.П.	20,0	25,0
С.Н.В.	14,2	14,5	М.М.Ф.	17,4	21,2
Т.А.В.	16,4	16,7	З.Е.И.	14,6	22,0
М.В.П.	15,6	15,7—16,2	Г.В.П.	13,7—22,1	19,8—24,5
О.В.И.	18,0	18,4—25,8	П.Ю.З.	20,0	25,6—35,0
В.П.И.	13,9	15,6—23,0	Т.Б.В.	23,0	36,4
С.Л.Н.	7,5	14,5—17,8	Б.С.К.	15,4	17,6
			Р.Л.А.	18,8	25,5

Свидетельством того, что ранний посттрансплантационный лизис мономорфнонуклеарных клеток является следствием активных иммунологических процессов, отнюдь не исключающих антителообразования, может быть и то, что именно в этот период, несмотря на иммунодепрессивную терапию, уровень γ -глобулина, продуцируемого лимфоидными клетками, как правило, не снижался в сыворотке крови реципиентов, а в большинстве случаев повышался ($p < 0,05$) по сравнению с до-трансплантационным уровнем (табл. 1).

Период цитолиза и подавленной бласттрансформативной способности у реципиентов сменяется постепенно периодом восстановления стабильности и реактивности лимфоцитов, что, вероятно, отражает происходящую настройку иммунологической системы в целом на рабочий ритм и постоянный, перманентный уровень активности против трансплантата. Начало восстановления бласттрансформативной активности в некоторых случаях совпадает с развитием кризов отторжения и поэтому может рассматриваться как настораживающий симптом. С другой стороны, задержка в восстановлении бласттрансформативной активности может свидетельствовать как об индивидуальной повышенной чувствительности к иммунодепрессантам, их передозировке, так и о нарушении регуляторных механизмов иммунологической системы.

Систематическое обследование 25 реципиентов в период восстановления стабильности и бласттрансформативной активности лимфоцитов обнаружило различный уровень ее у разных реципиентов. Показатели БТЛ менее 1 % мы рассматривали как низкие, от 1 до 2 % — умеренные и более 2 % — высокие. У 15 реципиентов произошли кризы отторжения трансплантата. Причем в четырех случаях кризы отторжения протекли на фоне низких показателей БТЛ (в среднем 0,2—0,3 %) без какой-либо тенденции к повышению. В четырех случаях

восстановление бласттрансформативной активности ограничилось умеренными значениями (1,1—1,3 %) и произошло к началу первичного криза, во время него или предвляло повторный криз. В семи случаях у реципиентов с кризами отторжения были сравнительно высокие показатели БТЛ. Так у Р-ой криз возник во время восстановления этой способности до 2,1—2,8 %. У П-ва криз также возник в период подавленной бласттрансформативной способности (через два дня после трансплантации) и перешел в хроническое отторжение на фоне возрастающих показателей БТЛ до 2,1 %. У 3-го криз отторжения возник на фоне равномерно высоких показателей (2,8—3,0 %), которые предвляли за несколько дней проявления острого отторжения. У Р-ко, К-д, Д-й также наблюдались равномерно высокие показатели в пределах 2,6—3,1 % во время криза отторжения. У В-л было два криза отторжения: на исходе первого, купированного криза показатель БТЛ был равен 1,9 %, через несколько дней после чего наступил повторный криз, совпавший с повышением показателей БТЛ до 2,5 %. Как видно из этих примеров, относительно высокие показатели БТЛ в одних случаях могут предвлять острое отторжение, а в других — сопутствовать и сохраняться после него. После купирования кризов отторжения показатели БТЛ несколько снижались, вероятно, вследствие ударной иммунодепрессии, нарушения выделительной функции трансплантированной почки и (или) ухудшения общего состояния реципиента. В целом же для этих реципиентов характерна тенденция к постоянству относительно высокого уровня показателей БТЛ. Важно отметить также, что в шести из семи случаев высокие показатели БТЛ оказались своеобразным предвестником плохого исхода трансплантации, независимо от того, удалось ли купировать криз или нет.

Таблица 2

Зависимость кризов отторжения трансплантата от уровня БТЛ

Криз	БТЛ		Всего больных
	более 1%	менее 1%	
Был	11 (73,5%)	4 (26,5%)	15
Не было	2 (20,0%)	8 (80,0%)	10
Всего больных	13	12	25

Примечание: По формуле Фишера с факториалами $p < 0,05$.

Из десяти реципиентов без кризов отторжения трансплантата, сравнительно высокие показатели БТЛ (1,8—2,9 %) были у двух, а у остальных — низкие (в среднем 0,2—0,3 %).

Таким образом, в 47 % случаев кризы отторжения возникали у реципиентов с показателями БТЛ более 2 % и в 26,5 % случаев при показателях более 1 %, т. е. в 73,5 % случаев показатели БТЛ были сравнительно высокими при сопоставлении с 26,5 % случаев кризов при низких (в среднем 0,2—0,3 %) показателях. Среди реципиентов без кризов отторжения в 80 % случаев показатели были низкие и в 20 % относительно высокие (табл. 2).

