

УДК 612.015.1

ИММУНОЛОГИЯ

Л. Л. ХУНДАНОВ, Н. Г. АРЦИМОВИЧ, Л. Н. ЧЕРКАЩЕНКО,
С. С. КИРЗОН, М. Ш. ВЕРБИЦКИЙ, Н. Н. НАСТОЯЩАЯ

ОЦЕНКА КРИЗА ОТТОРЖЕНИЯ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА ПО ИММУНОЛОГИЧЕСКИМ И БИОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

(Представлено академиком В. Д. Тимаковым 29 IX 1971)

Широко используемые иммунологические показатели отторжения аллотрансплантатов, такие как лимфоцитотоксический тест, реакция лейкоагглютинации, изогемагглютинации (¹⁻³), по-видимому, не в состоянии полностью отразить степень развивающихся иммунологических коллизий (^{4, 5}).

Установлено, что появление в крови у реципиента гетерофильных геммагглютининов может служить одним из иммунологических показателей отторжения аллотрансплантата (^{6, 7}). Кроме того, известно (⁸⁻¹¹), что увеличение в сыворотке крови содержания глютамино-пировиноградной (ГПТ), глютамино-щавелевоуксусной (ГЩТ) трансаминаз может служить одним из тестов отторжения аллотрансплантатов. Повышение в сыворотке крови концентрации хлорнорастворимых мукопротеидов (ХРМ), по литературным данным (¹²), отражает наличие в тканях организма деструктивных процессов, а поэтому, по-видимому, увеличение содержания ХРМ может служить также показателем реакции отторжения, которая сопровождается гибелью трансплантата. Однако до последнего времени остается неясным, какие из перечисленных выше тестов наиболее полно отражают состояние пересаженной ткани, в связи с чем представляло интерес сопоставить различные иммунологические и биохимические показатели в процессе отторжения аллотрансплантата.

В задачу наших исследований входило изучение динамики титра лимфоцитотоксических, лейкоагглютинирующих и гемагглютинирующих антител, а также гетерофильных гемагглютининов по отношению к эритроцитам барана, собаки, кролика и человека групп 0(I), A(II) и B(III) в сравнительном аспекте. Параллельно с этим были исследованы концентрации ГЩТ, ГПТ и ХРМ.

В экспериментах были использованы крысы-самки линии Августы весом 120—150 г, которым пересаживали на область спины кожные лоскуты размером 3 × 2 см, взятые от крыс-самок линии Вистар.

Иммунологические сдвиги в сыворотке крови реципиентов и концентрацию ферментов определяли на 6, 8 и 14 послеоперационные дни. В качестве контрольных данных были взяты показатели, полученные у интактных животных, которым пересадка кожных аллотрансплантатов не производилась.

Определение концентраций ГПТ и ГЩТ производили по методу, описанному в (¹³) и (¹⁴), а ХРМ — по методу (¹⁵).

Реакции лейкоагглютинации, изогемагглютинации и лимфоцитотоксический тест производили по общепринятой методике. Гетерофильные гемагглютинины определяли по методике, описанной в (¹⁶). Гистологические препараты кожных аллотрансплантатов окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон.

