

**В.С.Шевченко**

## **Формування імунітету та толерантності до мембраноклітинних компонентів при первинних і вторинних (постімплантаційних) імунопатіях серця**

*Исследована значимость гуморальных составных естественного иммунитета в процессе нарушения толерантности и формирования иммунного ответа на аутореактивные мембраноклеточные компоненты (АМК) первично – при клапанных эндокардитах и атеросклерозе коронарных артерий, и вторично – вследствие реконструктивных операций транс- и имплантации на сердце. Рассмотрены пути восстановления толерантности к АМК и устранения иммунодефицита при купировании первичных и вторичных иммунопатий сердечно-сосудистой системы в до- и постимплантационном периодах.*

### **ВСТУП**

Загально визнана можливість розвитку аутоімунних процесів при ендокардитах й атеросклерозі як при природному перебігу, так і внаслідок протезування на серці [1–4]. Однак відомі методи прямого виявлення аутоантитіл малоефективні для спостереження за динамікою порушення/відновлення толерантності до аутоантигенів [15, 17, 18]. Вона значною мірою залежна від аутореактантних нормальних і модифікованих членів суперсімейства імуноглобуліна (Ig): 1) нормального антимембранного аутопреципітуючого IgG (ауто-IgG), 2) аномальних анодних аутопреципітинів, 3) аутопреципітуючого С-реактивного протеїну (ауто-CRP), 4) нормального антимембранного аутоаглютинуючого IgM (ауто-IgM), 5) антифібриногенних модифікацій ауто-IgG [6–10]. Мета нашої роботи – дослідити їх значимість у природному імунітеті з толерантністю до аутоантигенів й в імунопатології ендокардитів й атеросклерозу на фоні відповідно протезування клапанів серця і аорто-коронарного шунтування.

### **МЕТОДИКА**

Обстежили хворих на атеросклероз коронарних артерій зі стабільною або прогресуючою стенокардією та клапанні ендокардити ревматичної або інфекційної (в основному стрепто- й стафілококової) етіології до, під час і після імплантації ектопічних венозних аутотрансплантатів у артеріальну мережу й синтетичних клапанів серця. У пробах сироватки й стабілізованій гепарином плазми крові визначали: ауто-IgG зустрічним імуноелектрофорезом [13]; анодний аутопреципін, його β-аутопреципітуючий попередник і ауто-CRP методом Оухтерлоні з імуноелектрофоретичною ідентифікацією за Грабарем [14, 19]; ауто-IgM аглютинацією аутологічних або 0/I/Rh-еритроцитів з експонованим криптоантигеном, причому референс-препаратом був моноклональний IgM [7,20]. Тест-реагентами були мембраноклітинні компоненти (МК) заданої полімерності: з катодною рухливістю – для CRP, а з анодною – для ауто-IgG і похідних аутореактантів. Кальцієву залежність аутореактивності визначали за

допомогою внесення в реакційне середовище  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ : при прямій залежності відбувалося інгібування, а при зворотній – індукування реакції [8]. Антифібриногенні модифікації ауто-IgG виділяли із сироватки крові, а їх референс-реагентами були препарати фібриногену [9].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

*Нормальний антимембранний ауто-IgG.* Нормальний ауто-IgG з  $\gamma$ -катодною рухливістю виявлений в 100 % проб сироватки крові 90 донорів (контроль) за її реакцією з солюбілізованим МК, але лише за допомогою електрофоретичного усунення сироваткового інгібітора реакції. Це свідчить про можливість ауто-IgG, постійно наявного в крові й інтерстиціальній рідині, реагувати з МК-рецептором *in vivo* лише при ослабленні або відсутності толераногенної функції інгібітора. Титр ауто-IgG при атеросклерозі ( $7,21 \pm 0,10$ ;  $n=223$ ) істотно не змінювався порівняно з контролем ( $7,18 \pm 0,06$ ), але при ревматичному ендокардиті підвищувався до  $9,11 \pm 0,12$  у 48 (20 %) з 240 осіб ( $P < 0,01$ ). Особливо цей показник збільшився при інфекційному ендокардиті до  $11,21 \pm 0,13$  у 147 (70%) з 210 осіб ( $P < 0,001$ ) внаслідок дестабілізації й погано контрольованої гіперплазії лімфоїдної тканини. Короткочасне зниження титру вільноцируючого ауто-IgG було тільки під час імплантацій й у перші доби після них внаслідок його комплексування з компонентами резорбованих за екстремальних умов мембран і аномального модифікування.