Произведя вычисления по формуле Фишера с факториалами, находим $p < 0,05$.

Хотя у больных с более высокими показателями БТЛ кризы отторжения трансплантата наблюдались чаще, однако этот критический для каждого реципиента уровень индивидуален и относительно перманентен. Именно поэтому нельзя полностью исключить развитие оттор-

жения при любых литературных данных вообще. Трансплантационно-иммунологический процесс в трансплантационном периоде (в частности в отношении его основанию это пресивных протекции.

Зависимость от диализа

Реципиент

Я.
В.
С.
Б.
К.
Д.

Примечание: тканевым нателе —

Переход в трансплантационном периоде, которые, как у здорового, лируется спелются диализ.

Мы про ротки больные дилась зависимость в кровяной тельности и не проявлял очевидно, в людей после вследствие окончательных (табл. 3).

Аналоги ми больных лизом.

Более д роток как с нию активн но вследствие

жения при любом уровне бласттрансформативной активности, а судя по литературным данным, — при любом уровне иммуноклеточной активности вообще [1, 8, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 19]. Однако тенденция трансплантационного иммунитета к перманентности индивидуального уровня иммунологической активности позволяет уже в раннем посттрансплантационном периоде приближенно судить об уровне этой активности (в частности по бласттрансформативной способности лимфоцитов) и на основании этого определить исходные (начальные) дозы иммунодепрессивных препаратов в каждом отдельном случае аллотрансплантации.

Таблица 3

Зависимость активности противотканевых преципитинов сыворотки от диализабельности и лабильности ингибитора у реципиентов, больных хроническим гломерулонефритом (апрель 1976 г.)

Реципиенты	Сыворотки			
	нативные		инкубированные	
	до диализа	после диализа	до диализа	после диализа
Я.	0/4	0/4	0/4	4/4
В.	0/2	0/2	0/2	2/2
С.	0/6	0/6	1/6	6/6
Б.	0/4	0/4	0/4	4/4
К.	0/2	0/2	0/2	2/2
Д.	0/3	0/3	0/3	3/3

Примечание: В числителе — число положительных реакций сыворотки с тканевым тест-антигеном в виде изолированной зоны преципитации, в знаменателе — число обследований больного.

Переходя к изложению результатов изучения в посттрансплантационном периоде противотканевых преципитинов, идентичных тем, которые, как мы установили ранее, постоянно присутствуют и в норме, у здорового человека, прежде всего отметим, что их активность регулируется специальным ингибитором. Его характерными свойствами являются диализабельность и термолабильность [2, 3, 4].

Мы провели опыты с тепловой (37—40°C) инкубацией сыворотки больных до гемодиализа и после него, в результате чего подтвердилась зависимость активности противотканевых преципитинов от наличия в крови ингибитора. В идентичных условиях опыта при той длительности инкубационного периода, когда сыворотки до диализа еще не проявляли активности противотканевых преципитинов, в результате, очевидно, высокого содержания в них ингибитора, сыворотки тех же людей после диализа проявляли активность изучаемых преципитинов, вследствие частичного диализа из крови ингибитора с последующим окончательным его разрушением при тепловой инкубации сыворотки (табл. 3).

Аналогичные результаты получены и у других обследованных нами больных гломерулонефритом, находившихся на лечении гемодиализом.

Более длительная инкубация при низкой температуре (4°C) сывороток как больных, так и здоровых людей также приводит к повышению активности сывороточных противотканевых преципитинов, вероятно вследствие разрушения лабильного ингибитора.

Эти данные согласуются с представлением о сывороточных ингибиторах различной природы, регулирующих активность разных звеньев трансплантационного иммунитета [7, 13, 16].

Сравнительное изучение в идентичных условиях противотканевых преципитинов у больных гломерулонефритом до трансплантации почки и после нее показало, что их активность в сыворотках у больных этих двух групп в целом существенно не различается. Однако это обстоятельство не следует расценивать как аргумент инертности противотканевых преципитинов в отношении трансплантата. Дело в том, что хотя их ингибитору присуща способность быстро восстанавливать свое содержание в крови [4, 5], длительные и частые процедуры гемодиализа в предтрансплантационном и раннем посттрансплантационном периоде могут в какой-то степени нарушать компенсаторные возможности в отношении восполнения ингибитора. А это, в свою очередь, может привести к проявлению активности преципитинов в отношении трансплантированной почки. И действительно, при сниженной или отсутствии функции трансплантата НПП выявлялись и обладали повышенной противотканевой активностью у 29 из 30 (97 %) реципиентов, т. е. чаще, чем у 19 из 46 (41 %) реципиентов перед трансплантацией.

Таким образом, у изученных нами клеточных и гуморальных компонентов иммунологической системы после аллотрансплантации почки прослеживается тенденция к гомеостазу, который обуславливает перманентный — не только по времени, но и по уровню — характер иммунологических реакций на трансплантат, вследствие чего в нем происходит более или менее быстрая (в зависимости от уровня этих реакций) кумуляция воспалительных повреждений, главным образом проявляющаяся острым (криз) или хроническим отторжением. Эта тенденция должна учитываться при иммунодиагностике кризов отторжения и требует оптимального соотношения иммунодепрессивных и противовоспалительных препаратов в посттрансплантационном периоде.