Таблица 1

Динамика появления гуморальных антител в процессе отторжения аллотрансплантатов

Дни после трансплантации	Общее число обследованных сывороток	Титры антител к клеткам донора						Титры антител к гетерологичным эритроцитам											
		лимфоцитотоксины		лейкоагглютинины		гемагглютинины		барана		собаки		кролика		человека 0 (I)		человека A(II)		человека B (III)	
		число сывороток	титры	число сывороток	титры	число сывороток	титры	число сывороток	титры	число сывороток	титры	число сывороток	титры	число сывороток	титры	число сывороток	титры	число сывороток	титры
6	12	12	—	12	—	12	—	8	—	8	—	12	—	12	—	12	1 : 8	10	—
8	15	13	—	15	—	8	—	4	1 : 2	4	1 : 2	10	1 : 2	4	1 : 2	2	1 : 8	2	1 : 2
		2	1 : 2			4	1 : 2	6	1 : 4	4	—		1 : 4	4	1 : 4	7	1 : 16	7	1 : 2
						3	1 : 4	5	1 : 8	6	1 : 2		1 : 4	8	1 : 4	5	1 : 16	5	1 : 4
14	19							3	1 : 16	5	1 : 4			3	1 : 8	5	1 : 32	2	1 : 8
								1	1 : 32									1	1 : 16
			1 : 16	2	1 : 16	1	1 : 2	7	1 : 2	6	—	5	1 : 4	3	1 : 2	6	1 : 8	5	1 : 4
		7	1 : 32	8	1 : 32	10	1 : 4	5	1 : 4	9	1 : 2	11	1 : 8	9	1 : 4	9	1 : 16	9	1 : 8
		5	1 : 64	7	1 : 64	7	1 : 8	5	1 : 8	4	1 : 4	3	1 : 16	7	1 : 8	4		5	1 : 16
Контроль (до трансплантации)	25	4	1 : 128	2	1 : 128	1	1 : 16	2	1 : 16										
		3						21	—	22	—			23	—			20	—
		25	—	25	—	25	—	4	1 : 2	3	1 : 2	25	—	2	1 : 2	25	1 : 8	5	1 : 2

Результаты исследований динамики появления гуморальных антител, начиная с 6-го послеоперационного дня, представлены в табл. 1. Как видно из полученных данных, в сыворотке подопытных животных на 6 день обнаружены только гетерофильные гемагглютинины к эритроцитам человека А (II)-группы, титр которых не превышал контрольных показателей. Далее, на 8 послеоперационный день, отмечалось появление лимфоцитотоксических лейкоагглютининов и изогемагглютининов, максимальный титр которых отмечался на 14 послеоперационный день. В противоположность этому титр всех исследованных гетерофильных гемагглютининов достигал своего максимума уже на 8 послеоперационный день.

При изучении динамики содержания в сыворотке подопытных животных указанных ферментов уже на 6 день после пересадки кожного лоскута у животных отмечалось значительное статистически достоверное увеличение содержания ГПТ, ГЩТ ($P < 0,05$) по сравнению с исходными показателями (табл. 2). Исследование на 8 послеоперационный день показало дальнейшее увеличение содержания этих ферментов. На 14 день после операции отмечено начало снижения их концентрации.

Таблица 2

Изменение концентраций глютамино-пировиноградной (ГПТ), глютамино-щавелевоуксусной (ГЩТ) трансаминаз и хлорнорастворимых мукопротеидов (ХРМ) у животных в процессе отторжения аллотрансплантатов

Дни после трансплантации	Общее число обследованных сывороток и № группы	ГПТ (м.е./мл)	ГЩТ (м.е./мл)	ХРМ (мг-%)
6	I группа (10)	$7,08 \pm 0,57$ $P_{I-II} < 0,05$	$103,3 \pm 7,45$ $P_{I-II} > 0,05$	$335 \pm 13,6$ $P_{I-II} < 0,05$
8	II (9)	$12,4 \pm 2,41$ $P_{II-III} > 0,05$	$114,3 \pm 11,41$ $P_{II-III} < 0,05$	$560 \pm 13,41$ $P_{II-III} < 0,05$
14	III (8)	$10,97 \pm 1,92$ $P_{III-IV} < 0,05$	$41,92 \pm 10,25$ $P_{III-IV} > 0,05$	$349 \pm 26,76$ $P_{III-IV} < 0,05$
Контроль (до трансплантации)	IV (10)	$4,48 \pm 0,37$ $P_{I-IV} < 0,05$	$31,9 \pm 1,87$ $P_{I-IV} < 0,05$	172 ± 8 $P_{I-IV} < 0,05$

Определение концентрации ХРМ выявило еще более четкую динамику изменений их содержания. Достоверное повышение ХРМ ($P < 0,05$) наблюдалось уже на 6 послеоперационный день, максимальное увеличение было отмечено на 8 день, а на 14 день — некоторое снижение, хотя концентрация ХРМ еще превышала контрольные показатели ($P < 0,05$).