*Аномальні анодні аутопреципітини.* Ці похідні аутореактанти були відсутні у 100 % контрольних донорів. Їх було виявлено при атеросклерозі й ендокардитах у двох модифікаціях, частково подібних у реакції на імунологічну ідентичність до ауто-IgG, але відмінних від своїх нормальних катодних попередників не тільки збільшеним негативним зарядом, а також кальцієвою залежністю, більш високою афінністю до

МК, що нівелює дію сироваткового інгібітора (зокрема в реакції Оухтерлоні), і імносупресивними властивостями [11]. Перша модифікація виявлялася переважно при атеросклерозі з підвищеним до  $7,52 \pm 0,09$  титром (у донорів  $5,61 \pm 0,07$ )  $\beta$ -аутопреципітуючого комплексного, з переважним вмістом  $\beta$ -ліпопротеїну, попередника – «комплемент-С3-подібного протеїну» (СЗПП), що при контакті з ушкодженими мембранами й чужорідними агентами швидко розщеплюється з утворенням анодного аутопреципітину [8]. Останнього виявлено при прогресуючій стенокардії у 31 (69 %) із 45 осіб, а при стабільній – лише у 10 (4,7 %) із 21 осіб ( $P < 0,01$ ). Навпаки, при ендокардитах, особливо при постревматичному інфекційному зі зниженим до  $3,71 \pm 0,08$  титром СЗПП ( $n=135$ ;  $P < 0,01$ ), переважала модифікація другого типу, в утворенні якої бере участь переважно ауто-IgG. Загалом анодні аутопреципітини виявлено при активному ревмоендокардиті у 43 (80 %) із 56 осіб, а при неактивному – у 12 (5 %) із 242 осіб; при високоактивному інфекційному ендокардиті з септицемією, абсцедуванням і поліорганными ураженнями, насамперед печінки – у 35 (84 %) із 42 осіб, а при малоактивному – у 6 (9 %) із 75 осіб ( $P < 0,01$ ). Таким чином, при всіх досліджених імунопатіях анодні аутопреципітини є показником активності аутоімунного процесу, а зниження титру СЗПП свідчить про дефіцит природного імунітету.

У реципієнтів з підвищеною чутливістю до одного або декількох ксенобіотиків, що порушують толерантність до МК (анестетики, міорелаксанти, гепарин, компоненти системи штучного кровообігу і протезів) [1, 16] уже під час операції відбувалася транзиторна ксеногенна індукція утворення анодних аутопреципітинів, яка відновлялася й переважала після операції через 4–8 год, супроводжуючись у 78 (74 %) із 106 випадків ускладненнями (в основному гострими порушеннями кровообігу, а також схильністю до інфекції), і припинялася після

їх купірування. Такі порушення були лише у 28 (9 %) із 322 осіб ( $P < 0,01$ ) без гострої повторної ксеногенної індукції анодних аутопреципітинів через відсутність їх цитокіноподібної гіперергічної дії за типом реакції Шварцмана [20].

У віддаленому постімплантаційному періоді (0,5–7 років) простежувалася хронічна індукція цих анодних аутоімунореактантів: частота їхнього утворення особливо у хворих з порушеннями функції імплантата збільшувалася практично дворазово, досягаючи після протезування клапанів 54 % у 28 із 52 осіб порівняно з 23 % до імплантації і після аорто-коронарного шунтування 47 % у 23 із 48 осіб порівняно з 19 % до імплантації.

