

В.С. Шевченко

Регуляція природного імунітету при ксеногенних порушеннях кровообігу

Исследовали кальцийзависимые реакции естественного иммунитета с участием суперсемейства иммуноглобулинов у 216 реципиентов на ряд интра- и экстракорпоральных ксенобиотиков при имплантации искусственных клапанов сердца и гетеротопной трансплантации вен в коронарные артерии. Установили, что немедленная иммунная реакция организма на ксенобиотики в виде образования противотканевого анодного аутопреципитина со специфичностью к поверхностному компоненту клеточной мембраны инициирует и регулирует последующую динамику образования двух различных аутоиммунных комплексов фибриногена, что проявляется характерными иммуногенными нарушениями кровообращения. Поэтому коррекция этих быстрых реакций естественного иммунитета патогенетически значима для профилактики и нормализации острых ксеногенных нарушений кровообращения при транс- и имплантациях на сердце, пораженном эндокардитом или атеросклерозом.

ВСТУП

У процесах імунного розпізнавання "свого" і "не свого" при операціях на серці з використанням різнофазних ксенобіотиків і гетеротопних трансплантантів важливе значення має швидкореагуюча система природного імунітету, що регулюється Ca^{2+} і має при цьому значний вплив на кровообіг [1,2,14]. Зокрема, її ланками є, з одного боку, анодні аутопреципітини (ААП) та інші рецепторні молекули суперсімейства імуноглобулінів як на лімфоїдних, так і на клітинах серцево-судинної системи [3,7,13,20], а з другого - їх ліганди у вигляді мембраноклітинних компонентів (МК) і неоднакових аутоантигенів фібриногену (АФ) [4,8,12]. Крім того, солубілізовані та модифіковані імунні рецептори, що "скидаються" або секретуються активованими клітинами та десорбуються після попередньої адсорбції на лігандах, широко представлені в плазмі крові і солідних тканинах і в сукупності з нативними рецепторами визначають взаєморегуляторність цих реакцій

природного імунітету [16]. Мета роботи - виявити їх взаємозв'язок і відносну інформативну значимість у реципієнтів при операціях транс- і імплантації на серці з використанням інтра- та екстракорпоральних ксенобіотиків.

МЕТОДИКА

Обстежено 90 хворих на атеросклероз коронарних судин і 126 хворих на ендокардит до, під час та після операцій аорто-коронарного шунтування (АКШ) і протезування клапанів серця (ПК), а також 50 практично здорових людей, донорів крові. Поетапно досліджували стабілізовані гепарином проби плазми крові реципієнтів в агарогелевому середовищі, з'єднаному з гепарином, при $17-20^{\circ}C$. У них виявляли аутоантигени фібриногену: АФ 1 - методом зустрічного імуноелектрофорезу [19] та АФ 2 - імунодифузійним методом Оухтерлоні [22] за реакцією з відповідним антифібриногеновим аутоімуноглобуліном (АФА) у

вигляді анодної та катодної модифікацій IgG. Їх верифікували за допомогою стандартного анти- IgG імуноелектрофоретичним методом Грабара [17] у відповідних (анодної або катодної) зонах. Референс-препаратами були: для АФ 1 - гепарин-стабілізований розчин стандартного фібриногену в фізіологічному розчині, а для АФ 2 - у донорській сироватці крові. Інтенсивність вихідних преципітатів і ступінь їх солюбілізації при 37⁰ С виражали в умовних одиницях: " ++ " і " + " лінії відповідної інтенсивності, " - " їх повна солюбілізація або початкова відсутність. Чутливість організму до ксенобіотиків визначали методом Оухтерлоні за реакцією проб плазми з водорозчинним поверхневим МК, відносно незалежним в тканинному, аллогенному та біовидовому відношеннях [7] . Виявлені при цьому ААП диференціювали за інтенсивністю (+ , ++) прямої лінії або дуги та ідентифікували за імунологічною схожістю з стандартним препаратом IgG, що проявлялася злиттям їх преципітаційних ліній або скороченням лінії IgG, а також імуноелектрофоретично в анодній зоні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вміст у крові реципієнтів вільно циркулюючого АФ 1 і розчинність його імунних комплексів, судячи з інтенсивності і стабільності утворених їм з анодним АФА при 17-20⁰ С і 37⁰ С преципітаційних ліній, на доопераційному і на окремих етапах введення в організм розчинних ксенобіотиків: синтетичних анестетиків з міорелаксантами, ксеногенного гепарину, - а також у донорів крові суттєво не відрізнялись і були контролем. Проте такі преципітати, утворені на етапі екстракорпорального підключення системи штучного кровообігу (ШК) уже через 5-20 хв мали якісну відмінність від контрольних преципітатів, що виявлялась у їх нестійкості і солюбілізації при 37⁰ С. Ця рання солюбілізація, що виникала раптово, з максимальною інтенсивністю, зважаючи на повне розчинення преципітату, далі плавно або з коливаннями при-