Учитывая, что полная гибель трансплантата наступала к 8—10 дню, можно считать, что повышение концентрации ГЩТ, ГПТ и, в особенности, ХРМ предшествует кризу отторжения и может быть использовано как прогностический критерий для выявления криза отторжения.

При изучении гистологической структуры кожных лоскутов на 6 день после пересадки была отмечена характерная картина отторжения аллотрансплантата (рис. 4 см. вклейку к стр. 1227). Эпидермис трансплантата находился в стадии разрушения. Во всех случаях дерма трансплантатов была значительно инфильтрирована лимфоидальными элементами; в ней местами можно было обнаружить скопления деформированных волосных фолликул. Кроме того можно было отчетливо видеть хорошо выраженный лейкоцитарный вал, который как бы отделял трансплантат от подлежащей ткани. В зоне гипертрофированных краевых участков эпидермиса реципиента под лейкоцитарным валом были видны отрастающие участки регенерирующего эпидермиса.

На 8 день регенерирующий эпителий хозяина по сравнению с предыдущим сроком значительно продвинулся под отторгающийся трансплантат, а

в отдельных случаях остатки трансплантата в виде струпа лежали над участками эпителизированной поверхности, образованной пластом регенерирующего эпителия реципиента.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в ходе развивающегося криза отторжения процессы деструкции трансплантата предшествуют появлению гуморальных антител, таких как гетерофильные гем-агглютинины, лимфоцитотоксины, лейкоагглютинины и изогемагглю-**тинины.**

Наиболее адекватно отражающими показателями развивающегося процесса отторжения трансплантата, по нашим данным, являются изменение исследованных ферментов (ГЩТ и ГПТ) и, особенно, хлорнораствори-**мых мукопротеидов.**

По всей вероятности, полученные результаты могут иметь значение в качестве тестов как в клинических, так и в экспериментальных исследованиях для выявления ранних кризов отторжения.

Научно-исследовательская лаборатория
экспериментальной иммунологии

Поступило
29 IX 1971

Институт хирургии им. А. В. Вишневского
Академии медицинских наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. A. Gorer, *Cancer Res.*, **7**, 634 (1947). ² R. M. Garver, L. Cole, J. Immunol., **86**, 307 (1961). ³ P. I. Terasaki, I. A. Cannon, W. P. Longmire, *Transplant. Bull.*, **7**, 415 (1960). ⁴ T. E. Starzl, *Surg. Gynec. Obstetrics*, **130**, 316 (1970). ⁵ M. Hasek, I. Karakoz et al., *Transp. Proc.*, **1**, 527 (1969). ⁶ C. N. Barnard, *J. Assoc. Med. Canad.*, **100**, 91 (1969). ⁷ L. E. Algmard, S. E. Svehag, *Acta pathol. microbiol. scand.*, **73**, 605 (1969). ⁸ K. Schwartz, M. Clauvel, *Arch. Mal. Coeur*, **62**, 767 (1969). ⁹ M. Clauvel, K. Schwartz et al., *Nature*, **220**, 483 (1968). ¹⁰ D. A. Cooley, R. D. Bloodwell, G. L. Hallman, *J. Card. Surg.*, **9**, 403 (1968). ¹¹ D. Guilmet, R. Soyer, *Press Med.*, **78**, 15 (1970). ¹² Л. Н. Черкащенко, Автореф. кандидатской диссертации, М., 1969. ¹³ M. Iatzidis, *Nature*, **186**, 79 (1960). ¹⁴ Т. С. Пасхина, Методическое письмо Института биохимии АМН СССР, М., 1959. ¹⁵ A. Weimer, G. Moshin, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **84**, 34 (1953). ¹⁶ F. Rapaport, J. Dausset, I. Hamburger, *Ann. Surg.*, **166**, 596 (1967).