

УДК 576.097

ИММУНОЛОГИЯ

Н. И. ШАТАЛОВА, Н. И. НАСТОЯЩАЯ, Н. Г. АРЦИМОВИЧ,
О. С. СЕРГЕЛЬ

**ИЗМЕНЕНИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У МЫШЕЙ
ПРИ СПЕЦИФИЧЕСКОМ И КОМБИНИРОВАННОМ ПОДАВЛЕНИИ
ТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО ИММУНИТЕТА**

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 11 X 1972)

В последние годы в хирургической практике при пересадке органов широкое применение нашли неспецифические иммунодепрессоры (¹⁻³). Однако известно, что длительное использование этих препаратов нередко сопровождается тяжелыми осложнениями, связанными с их токсическим действием (⁴). Именно поэтому в последние годы все большее значение приобретает разработка методов специфической и комбинированной (сочетание неспецифических ингибиторов иммуногенеза с введением донорских антигенов) иммунодепрессии. При этом в ряде работ, связанных с изучением этого вопроса, удалось получить не только значительное prolongation времени выживания тест-трансплантата, но и стойкую толерантность (⁵⁻⁷).

Поскольку токсическое действие неспецифических ингибиторов иммунологической реактивности, как правило, сопровождается гематологической депрессией (^{8, 9}), при выборе оптимального метода подавления трансплантационного иммунитета важное значение имело бы сопоставление показателей периферической крови у животных с толерантностью, полученной разными способами. Однако состояние крови реципиентов при специфических и комбинированных методах иммунодепрессии остается неясным.

Настоящая работа имела целью изучить гематологические показатели у животных с различной степенью толерантности к кожным аллотрансплантатам при комбинированном использовании таких неспецифических иммунодепрессоров, как антилимфоцитарная сыворотка (АЛС) и циклофосфамид (ЦФ), а также антигена в виде жизнеспособных клеток селезенки доноров.

Эксперименты выполнены на взрослых чистопородных мышках возрастом 2,5-3,0 месяца. Реципиентами служили мыши линии C₅₇BL/6J, донорами — C₅₇BR.

АЛС получали иммунизацией кроликов лимфоидными клетками брыжеечных лимфатических узлов мышей (¹⁰). Титр лимфоцитотоксина и лейкоагглютининов после абсорбции сыворотки эритроцитами мышей был равен 1 : 512, гемагглютининов 1 : 4.

АЛС вводили внутрибрюшинно в течение трех дней по 0,2 мл., ЦФ — внутривенно, четырехкратно через день по 50 мг на 1 кг веса животного, взвесь клеток селезенки — внутривенно в общей дозе $3,0 \cdot 10^8$ — $3,2 \cdot 10^8$ жизнеспособных ядерных клеток.

Анализ крови производили на следующий день после окончания курса обработки, перед трансплантацией кожного лоскута и через 10 дней после нее.

Результаты экспериментов представлены в табл. 1.

В первой серии опытов введение ЦФ вызывало снижение числа лейкоцитов с 8010 ± 2041 до 4926 ± 327 ($p < 0,001$), а лимфоцитов с 5423 ± 1668

Гематологические показатели у мышей линии C₅₇BL/6J с различной степенью толерантности к кожным аллотрансплантатам

Номер серий	Обработка до (-) или после (+) трансплантации	Число животных	Интервал времени между окончанием обработки и взятием крови (дни)	Количество лейкоцитов в 1 мм ³ крови	Количество лимфоцитов в 1 мм ³ крови	Среднее время выживания тест-трансплантата (дни)
I	ЦФ (-)	9	1	4926 ± 327	2124 ± 277	
			7	11809 ± 1179	4134 ± 352	9,66 ± 0,72
			17	9858 ± 558	4468 ± 484	
II	ЦФ (+)	10	1	8862 ± 837	4028 ± 566	11,9 ± 0,57
III	АЛС (-), ЦФ (+)	10	1	6568 ± 475	1685 ± 244	15,4 ± 1,18
IV	АЛС (-), ЦФ (-)	7	2	8474 ± 805	4378 ± 716	10,14 ± 0,14
V	АГ (-)	9	1	10407 ± 1020	5398 ± 727	18,33 ± 1,51
			5	7896 ± 489	4897 ± 332	
VI	АЛС(-), АГ (-)	10	5	9907 ± 333	5673 ± 333	26,11 ± 3,46
VII	АЛС (-), ЦФ -, АГ (-)	10	3	10501 ± 497	3851 ± 317	22,5 ± 1,81
VIII	Пересадок кожи	10	1	13222 ± 465	7531 ± 501	9,35 ± 0,28
IX	Контроль (до обработки)	20	0	8010 ± 2041	5423 ± 1668	—

Примечание. АГ—антиген (взвесь живых клеток селезенки доноров).

до 2124 ± 277 ($p < 0,001$). Среди лимфоцитов преобладали малые и средние формы. Отмечались нерезко выраженные нарушения структуры клеток, проявляющиеся в изменении хроматина ядра в виде комковатости и вакуолизации. Встречались ридеровские формы лимфоцитов. В этот период наблюдали начало процесса плазматизации клеток.

Неделю спустя после окончания лечения ЦФ количество лейкоцитов поднималось до 11809 ± 1178 ($p < 0,001$). Общее число лимфоцитов также нарастало (4134 ± 352 , $p < 0,001$) в основном за счет средних форм, при этом содержание малых лимфоцитов падало. Увеличивалось количество ретикулярных клеток. Отмечалась резко выраженная плазматизация клеток как ретикулярных, так и всех без исключения лимфоцитов. Наблюдались деструктивные изменения клеток, выразившиеся в появлении голоядерных элементов, фигур распада, пикноза ядер лимфоцитов и нейтрофилов.