*Аутопреципітуючий CRP.* Ауто-CRP був відсутній в 100 % проб контрольної донорської сироватки ( $n=90$ ). Він виявлений у 26 (12 %) із 230 хворих на атеросклероз, в основному з прогресуючою стенокардією, у 41 (17 %) із 240 хворих на ревмоендокардит, в основному в активній фазі й у 41 (27 %) із 152 осіб з інфекційним ендокардитом. Постімплантаційна індукція утворення ауто-CRP виникала в 100 % випадків незалежно від типу протезування, але тільки пізніше, ніж анодних аутопреципітинів, через 16–18 год після операції, у період зниженого титру ауто-IgG і відбувалася (можливо, компенсаторно) протягом 3–4 діб, після чого припинялася в реципієнтів без вищезгаданих імуногенних порушень ( $n=159$ ) або персистувала з їхнім розвитком у 43 (95 %) із 45 осіб. Цим встановлена участь ауто-CRP, представленого на субпопуляції Т-лімфоцитів-хелперів і макрофагах [17, 22, 23], поряд з СЗПП в аутоімуноадсорбційних процесах атеросклерозу (з перевагою макрофагів і СЗПП) і ендокардиту (з перевагою лімфоцитів та ауто-IgG) [10]. В індукції утворення печінкою ауто-CRP і частково СЗПП бере участь гепатоцитостимулюючий цитокін IL-6 [20].

*Нормальний аутоаглютинуючий IgM.* Ауто-IgM і ауто-CRP є пентамерами і тому високоефективно активують комплемент. Однак і без комплементу, зокрема при його

експериментальної інактивації з допомогою  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , ауто-IgM повільно лізує аномальні еритроцити з експонованим МК. Причому навіть гемокогуляція може спричиняти експонування мішеней для ауто-IgM на клітинах крові [7]. Навпаки, нормальні, спочиваючі клітини з маскованим МК, толерантні до ауто-IgM, постійно наявного в крові (у донорів  $4,27 \pm 0,14$ ,  $n=90$ ). Швидко ж посилення утворення ауто-IgM є ознакою першої (гострої) фази імунної відповіді або рецидиву (загострення) імунопатії. Так, підвищення титру ауто-IgM до  $6,31 \pm 0,24$  порівняно з контролем ( $P < 0,01$ ) виявлено не тільки у 70 (39 %) із 180 хворих на інфекційний ендокардит і у 35 (16 %) із 225 – на ревмоендокардит, але також і при атеросклерозі у 19 (10 %) із 190 осіб. Під час штучного кровообігу титр ауто-IgM ( $5,31 \pm 0,19$ ) практично залишався незмінним у 225 осіб, але різко знижувався до  $2,18 \pm 0,21$  у 52 осіб ( $P < 0,01$ ) внаслідок імуноадсорбції ауто-IgM на резорбованих клітинних мембранах. У першій групі реципієнтів протезів вищезгадані імуногенні ускладнення, у т.ч. з гемолізом, виникли у 34 (15 %) осіб, а в другій – у 32 (62,7 %) осіб ( $P < 0,01$ ). На відміну від ауто-IgG відновлення або навіть перевищення вихідного титру ауто-IgM відбувалося швидко, вже через 4–8 год після імплантації. Рання й інтенсивна реактивність поверхнево-клітинного IgM на В-лімфоцитах і секретованого ними сироваткового ауто-IgM зумовлена фокусуванням множинних сайтів для МК відповідно на одній клітині або молекулі при розпізнаванні й нейтралізації насамперед великого, корпускулярного антигена [20].

