

УДК: 612.017.1: 616.43

ИЗМЕНЕНИЕ СРОКОВ ОТТОРЖЕНИЯ АЛЛОГЕННОГО КОЖНОГО ЛОСКУТА У КРЫС С АДОПЦИЕЙ СИНГЕННОГО ЛИКВОРА, ПОЛУЧЕННОГО ОТ КРЫС С МОДЕЛЬЮ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

Утямышев Р.Г.

Второй Ташкентский Государственный медицинский институт

Изучалось влияние адапции сингенной цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) от крыс с сингенным и аллотрансплантатом на иммунитет крыс с аллотрансплантатом. Показано, что адаптируемый ликвор является источником афферентной сигнализации, адресованной иммунокомпетентному микроокружению гипоталамуса реципиента ликвора, и изменяет течение иммунных процессов в соответствии с таковыми имеющими место в организме донора. Также показано, что в условиях аллогенной кожной трансплантации донору и реципиенту ЦСЖ, интенсивность влияния адаптируемой ЦСЖ на центральную иммунорегуляцию реципиента ликвора зависит от соответствия антигенспецифичности аллографта донора ЦСЖ аллографту реципиента ЦСЖ.

На сегодняшний день вопрос не в том, регулирует ли мозг иммунные реакции, а в том является ли он сам иммунным органом. В то же время, нет единства позиции относительно локализации иммунорегуляторного центра в гипоталамусе. Так, согласно данным одних авторов латеральная часть, а по другим данным – медиальная часть преоптической области гипоталамуса является интегративным центром иммунорегуляции. [6;10] В то же время, показано, что эта область может являться воспринимающей иммуногенные сигналы, но не является центром нейроиммунотуляции. [4] Однако, вероятно, что существует определенная иммунорегуляторная “специализация” гипоталамических зон. Высокая актуальность изучения принципов иммунорегуляторной деятельности ЦНС предопределила цель данной работы.

Цель исследования. Оценка влияния адапции сингенной цереброспинальной жидкости от крыс с моделью сингенной и аллотрансплантации на трансплантационный иммунитет крыс с аллогенным кожным лоскутом.

Материал и методы исследования. В работе приведены данные, полученные от 32 крыс линии Brown Norway, весом 160-180г. Оперативное вмешательство осуществлялось под гексеналовым наркозом (доза – 70мг./кг., внутривенно). Трансплантация кожного лоскута и его выживаемость воспроизводилась и оценивалась по общепринятому методу. [1] Адапция цереброспинальной жидкости в III желудочек мозга проводилась раз в сутки согласно стандартной стереотопографии по точке Bregma на аппарате WPI (Germany). [8] Количественное определение показателей иммунного статуса проводили с ис-

пользованием набора дифференцировочных маркеров (Sandoz Pharma AG, Switzerland). Статистическая обработка результатов проводилась с расчетом критерия Стьюдента, с достоверностью различий при $p \leq 0,05$.

Полученные результаты и их обсуждение. В первой серии экспериментов оценивалась реактивность иммунной системы крыс Brown Norway (BN) с аллотрансплантатом от крыс Sprague Dawley (SD), в условиях трансфузии сингенной цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) от доноров с сингенным лоскутом. Для сравнения рассматривалась группа крыс той же линии (BN) с аллогенным (SD) лоскутом. (Таблица) Показано, что лишь число лейкоцитов снизилось на 10% в сравнении с показателем в группе сравнения. Тогда как, численность остальных показателей имела тенденцию к снижению.

В следующей (второй) серии экспериментов в качестве опытной группы использовались крысы BN с трансплантатом от крыс SD, в условиях адапции ЦСЖ от сингенных крыс с аллогенным SD лоскутом. Задачей была оценка иммунологической активности сингенной ЦСЖ, адаптированной от доноров с аллогенным (SD) трансплантатом. Показано, что в сравнении с крысами без адапции ЦСЖ, количество лейкоцитов не уменьшалось, а отдельные показатели характеризовались возрастанием, в том числе, количество моноцитов/макрофагов достоверно возросло в сравнении с предыдущей экспериментальной группой. Схожий вектор изменений был характерен для общего пула лимфоцитов и его Т-хелперной составляющей, однако статически достоверного увеличения клеточности не отмечено. Значительное увеличение клеточности

имело место среди Т-лимфоцитов CD³⁺ и NK-клеток, которые достоверно превышали эти же показатели в вышеприведенной группе с адоптированным сингенным ликвором.

