

Н. Г. АРЦИМОВИЧ, Э. П. ШЕЙНА

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИ ГОМОТРАНСПЛАНТАЦИИ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КОЖИ

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 14 V 1970)

В последние годы появились сообщения об успешных пересадках лиофилизированной кожи (1-3) и отдельные сведения о положительном исходе ауто- и гомотрансплантации кожи, предварительно консервированной в спирте и формалине (4, 5). Однако большинство этих исследований касалось вопросов, связанных с морфологической структурой кожи до и после ауто- и гомотрансплантации. Представляло интерес выяснить, какие иммунобиологические сдвиги возникают в организме реципиента в ответ на гомотрансплантацию кожи, лиофилизированной и консервированной в растворах спирта и формалина по сравнению с трансплантацией свежей кожи.

Ранее нами было показано, что лоскуты лиофилизированной кожи, несмотря на утрату жизнеспособности в процессе консервирования, при гомотрансплантации первично «приживляются» и стимулируют органогенез (6, 9). Нами было также установлено, что кожа, обработанная и хранящаяся в 1% растворе формалина и 10—20% растворах этилового спирта 7 суток, в отдельных наблюдениях сохраняла способность к приживлению при ауто- и гомотрансплантации (10).

В работе проведен сравнительный анализ изменений в регионарных лимфатических узлах в ответ на гомотрансплантацию консервированной кожи, изучены экстракты из регионарных лимфатических узлов и сывороток крови реципиентов на наличие антиэритроцитарных и антилейкоцитарных антител; в динамике исследована реакция тканей ложа в зависимости от вида консервированного гомотрансплантата.

Материал и метод. Всего в опытах использовано 189 кроликов. Полнослойные кожные лоскуты, размером 2 × 2,5 см, взятые с наружной поверхности ушной раковины, консервировали в 10 и 20% растворах спирта и 1% растворе формалина и подвергали лиофилизации (остаточная влажность 1—2%) с последующей ортотопической ауто- и гомотрансплантацией.

Морфологические исследования проводились посредством биопсий на границе трансплантата и материнского ложа в сроки от 1 до 45 суток. Полученный материал фиксировали в 12% нейтральном формалине, готовили парафиновые срезы толщиной 10—12 м, которые окрашивали гематоксилин-эозином и по методу ван Гизон. Эластические волокна выявляли методом Вейгерта, аргирофильные — Тиббор—Паппа.

Для изучения иммунологических сдвигов организма реципиента проводили реакции гемагглютинации на наличие полных и неполных антител (непрямая проба Кумбса), лейкоагглютинации и цитотоксическую пробу *in vitro*.

Регионарные лимфатические узлы удаляли на 7—14 дни после пересадки кожи, определяли увеличение их веса и степень иммунологической реакции на препаратах-отпечатках, окрашенных комбинированным способом Пашенгейма и по Браше. Подсчет клеточных элементов производили в трех отпечатках на 1000 зрелых лимфоцитов. Данные о содержании blastov и плазмобластов статистически обработаны.

Результаты экспериментов. Опыты показали, что во всех случаях гомотрансплантации консервированной указанными способами кожи

на 2—4 сутки наступала кратковременная (3—5 дней) васкуляризация лоскута, после чего он уплотнялся, превращался в плотные струны, которые оставались на раневой поверхности до 4 недель и дольше. Во всех случаях раневая поверхность замещалась грануляционной тканью, покрытой эпителиальным регенератом.

Гомотрансплантация кожи, консервированной в 10% растворе спирта и 1% растворе формалина и лиофилизированной, сопровождается существенными иммунологическими сдвигами в организме реципиента, однако менее выраженными, чем при гомотрансплантации свежей кожи.

Специфическая клеточная инфильтрация (лимфоциты и плазматические клетки) дермы трансплантата и ложа, предшествующая и сопровождающая отторжение трансплантата, отсрочена во времени и менее интенсивна по сравнению с реакцией на свежий гомотрансплантат. Она проявляется в случаях пересадки формализированной и лиофилизированной кожи на 10—15 сутки, алкоголизированной — на 15—20 сутки и после пересадки свежей кожи на 7—10 сутки.

Пересадка консервированных гомотрансплантатов кожи приводит к образованию в крови реципиентов специфических антител (полных и неполных гемагглютининов, лейкоагглютининов и цитотоксинов) и вызывает сенсибилизацию реципиента, что проявляется в ускоренной гибели вторичных трансплантатов (феномен «second set»).

Нам не удалось выявить зависимости между титрами антител и состоянием гомотрансплантата. В некоторых случаях отторжение трансплантата отмечалось при полном отсутствии антител. В тех случаях, когда обнаруживались антитела, титр их держался на низком уровне (1:2 — 1:4).