*Антифібриногенні модифікації ауто-IgG.* Ig з афінністю до МК можуть бути біспецифічними, зокрема стосовно фібриногену – захисного лектину, що бере участь у формуванні толерантності до імплантата. Однак при імунопатії вони сприяють первісному відкладанню фібриногену в циркулюючих імунних комплексах або безпосередньо на мембранах ендотелію й тромбоцитів з

формуванням тромботичного ендокардиту й пристінкового тромбозу, а також порушеннями гемостазу [15, 21]. Так, у плазмі крові здорових донорів і особливо хворих на атеросклероз й ендокардити виявлено дві функціонально активні з високою антикоагулянтною дією форми фібриногену, що розрізняються за ступенем їх обмеженого фібринолізу та сповільненої катодної рухливості й преципітують відповідно з двома антифібриногенними модифікаціями ауто-IgG: анодною та катодною. Причому анодна кальцієво незалежна модифікація проявляла антифібриногенну активність лише після електрофоретичного усунення її сироваткового інгібітора, а катодна кальцієво залежна модифікація не вимагала цієї умови й преципітувала з відповідним фібриногеном навіть у реакції Оухтерлоні [9]. Встановили, що у разі протезування під час штучного кровообігу і на його етапах, паралельних природному кровообігу, відбуваються кількісні та якісні хвилеподібні зміни комплексування антифібриногенних модифікацій ауто-IgG з аномальними (катодними) формами фібриногену *in vitro*, що у 59 (85 %) із 66 осіб супроводжувалося гострими порушеннями кровообігу, у т.ч. гемостазу. Такі ускладнення були лише у 21 (14%) із 150 осіб зі стабільними показниками комплексування, що свідчить про участь антифібриногенних модифікацій ауто-IgG у розвитку імунопатій серця.

Отже, секретовані лімфоїдними органами ауто-IgG і ауто-IgM як і секретовані печінкою ауто-CRP, а також частково СЗПП структурно комплементарні до поверхневих аутореактивних МК із властивостями суперантигена, що визначає участь цих аутоімунореактивних у контактних і дистанційованих міжклітинних взаємодіях [12]. Універсальні для всіх стадій онтогенезу аутореактивні МК масковані в спочиваючих клітинах, але надлишково експоновані на дестабілізованих або прискорено проліферуючих клітинах: у вегетаціях, спричинених інфекцією; гранульомах, властивих ревма-

тизму; первинних і вторинних (постімплантаційних) атеромах та в інших клітинних новоутвореннях [2, 3, 5]. Це проявляється порушеною рівновагою між толерантністю до МК й імунітетом до чужорідних агентів – виборчим посиленням утворення одних й ослабленням інших нормальних аутоімунореактивних, а також появою їх аномальних похідних. Причому антигени, комплексовані з ауто-IgG та його модифікаціями можуть активувати і Т-лімфоцити [20]. Відновлення в реципієнтів імунної толерантності до МК передбачає за показниками:

- 1) дозоване введення в організм толераногенних фрагментів МК, у т.ч. тих, що сприяють штучній біомембранній мімікрії;
- 2) створення в крові толераногенного надлишку ауто-IgG і ауто-IgM внутрішньовенним введенням відповідних препаратів Ig;
- 3) усунення імунodefіциту СЗПП переливанням препаратів донорської крові (плазми), стабілізованих кальцієм;
- 4) стабілізацію клітинних мембран, зокрема мембранними поліпептидними препаратами (в т.ч. тимуса тощо), що разом з кальцієм маскують ауто- та аллореактивні МК і пригнічують утворення аномальних аутореактивних [11, 20].

Таким чином, отримані результати уточнюють і розширюють уявлення про механізм порушення толерантності й формування імунної відповіді на аутореактивні мембраноклітинні компоненти при природному розвитку імунопатій серцево-судинної системи, а також в умовах штучного інкорпорування ксенобіотиків й ектопічних тканин у до- і постімплантаційному періодах.

**V.S. Shevchenko**

#### **FORMATION OF IMMUNITY AND TOLERANCE TO THE CELL MEMBRANE COMPONENTS UNDER PRIMARY AND SECONDARY (POSTIMPLANTATION) CARDIAC IMMUNOPATHIES**

The role of humoral constituents of the innate immunity in altering of tolerance and formation of immune response to

autoreactive cell membrane components during both primary endocarditis and atherosclerosis processes and secondary ones, following reconstructive implantation on heart was investigated. The ways of restoration of the tolerance to membrane components and elimination of immune deficiency during the treatment of primary and secondary immunopathy of the cardiovascular system before and after implantation were considered.