Заключительная экспериментальная серия (третья) была призвана продемонстрировать особенности трансплантационной реакции у крыс BN с аллотрансплантатом от крыс SD и с адопцией сингенного ликвора от доноров с лоскутом

от беспородных особей. Общее количество лейкоцитов достоверно снизилось по отношению к группе животных без ликворотрансфузии. Количество нейтрофилов, мононуклеаров, общего пула лимфоцитов, хелперной и эффекторной субпопуляций Т-лимфоцитов не имело достоверных отличий от показателей в приведенных выше группах.

Таблица 1. Показатели иммунограммы крыс с аллотрансплантатом в условиях адопции сингенной ЦСЖ от доноров с различной моделью трансплантации

показатели иммунитета ($\times 10^6/L$)	крысы BN с аллогенным кожным лоскутом от крыс SD	крысы BN с аллотрансплантатом SD + адопция сингенной ЦСЖ от крыс с сингенным лоскутом	крысы BN с аллотрансплантатом SD + адопция сингенной ЦСЖ от крыс с аллогенным лоскутом SD	крысы BN с аллотрансплантатом SD + адопция сингенной ЦСЖ от крыс с лоскутом от б/породн. крыс
лейкоциты	8601,2 \pm 168,9	7721,4 \pm 150,5 ^a	8057,8 \pm 221,3	7841,5 \pm 256,1 ^a
нейтрофилы	4148,6 \pm 68,1	4126,9 \pm 84,5	4099,9 \pm 19,8	4135,7 \pm 60,4
мононуклеары	256,1 \pm 5,9	239,4 \pm 5,3	273,3 \pm 9,2 ^b	253,2 \pm 4,5
лимфоциты	3718,5 \pm 102,2	3605,4 \pm 112,4	3837,2 \pm 140,6	3798,8 \pm 106,5
В-лимфоциты	450,3 \pm 10,5	441,6 \pm 12,1	431,8 \pm 4,0	472,2 \pm 4,9 ^{bc}
Т-лимфоциты	3058,8 \pm 224,8	2852,9 \pm 177,9	3476,6 \pm 157,5 ^b	2860,4 \pm 172,0 ^c
Т-хелперы	2063,1 \pm 102,3	1831,8 \pm 80,8	2091,9 \pm 138,3	2121,4 \pm 111,1
Т-эффекторы	983,5 \pm 67,4	965,8 \pm 39,0	955,8 \pm 50,2	987,5 \pm 55,3
NK-клетки	315,3 \pm 12,8	296,6 \pm 5,8	336,5 \pm 11,7 ^b	326,7 \pm 5,1 ^b

Примечания: во всех сравниваемых группах n = 8

a – достоверно по отношению к контрольной группе крыс BN без ликворотрансфузии

b – достоверно по отношению к группе крыс BN с адопцией ЦСЖ от доноров BN с сингенным лоскутом

c – достоверно по отношению к группе крыс BN с адопцией ЦСЖ от доноров BN с аллогенным SD лоскутом

В группе крыс третьей экспериментальной серии число В-лимфоцитов имело тенденцию к увеличению в сравнении с контрольной группой крыс и статистически значимо повышалось в сравнении с двумя предыдущими опытными группами (с адопцией ЦСЖ от доноров с лоскутом BN и от доноров с лоскутом SD). Кроме того, в описываемой группе наблюдается снижение числа Т-лимфоцитов в сравнении с группой животных с ликворотрансфузией от доноров с аллотрансплантатом от линии SD. Число NK-клеток, будучи незначительно ниже, чем в пре-

дыдущей группе, все же достоверно отличалось в сторону увеличения в сравнении с первой группой крыс с аллогенным лоскутом и с адопцией сингенной ЦСЖ от крыс с сингенным трансплантатом.