пинялася на наступних етапах ШК. Їй передувала і її супроводжувала поява ААП у плазмі крові реципієнтів уже через 10-20 хв після введення в організм анестетиків з міорелаксантами, в основному амонієвими, яким властива значна перехрестна імунореактивність [13], і особливо гепарину та після підключення системи ШК. При цьому утворення вільно циркулюючих ААП закономірно супроводжувалося їх витратою (споживанням) внаслідок чого вони зникали з плазми крові, а солюбілізація АФ 1-преципітатів припинялась (таблиця). За умов вихідної відсутності цієї солюбілізації також не виникало значимої індукції утворення і споживання ААП.

Солюбілізація імунних АФ 1-преципітатів, що асоційована з комплексуванням не тільки ААП, але і ауто- IgG з МК [10], може розглядатися як пристосувально-захисний механізм при утворенні в організмі імунних комплексів [15]. Проте її "вибуховий", швидкоперехідний розвиток безпосередньо пов'язаний з гострими імуногенними порушеннями кровообігу у вигляді дифузних і вогнищевих, особливо інфарктних, уражень тканин серцево-судинної системи та її функціональної недостатності, залежної від електричної активності серця, в т. ч. кальцієвого струма, а також фазного стану крові. Так, при ранній, на початку ШК, солюбілізації АФ 1- преципітатів ці серцево-судинні ускладнення у зв'язку з імплантаціями були найбільш тяжкими та виникали у 59 із 66 (85%) осіб, тобто значно частіше, ніж при пізній, на прикінці ШК, солюбілізації або без неї: у 21 із 150 (14%) осіб (P<0,001).

Оскільки утворення імунного АФ 1-преципітату відтворюється *in vitro* лише за умов імуноелектрофорезу, що усуває пригноблюючий вплив на цю преципітацію сироваткового білка з анодною рухливістю, то для його ідентифікації провели модельне дослідження. Спочатку, за допомогою з'єднання анодного АФА з донорськими сироватками (n=11) показали, що в них у високому титрі (до 1:128) міститься інгібітор, який рухаючись в анодному напрямку на зустріч АФ 1, перешкоджає

Зв'язок динаміки імунного комплексоутворення з ксеногенним порушенням кровообігу

| Преципітат (ліганд-імунний ре- цептор), 37° С | Етапи дослідження | | | | | | | | |
|---|-------------------|------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------|
| | До операції | Після наркозу | Після вве- дення гепа- рину | Під час штучного кровообігу (хв) | | | | | |
| | | | | 5-19 | 20-39 | 40-59 | 60-79 | 80-99 | 100- кінець |
| Рання динаміка комплексоутворення (реципієнт Ч., АКШ, ксеногенне порушення кровообігу) | | | | | | | | | |
| МК - ААП | - | ++ | + | ++ | + | + | - | - | - |
| АФ 1- анодний АФА | ++ | ++ | ++ | - | - | - | + | ++ | ++ |
| АФ 2- катодний АФА | ++ | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Відсутність динаміки комплексоутворення (реципієнт В., АКШ, без ускладнень) | | | | | | | | | |
| МК - ААП | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| АФ 1- анодний АФА | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| АФ 2- катодний АФА | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