Литература

1. Алексеев Л. П., Левицкий Э. Р., Порядин Н. Ф. и др. Исследование специфической активности популяции тимусзависимых лимфоцитов в клинике аллотрансплантации. — Пробл. гемат. и переливания крови, 1977, 9, с. 25—30.
2. Шевченко В. С. Аутологичная реакция преципитации сыворотки мышей линии С₃НА с экстрактами из нормальных тканей и гепатомы. — Вопросы онкологии, 1966, 12, № 10, с. 68—73.
3. Шевченко В. С. О нормальных противотканевых преципитинах сыворотки мышей как возможных аутоантител особого типа. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1969, 67, № 4, с. 121—123.
4. Шевченко В. С. Повышение активности нормальных противотканевых преципитинов сыворотки крови у больных с хронической почечной недостаточностью при лечении гемодиализом. — Урология и нефрология, 1975, № 3, с. 13—16.
5. Шевченко В. С. Иммуноадсорбционный гломерулонефрит и роль нормальных и иммунных антител в его патогенезе. — Физиол. журн. АН УССР, 1976, № 5, с. 675—681.
6. Шевченко В. С. Перманентность иммунологической реакции организма на трансплантат. — Физиол. журн. АН УССР, 1977, № 6, с. 801—804.
7. Arnesen E., Bondevik H. Donor-specific cellular and humoral immunity after clinical kidney transplantation. — Transplantation, 1976, 21, N 6, p. 489—497.
8. Buckingham J., Ritts R., Woods J., Ilstrup D. An assessment of cell mediated immunity in acute allograft rejection in man. — Mayo Clin Proc., 1977, 52, p. 101—105.
9. Cantaluppi A., Ponticelli C., Salerho F., et al. A modified rosette inhibition test in renal allotransplantation. — Transplantation, 1975, 19, N 3, p. 166—169.
10. Copeland D., Rashid A., Stewart T. et al. The use of in vitro lymphocyte responsiveness to specific mitogenic agents in the immunological monitoring of human renal allograft recipients. — Tissue Antigens, 1974, N 4, p. 106—110.
11. House A., Boak J., Carolin D. Changing in vitro leucocyte migration and transforma-

- tion responses 367.
12. Joseph N. H. patients. — Trans
 13. Opelz G., Teras val. — Transpl
 14. Page D., Posen tion in man: in Transplantation
 15. Rubin A., Sten: tence in renal h
 16. Sengar D., Ras veric renal allo
 17. Tennenbaum G clinical course: plantation, 1968
 18. Wonigeit K. St skin allograft r laboratories. Ha
 19. Wood R., Gray J., 1973, N 4, p.

Киевский институт

HOME
IMMUNOL

The state of
kidney allotranspla
effect of destructed

Institute of Urolog

- tion responses in renal allograft recipients.— *Transplantation*, 1973, 15, N 4, p. 359—367.
12. Joseph N. H. Phytohaemagglutinin cultures of blood cells from renal homotransplant patients.— *Transplantation*, 1966, 4, N 1, p. 8—10.
 13. Opelz G., Terasaki P. Prolongation effect of blood transfusions on kidney graft survival.— *Transplantation*, 1976, 22, N 4, p. 380—383.
 14. Page D., Posen Q., Stewart T. et al. Immunological detection of renal allograft rejection in man: increased deoxyribonucleic acid synthesis by peripheral lymphoid cells.— *Transplantation*, 1971, 12, N 5, p. 341—343.
 15. Rubin A., Stenzel K., Hirschhorn K. et al. Histocompatibility and immunologic competence in renal homotransplantation.— *Science* 1964, 143, p. 815—816.
 16. Sengar D., Rashid A., Harris J. Development of specific nonreactivity in human cadaveric renal allograft recipients.— *Tissue antigens*, 1976, N 7, p. 281—290.
 17. Tennenbaum G., Pierre R., Cerilli C. Evaluation of immunosuppressive therapy and clinical course in renal transplants by in vitro lymphocyte transformation.— *Transplantation*, 1968, 6, N 6, p. 986—990.
 18. Wonigeit K. Suppression of specific MLC responsiveness during the effector phase of skin allograft rejection in rats.— Seventh annual meeting of the German tissue typing laboratories. Hannover, 1976, p. 320—323.
 19. Wood R., Gray A. Evaluation of rosette inhibition test renal transplantation.— *Br. Med. J.*, 1973, N 4, p. 649—651.

Киевский институт урологии

Поступила в редакцию
25.VIII 1978 г.

V. S. Shevchenko

HOMEOSTASIS OF CELL AND HUMORAL COMPONENTS OF IMMUNOLOGICAL SYSTEM UNDER KIDNEY ALLOTRANSPLANTATION

Summary

The state of immunological system in 36 patients with glomerulonephritis after kidney allotransplantation was studied by the methods of blasttransformation under the effect of destructed donor splenocytes and by immunodiffusion.

Institute of Urology, Kiev