Известно, что иммунограмма позволяет судить об изменениях в иммунной системе лишь во взаимосвязи с другими (более объективными) критериями оценки иммунитета, в силу того, что течение иммунных процессов в организме зависит не столько от количества иммуноцитов в крови, сколько от их функциональной активности, антигенспецифичной вариабельности, цитокинового фона и многих других факторов. [9] В этой связи, приведенная раскладка показателей иммунограммы описанных экспериментальных групп животных представляет интерес лишь при ее анализе во взаимосвязи с особенностями отторжения аллотрансплантата у этих крыс. Так, отторжение лоскута в контрольной группе крыс без каких-либо манипуляций с составом ликвора, омывающего гипоталамическую область ЦНС,

носило классический характер и сопровождалось адекватным изменением клеточных показателей иммунитета в периферической крови, свидетельствующим об активизации иммунитета, вызванной аллотрансплантацией. В контрольной группе крыс BN срок выживания аллогенного лоскута от линии крыс SD составил $19,0 \pm 0,7$ суток.

В первой группе крыс линии BN аллогенный лоскут от линии SD подвергся отторжению через $31,9 \pm 0,5$ суток в условиях адаптации сингенной ЦСЖ от доноров линии BN с сингенным лоскутом, т.е. длительность выживания аллотрансплантата достоверно возросла на 13 суток по сравнению с контрольной группой, что, вероятно, обусловлено следующим обстоятельством. Донорский ликвор, по причине сингенности лоскута пересаженного в организм хозяина, не несет в себе активной клеточной и цитокиновой афферентной сигнализации, адресованной иммунокомпетентному микроокружению гипоталамуса и свидетельствующей об интенсивной трансплантационной реакции. Тогда как замещаемый ликвор крыс реципиентов адаптируемого ликвора, включает в свой состав мигрировавшие с периферии лимфоциты и синтезированные вне гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и непосредственно в ЦНС цитокины и свидетельствует об интенсивной трансплантационной реакции, обусловленной аллогенным лоскутом. Таким образом, адаптированный ликвор, по своему потенциалу иммуностропной активности во многом уступает потенциалу замещаемого ликвора реципиента, следовательно, ликворотрансфузия, в данной ситуации, способствует значительному ослаблению регуляторных импульсов, исходящих из гипоталамического центра поддержания иммунного гомеостаза. Работами ряда исследователей, в определенной мере, подтверждается право на существование представленного суждения. [3] Кроме того, имеет место ослабление регуляции иммунитета за счет травматического (послеоперационного) снижения активности центра поддержания иммунного гомеостаза в гипоталамусе. Привлекает внимание определенной несоответствие между продлением срока жизни аллогенного лоскута и отсутствием статистически значимого отличия иммунограммы описываемой группы от контрольных крыс без адаптации ЦСЖ.

Во второй серии экспериментов крысам линии BN с аллогенным лоскутом, полученным от линии SD была адаптирована сингенная ЦСЖ от доноров с такой же моделью трансплантации. Срок выживания аллотрансплантата составил $14,4 \pm 0,5$ суток, т.е. процессы отторжения усилились и срок выживания лоскута сократился на

4-5 суток. Основываясь на тех же рассуждениях, что и в вышеописанном случае, можно предположить, что трансфузия донорской ЦСЖ, обладающей высокой иммунной активностью, обусловленной трансплантационной реакцией в организме донора, усиливает иммуностропную активность ликвора реципиента, путем повышения числа антигенактивированных иммуноцитов и концентрации цитокинов, входящих в его состав, тем самым, интенсифицируя отторжение за счет центральных механизмов регуляции. В пользу приведенного суждения косвенно свидетельствуют данные, полученные другими исследователями. [7] В то же время, в данной группе корреляция показателей иммунограммы и сроков отторжения лоскута не вполне четкая.