*M.M. Amosov Institute of Cardiovascular Surgery of AMS of Ukraine, Kyiv*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дэйл М. Руководство по иммунофармакологии. – М.: Медицина, 1998. – 332 с.
2. Кнышов Г.В., Фуркало С.Н., Урсуленко В.И. и др. Возможности прогностической оценки состояния аортокоронарных трансплантатов и динамики изменений коронарного русла у больных ИБС после АКШ // Груд. и серд.-сосуд. хирургия. – 1994. – 2. – С. 27–31.
3. Кнышов Г.В., Бендет Я.А. Приобретенные пороки сердца. – К.: ВИПОЛ, 1997. – 278 с.
4. Мойбенко А.А., Сагач В.Ф. Иммуногенные нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы. – К.: Наук. думка, 1992. – 203 с.
5. Шевченко В.С. О натуральных противотканевых преципитинах мышей как возможных антителах особого типа // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1969. – № 4. – С. 88–90.
6. Шевченко В.С. Новые аспекты биосовместимости и мониторинга ее проявлений при транс- и имплантациях органов с эндотелиальной выстилкой. – В кн.: Современные проблемы клинической и экспериментальной трансплантологии. – К., 1995. – С. 201–202.
7. Шевченко В.С. Утворення аутоімунних комплексів як показник бінесумісності при відновних операціях на серці // Физиол. журн., 1999. – 45, №3. – С. 69–74.
8. Шевченко В.С. Гуморальні реакції бінесумісності у ранньому періоді після гетеротопічної ауто-трансплантації вен у коронарне русло та імплантації синтетичних клапанів серця // Физиол. журн. – 1999. – 45, №5. – С. 112–116.
9. Шевченко В.С. Регуляція природного імунітету при ксеногенних порушеннях кровообігу // Там же. – 2001. – 47, №4. – С. 67–71.
10. Шевченко В.С. Фази імунного надзора і іммуно-адсорбційної патології при операціях на серці // Серд.-сосуд. хирургия. – 2004. – № 12. – С. 123–126.
11. Шевченко В.С. Пути нормалізації Ca<sup>2+</sup>-зависимих аутоімунореактантів при інфекційному ендокардиті // Иммунология и аллергология. – 2004. – №1. – С.41–42.
12. Fearon H., Lockally R. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response // Science. – 1996. – 272. – P. 50–54.
13. Friemel H. Immunologische Arbeitsmethoden. – 1987. – 412 p.
14. Grabar P., Burtin P. Immuno-electrophoretic analysis – Amsterdam, 1964. – 209 p.
15. Heart disease. V 1–2. Ed.: Braunwald. – Philadelphia, 1997.
16. Hepner D., Castells M. Anaphylaxis during the perioperative period // Anesth. Analg. – 2003. – 97, №5. – P. 1381–1395.
17. Immune inflammatory mechanisms in atherosclerosis // Rom. Arch. Microbiol. Immunol. – 2002. – 61, №1–2. – P. 1–35.
18. Manual of clinical and laboratory immunology / Ed. Rose N. – Washington, 1997. – 1255 p.
19. Ouchterlony O., Nillson L. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis // In: Handbook of experimental immunology. – Oxford, 1978. – P. 185–215.
20. Roitt I., Brostoff J., Mail D. Immunology. – St. Louis: Mosby, 1998. – 423 p.
21. Woodman R., Harker L. Bleeding complications associated with cardiopulmonary bypass // Blood. – 1976. – 91 – P. 1680–1697.
22. Yasojima K., Schwab C., McGeer E., McGeer P. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques // Amer. J. Pathol. – 2001. – 158, №3. – P. 1039–1051.
23. Zwara T., Hombach V., Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages; implications for atherosclerosis // Circulation. – 2001. – 103. – P. 1194–1197.

*Ин-т серцево-судин. хірургії ім. М.М. Амосова АМН України, Київ*

*Матеріал надійшов до редакції 26.06.2004*