Максимальное увеличение регионарных лимфатических узлов после пересадки формализированной кожи наступало на 9 день, алкоголизированной — на 10 и лиофилизированной — на 13—14 сутки, а в случаях пересадки свежей кожи — на 7 сутки. Средняя величина отношения веса регионарного лимфатического узла к весу узла противоположной стороны составляла соответственно: $2,45 \pm 0,11$, $2,2 \pm 0,14$, $2,25 \pm 0,32$ и $2,6 \pm 0,35$.

Изучение цитологических препаратов-отпечатков показало, что в основе гипертрофии лимфатических узлов лежат глубокие изменения их клеточного состава. Прежде всего это относится к увеличению содержания незрелых форм плазматического ряда (бластов и плазмобластов).

Максимальная клеточная реакция после пересадки соответствует по срокам увеличению веса регионарных лимфатических узлов. Так, в дни максимальных реакций после гомотрансплантации формализированной кожи количество бластов и плазмобластов достигало $34,9 \pm 4,5$, алкоголизированной $27,4 \pm 4,12$, лиофилизированной $23,7 \pm 3,2$ и свежей $62,5 \pm 4,9$. Во всех случаях разница между количеством иммунологически компетентных клеток после гомотрансплантации свежей и консервированной кожи статистически достоверна ($P < 0,02$).

В препаратах-отпечатках из регионарных лимфатических узлов, окрашенных по методу Браше, в эти сроки отмечалось увеличение содержания пиронинофильных элементов с локализацией РНК в цитоплазме клеток плазматического ряда (рис. 1, 2) (рис. 2 см. вкл. к стр. 469).



Рис. 1. Регионарные лимфатические узлы шести кроликов после трансплантации лиофилизированной (а) и свежей (б) крови

Таким образом, пересадка лиофилизированной кожи, а также кожи, обработанной 10—20% растворами этилового спирта и 1% раствором формалина, вызывает почти такое же увеличение веса регионарных лимфатических узлов, как и при гомотрансплантации свежей кожи. Однако количество иммунокомпетентных клеток после гомотрансплантации консервированной кожи в регионарных узлах значительно ниже. Эти факты свидетельствуют о том, что обработанная указанными способами кожа, являясь хорошим пластическим материалом, вызывает меньшую сенсibilизацию организма реципиента, что положительно влияет на исходы регенерации.

Обсуждение результатов. Анализ проведенных иммунобиологических исследований свидетельствует о том, что гомотрансплантация консервированных в растворах спирта и формалина, а также лиофилизированных кожных лоскутов вызывает определенные иммунологические сдвиги в организме реципиента. Морфологическим проявлением их является инфильтрация тканевого ложа лимфоцитами и плазматическими клетками, гипертрофия регионарных лимфатических узлов и накопление в них незрелых пиронинофильных элементов плазматического ряда. Однако степень выраженности иммунологической перестройки организма реципиента в случаях пересадки фиксированной и лиофилизированной кожи значительно слабее и отсрочена во времени по сравнению с гомотрансплантацией свежей кожи. Это проявлялось в менее интенсивной плазмобластической реакции в регионарных лимфатических узлах и в низких титрах антител в экстрактах из них.

Изученные нами методы консервирования кожи в 10% растворе этилового спирта и 1% растворе формалина и лиофилизации могут быть рекомендованы при заготовке трупной кожи.

Являясь хорошим пластическим материалом, обработанная указанными способами кожа вызывает меньшую сенсibilизацию организма реципиента и способствует регенерации.

Научно-исследовательская лаборатория
экспериментальной иммунологии
Академии медицинских наук СССР
Москва

Научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии
Баку

Поступило
20 IV 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Н. Приоров, Тез. докл. II сессии общ. собрания АМН СССР, М., 1957, стр. 36. ² Г. Д. Вильявин, В кн.: Проблемы пересадки и консервации органов и тканей, М., 1959, стр. 197. ³ Р. Л. Гинзбург, Хирургия, № 6, 93 (1960). ⁴ В. Bogdanov, S. Bošković, Med. Arch., 18, № 6, 33 (1964). ⁵ А. И. Семичастный, В кн.: Проблемы гомопластики и аллопластики, Киев, 1967, стр. 359. ⁶ В. В. Войно-Ясенецкий, Тез. Докл. II Всесоюз. конфер. по проблеме тканевой несовместимости, консервации и трансплантации тканей, Одесса, 1961, стр. 76. ⁷ М. Л. Моис, А. Г. Лапчинский, А. Г. Эйнгори, Матер. III Всесоюз. конфер. по пересадке органов и тканей, Ереван, 1963, стр. 383. ⁸ Н. Г. Арцимович, Методическое совещание исполн. тем по вопр. заготовки, стерилизации, консервации и хранения гомо- и гетеротканей, Тез. докл. М., 1967, стр. 11. ⁹ Е. А. Ефимов, Н. Г. Арцимович, ДАН, 189, № 1, 219 (1969). ¹⁰ Э. П. Шейна, Тр. Бакинск. и-и. инст. травматологии и ортопедии, Баку, в. 8, 125 (1969).