імунному комплексоутворенню (преципітації). Потім, сполученням того ж АФА з високоочищеним альбуміном (фірма "Sigma", США) встановили, що за тих же умов електрофорезу саме альбумін пригнічує взаємодію анодного АФА з АФ 1. Разом з тим, як виявлено раніше [11] і підтвержено 100%-ю відтворюваністю результатів триплетних досліджень, альбумін, з'єднаний з розчином МК (n=11), пригнічує також преципітацію МК з плазменним ААП і з стандартним IgG. Конкурентні відношення декількох преципітаційних пар реагентів, що виникають на цій основі, можуть впливати в організмі на умови утворення імунних комплексів, їх склад і, відповідно, на сольобілізацію. Так, попереднє з'єднання плазми реципієнтів, що містить ААП (n=11), з АФ 1 викликало або посилювало сольобілізацію його імунних комплексів, вірогідно внаслідок послаблення преципітаційної решітки [15], на відміну від донорської плазми, що не містить ААП і, відповідно, не має сольобілізувальних властивостей відносно імунних комплексів фібриногену.

Таким чином, ААП та їх нормальні форми (попередники) [10], що виграють роль рецепторних молекул природного імунітету і мають, судячи з позитивної реакції на імунологічну ідентичність з стандартним IgG,

МК-розпізнаючий сайт, подібний такому в IgG, але з якісно інакшою -зворотною - кальцієвою залежністю (11), несуть також і моделюючу функцію щодо імунного комплексування фібриногену.

Динаміка імунного комплексування АФ 2 з катодним АФА, як при ендокардиті, так і атеросклерозі не мала дискретного переривчастого характеру (див. таблицю). Вона прямувала безпосередньо після ініціації утворення ААП і проявлялася зниженням у 2-4 рази інтенсивності "інтраопераційних" порівняно з "доопераційною" лінією до повного припинення імунної преципітації АФ 2, вірогідно внаслідок його ендосудинного комплексування з катодним АФА, що супроводжується імунокомплексним порушенням кровообігу [8]. Лінійно нисхідна непереривчата динаміка вмісту в плазмі цього фібриногенового аутоантигену узгоджується з його малою залежністю від регуляторного впливу альбуміну і ААП, судячи з того, що без електрофоретичного усунення їх та Ca²⁺ утворювалися комплекси "АФ 2 - катодний АФА" стабільні при 37⁰ С і з сильною прямою кальцієвою залежністю [12]. За відсутності у реципієнтів ААП- реакцій на ксенобіотики рівень вільно циркулюючого АФ 2, виходячи з порівняної інтенсивності серії пре-

ципітаційних ліній, залишався відносно сталим до завершення імплантації (див. таблицю).

У перші 4-12 год постімплантаційного періоду інтенсивність преципітаційних ліній обох аутоантигенів фібриногену асинхронно і транзиторно підвищувалася з максимальним перевищенням початкової інтенсивності в 2-4 рази (внаслідок індукції їх синтезу як цитокінів системи природного імунітету [18]) без значущої солубілізації їх імунних комплексів.

Як відомо, якісний і кількісний склад імунних комплексів [21] визначає їх патогенну дію на тканини серцево-судинної системи, а також фазний стан і реологічні властивості крові. Так, мембранотропні Ca^{2+} -асоційовані ААП можуть бути "провідниками" кальцію в клітини, перевантаження яким, зокрема кардіоміоцитів [6], є одним з основних, ключовим механізмом їх імуногенного пошкодження, а імунні комплекси фібриногену - брати участь в утворенні позаклітинного матрикса [5]. Отже, диференційоване виявлення компонентів імунних комплексів може раціоналізувати пошук і використання імунотропних засобів, зокрема альбуміну, для захисту клітинних мембран і нормалізації фазного стану крові у зв'язку з імплантацією на серці.

ВИСНОВКИ

Використання деяких ксенобіотиків: інтракорпоральних (розчинних і таких що імплантуються) і екстракорпоральних, у вигляді системи штучного кровообігу - викликає у реципієнтів характерні взаєморегулюючі реакції природного імунітету. При цьому індукція утворення мембранотропних анодних аутопреципітинів є пусковою, загальноімунною реакцією організму на ксенобіотики, а динаміка -- дискретна або лінійна -- відповідно до двох різних імунних комплексів фібриногену - відображає, в основному, імуногенні порушення кровообігу.