Произведенная в этот период пересадка кожного лоскута закончилась гибелью трансплантата в обычные сроки $9,66 \pm 0,72$ дней. (контроль $9,35 \pm 0,28$ дней). К моменту отторжения трансплантата количество лимфоцитов несколько нарастало (4468 ± 484).

Во второй серии опытов обработку ЦФ начинали на следующий день после трансплантации кожного лоскута на фоне ярко выраженных лейко- и лимфоцитоза ($13\,222 \pm 465$ и 7531 ± 501), обусловленных ею, в связи с чем у животных этой серии после окончания лечения количество лейкоцитов было в два раза больше, чем в этот же период в предыдущей серии. Половину их составляли лимфоциты. При сравнении с контролем здесь можно говорить о некоторой лимфоцитопении. Качественные изменения клеток крови были выражены в значительно меньшей степени, чем у животных предыдущей серии. Отмечались фрагментоз и комковатость ядер нейтрофилов, нерезко выраженная плазматизация клеток. В препаратах встречались единичные ретикулярные клетки.

Пролонгация времени выживания трансплантата по сравнению с контролем была незначительной, хотя и статистически достоверной ($p < 0,05$).

В следующей, третьей серии экспериментов, ЦФ вводили также после трансплантации, но с предварительной терапией АЛС, которая заканчивалась в день пересадки. Введение сыворотки снижало содержание лейкоцитов, вследствие чего пересадка кожи производилась на более низком лейкоцитарном фоне (7546 ± 792). В результате последующая обработ-

ка ЦФ приводила к лейко- и лимфоцитопении, выраженным в значительно большей степени, чем в предыдущей серии. Среди лимфоцитов преобладали средние формы. Качественных изменений клеток крови не наблюдалось. Низкий уровень лимфоцитов сочетался с более длительным выживанием кожного аллотрансплантата ($15,4 \pm 1,18$ дней).

В четвертой серии экспериментов лечение ЦФ было начато через сутки после окончания курса инъекций АЛС. Спустя два дня после последней инъекции ЦФ количество лейко- и лимфоцитов было близким к норме (8474 ± 805 и 4378 ± 716 соответственно).

К моменту пересадки, произведенной через 4 дня после введения препаратов, состояние крови успевало нормализоваться. Время выживания кожного трансплантата составило $10,14 \pm 0,14$ дней ($p > 0,001$).

Иная картина наблюдалась при специфической и комбинированной обработке реципиентов.

Так, в пятой серии опытов при предварительном введении антигенного материала к концу лечения наблюдали некоторое увеличение числа лейкоцитов и лимфоцитов ($10\,407 \pm 1020$ и 5398 ± 727 соответственно). Четыре дня спустя, к моменту трансплантации, количество лейкоцитов падало до 7896 ± 489 , а лимфоцитов — до 4897 ± 332 . Однако, несмотря на это, в данной серии наблюдали значительное продление жизни кожного трансплантата.

В шестой серии опытов при сочетанной обработке АЛС, а затем антигеном количество лейкоцитов (9908 ± 333) и лимфоцитов (5675 ± 333) в день трансплантации даже несколько превышало норму. Вместе с тем наблюдали увеличение среднего времени выживания кожного трансплантата по сравнению с предыдущей серией, $26,11 \pm 3,46$ дней ($p < 0,05$), а в одном случае — стойкую толерантность.

Наконец, в седьмой серии дополнительное введение ЦФ после АЛС, но перед антигеном вызывало достаточно выраженную лимфоцитопению (3815 ± 317). Тем не менее иммунодепрессивное действие антигена и АЛС было ослаблено, о чем свидетельствовало среднее время выживания трансплантата, которое составило $22,5 \pm 1,81$ дня. По-видимому, это явилось результатом токсического действия ЦФ на введенные клетки селезенки, препятствующего их репопуляции.

Таким образом, подавление трансплантационного иммунитета неспецифическими иммунодепрессорами (АЛС и ЦФ), как правило, сопровождается лейко- и особенно лимфоцитопенией, выраженными в той или иной мере. В то же время при использовании специфических и комбинированных методов индукции иммунологической толерантности значительное продление времени выживания аллотрансплантатов получается без сколько-нибудь существенных изменений со стороны крови.

Научно-исследовательская лаборатория
экспериментальной иммунологии
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
26 IX 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ M. Cazar et al., Rev. Inst. Pasteur, Lyon, 1, 17 (1968). ² I. P. Glynn et al., Cancer Res., 28, 41 (1968). ³ Л. Л. Хунданов, В. Ф. Портной, Е. М. Кипервассер, Эксп. хирург., № 2, 52 (1969). ⁴ I. Penn, Minerva chir., 26, № 13, 718 (1971). ⁵ A. Monaco et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 129, 190 (1966). ⁶ Н. Н. Сорокина, Медицина и экспериментальная биология, М., 1967, стр. 97. ⁷ Н. Г. Арцимович, Н. Н. Сорокина, М. М. Капичников, Трансплантация органов и тканей. Матер. V Всесоюз. конфер. по пересадке органов и тканей, Горький, 1970, стр. 38. ⁸ J. B. Grogan, J. D. Hardy, Surgery, 62, № 2, 352 (1967). ⁹ А. И. Савельев, Н. А. Краскина и др., Иммунодепрессия при аллотрансплантации. Матер. докл. Респ. симп., Ташкент, 1971, стр. 62. ¹⁰ Н. Н. Настоящая и др., Иммунодепрессия при аллотрансплантации. Матер. докл. Респ. симп., Ташкент, 1971, стр. 54.