Аллотрансплантат, приживленный животным третьей экспериментальной серии, оставался жизнеспособным в течение $20,8 \pm 0,6$ дней, что статистически не отличается от срока, наблюдавшегося в контрольной группе крыс, не подвергавшихся адаптации ЦСЖ, но достоверно отличается от показателя выживаемости у крыс предыдущей описанной группы почти на 7 дней. Очевидно, что сроки выживания лоскута продлены в сравнении с предыдущей группой вследствие отличия в характеристиках гистосовместимости лоскута крыс описываемой группы от лоскута крыс доноров ликвора, т.е. из-за особенностей антигенспецифичной активации иммунокомпетентной составляющей адаптируемого сингенного ликвора. Логично предположить, что адаптация сингенной ЦСЖ от доноров той же линии, но с аллотрансплантатом от беспородных особей оказала цитокинопосредованное активирующее влияние на гипоталамический центр иммунного гомеостаза, но лимфоцитарная составляющая адаптированного ликвора не оказала влияния ввиду различия в антигенной природе беспородного трансплантата у доноров ЦСЖ и линейного (SD) трансплантата у реципиентов ЦСЖ. Более того, по мнению отдельных авторов, не исключено, что лимфоцитарная составляющая адаптируемого ликвора оказывает ингибирующее воздействие на трансплантационную реактивность по причине дезрегуляции МНС-II опосредованной межклеточной кооперации собственных лимфоцитов и нейроглиальных элементов в пределах ГЭБ. [2] Также имеет место супрессия иммунитета вследствие сбоя центральных механизмов регуляции из-за нарушения целостности ГЭБ. [5] Описанный механизм иммуностропного влияния адаптированной ЦСЖ согласуется с приводимыми показателями лимфоцитогаммы.

Заключение.

1. Адопция сингенной ЦСЖ влияет на интенсивность трансплантационных процессов. Это влияние зависит от иммунных характеристик донорской ЦСЖ, обусловленных иммунными процессами в организме самого донора.

2. Интенсивность влияния адоптируемой ЦСЖ на центральную иммунорегуляцию её реципиента зависит от соответствия антигенной специфичности аллогraftа донора ЦСЖ и аллогraftа реципиента ЦСЖ.

Работа выполнена при поддержке Научного Комитета НАТО (грант FEL.RIG.980765)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Billingham R. E., Medawar P. //J. Exp. Bio., 1950, 28, P. 385-402.
2. Boulanger L.M., Huh G.S., Shatz C.J. //Brain, Behavior, and Immunity. 2003, Vol. 17, Issue 1, Suppl. 1, P. 125-131

3. Gordon L.B., Nolan S.C. et al. //J. Neuroimmunol. 1998. №1-2 (88). P.77-84.

4. Devi R.S., Namasivayam A. //Indian. J. Physiol. Pharm. 1996. №1 (40). P.70-74.

5. Horuzsko A., Lenfant F., Munn D. //International Immunology, 2001, Vol. 13, №3, P. 385-394.

6. Katafuchi T., Ichijo T. et al. //J. Physiol. Lond. 1993. (471). P.209-221.

7. Nakafusa Y, Goss JA, and Flye MW. //Transplant. Proc. 1993; 25:292-294

8. Paxinos G., Watson Ch. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 2 Ed., Academic Press, Sydney, 1986. P. 579

9. Petrovsky N. //Immunology and Cell Biology., 2001., Vol. 79, P. 350-357

10. Wenner M., Kawamura N. et al. //J. Neuroimmunol. 1996. №1 (67). P.67-70.

**SHIFT OF TERMS OF ALLOGENIC SKIN GRAFT REJECTION IN RATS WITH
ADOPTION OF SYNGENIC CEREBROSPINAL FLUID DERIVED FROM RATS
WITH TRANSPLANTATION MODEL**

Utyamishev R.G.

The experiments on the influence of adoption of syngenic cerebrospinal fluid (CSF) taken from rats with the model of syngenic and allogenic grafting on transplant reactivity in rats with skin allograft was performed. It's shown that adopted CSF is serving as a source of afferent signaling to the immune competent micromilieu of the hypothalamus of the CSF recipient and changes the immune processes development in accordance to those in donor organism. It's demonstrated that in conditions of allogenic skin grafting to the donor and recipient of CSF the intensity of adopted CSF influence on the Central immune regulation in the CSF recipient rats depends on correlation of antigen specific features of skin allograft in the CSF donor and antigen specific features of skin allograft in the CSF recipient.