V.S. Shevchenko

REGULATION OF INNATE IMMUNITY AT THE XENOGENIC DAMAGES OF BLOOD CIRCULATION

Calcium-dependent innate immune response with participation of the superfamily of immunoglobulins to several intra - and extracorporal xenobiotics were studied at 216 recipients during synthetic cardiac valves implantation or veins transplantation in coronary arteries. It was shown that immediate immune response to xenobiotics was manifested by generation of the antitissue anodical autoprecipitin with specificity to the surface cell membrane component. This reaction initiated and regulated the subsequent dynamics of the two different fibrinogen autoimmune complexes formation, resulting in development of the immunogenic damages of blood circulation. Correction of these rapid innate immune responses is important for prevention and normalisation of the xenogenic damages of blood circulation during trans- and implantation on the heart impaired with endocarditis or atherosclerosis.

Institute of Cardiovascular surgery of Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авдонин П.А., Ткачук В.А. Рецепторы и внутриклеточный кальций.-М.: Наука, 1994.-374с
2. Кнышов Г.В., Бендет Я.А. Преобретенные пороки сердца. К.: Випол, 1997.-279с
3. Козлов И.Г., Горлина Н.К., Череев А.Н. Рецепторы контактного взаимодействия // Иммунология.- 1995, № 4.-С. 14-24.
4. Кузник Б.И., Васильев Н.В., Цыбиков Н.Н. Имуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма.- М.: Медицина, 1988.-279с
5. Мойбенко А.А., Сагач В.Ф. Имуногенные нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы.- К.: Наук. думка, 1992.-203с
6. Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шилкис Л.П. Васкулиты и васкулопатии.- Ярославль: Верхняя Волга, 1996.-615с
7. Шевченко В.С. Прояви негайної реакції бінесумісності у хворих при відновних операціях на серці // Фізіол. журн.-1998-44, № 4.-С.88-92.
8. Шевченко В.С. Аутоимунный синдром как проявление эндо- и экзогенной бинесовместимости при поражении эндотелиальной ткани сердечно-сосудистой системы и их коррекции // Сердечно-сосудистая хирургия.-1998, № 6.- С.226-229
9. Шевченко В.С. Утворення аутоімунних комплексів як показник бінесумісності при відновних операціях на серці // Фізіол. журн.-1999.-45, № 3.-С.69-74
10. Шевченко В.С. Гуморальні реакції бінесумісності у ранньому періоді після гетеротопної ауто-трансплантації вен у коронарне русло та

- імплантації синтетичних клапанів серця // Там же.- № 5.- С.112-116
11. Шевченко В.С. Аутоімунні процеси та біосумісність при вогнищевих ураженнях ендотелію серця та його судин // Там же.-2000.-46, №6.-С.99-104
 12. Шевченко В.С. Регуляція образования аутоімунних комплексів при операціях на серці з використанням різнофазних ксенобіотиків // Серцево-судинна хірургія.- 2001.-№8.- С.309-310
 13. Allergic diseases. Аллергические болезни.- М.: ГЭОТАР Медицина.- 2000.- 768с
 14. Butler J.,Rocker G., Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass|| Ann Thorac. Surg.- 1993.- 55.-P.552-559
 15. Complement / Eds: Muller-Eberhard H., Miescher P.- Berlin.- 1985.-215 p.
 16. Cristea V. Immunologie fundamentala. Cluj - Napoca: Universitatea de medicina si farmacia "Iuliu hatieganu" 1999.- 293p
 17. Grabar P., Burtin P. Immunolectrophoretic analysis - Amsterdam.- 1964.- 209p
 18. Fearon H., Lockalley R. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response // Science.- 1996.- 272.-P.50-54
 19. Friemel H. Immunologische arbeits methoden. Иммунологические методы -М.: Мир.-1979.-518с
 20. Littman G., Good P. Immunoglobulins. Иммуноглобулины- М.: Мир.-1981.- 495с
 21. Manual of Clinical and laboratory immunology / Eds: Rose N. et al. Washington.- 1997.- 1255p.
 22. Ouchterlony O., Nilson L. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis.- In: Handbook of experimental immunology.- Oxford.- 1978.- Vol1.- P 185-215

*Ін-т серцево-судинної хірургії АМН України,
Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 10.04.2001*