

РОЗДІЛ 17. ТРАНСПЛАНТАЦІЙНИЙ ІМУНІТЕТ

Дослідження в галузі імунобіології трансплантації значно розширили уявлення про значення і функціонування імунної системи. Внаслідок вивчення відторгнення шкірних трансплантатів у мишей було відкрито явище імунної толерантності, головну систему гістосумісності (МНС) та отримано основні відомості про функції Т-лімфоцитів, яким належить провідна роль у трансплантаційному імунітеті. Велике значення мали ці дослідження і для клінічної трансплантології.

Методи сучасної хірургії дають змогу пересаджувати будь-які органи. Однак незважаючи на досконалу техніку пересаджування, поки що не подолано перешкоду на шляху розвитку трансплантології - біологічний бар'єр у вигляді трансплантаційного імунітету. *Трансплантаційний імунітет* - це реактивність клітин імунної системи, що спрямована проти чужорідних антигенів, експресованих на поверхневих мембранах клітин трансплантата, і зумовлює їх руйнування та відторгнення трансплантата.

У медичній практиці найпершим і найпоширенішим різновидом трансплантації тканин є переливання крові. Для запобігання руйнуванню введених еритроцитів аглютинінами, що містяться в крові, проводять перевірку на сумісність груп крові донора і реципієнта за антигенами систем АВО і Кб. Оскільки кількість зазначених еритроцитарних антигенів є невеликою (4 головних АВО-типи та 2 Rh-типи), то це здійснюється відносно легко.

Слід зазначити, що ця процедура значно ускладнюється в разі пересаджування тканин та органів, що містять клітини з ядрами. Ядровмісні клітини експресують антигени системи МНС (HLA у людини та H-2 у миші), що є полігенною і поліморфною (див. розд. 5). Імунна відповідь проти антигенів МНС майже завжди призводить до відторгнення трансплантата. Антигени, що відповідають за відторгнення генетично чужорідних тканин, називають *антигенами гістосумісності* (антигенами тканинної сумісності), або *трансплантаційними антигенами*.

Антигени гістосумісності є в усіх клітинах, але їх кількість у різних тканинах неоднакова. У людини найбільша їх кількість міститься в лімфоїдній тканині селезінки і лімфовузлах. Інші органи за низхідною концентрацією в них антигенів системи HLA розміщуються у такому порядку: печінка, легені, кишки, нирки, серце, шлунок, аорта, мозок. Найменше HLA-антигенів на кришталику ока та еритроцитах. Водночас на мишачих еритроцитах антигени системи H-2 експресовані досить компактно. Із клітинних органел антигени МНС у найбільшій кількості містяться в цитоплазматичних мембранах.

У дослідженнях з використанням мишей чистих ліній, яким пересаджували шкіру в межах інбредної лінії, між представниками різних ліній та їх гібридів були відкриті генетичні закони трансплантації (G. D. Snell). Трансплантати, пересаджені мишам усередині лінії (від AA





Назва трансплантата		Ступінь генетичної подібності
Аутологічний		Та сама особина
Сингенний		Та сама генетична лінія Однояйцеві близнюки
Алогенний		Друга генетична лінія
Ксеногенний		Другий вид тварин

Рис. 85. Класифікація трансплантатів залежно від ступеня генетичної подібності донора і реципієнта

Ксенотрансплантація - пересаджування органа або тканини (ксенотранс-плантата) між донором і реципієнтом, які належать до різних видів.

Ауто- та ізотрансплантати розпізнаються імунною системою реципієнта як «свої» і приживаються, а ало- та ксенотрансплантати визначаються як чужорідні і зазнають імунного відторгнення. З погляду медицини найбільше значення має реакція на алотрансплантат, оскільки алотрансплантації здійснюються між людьми. У цьому випадку антигени трансплантованих тканин називають *алоантигенами*, а лімфоцити (Т-клітини), що здатні розпізнавати їх і реагувати на них, - *алореактивними*.

У разі пересаджування солідних трансплантатів, що містять антигени, відсутні у реципієнта, імунна система реципієнта розвиває імунну реакцію, що зумовлює відторгнення трансплантата. Цю реакцію називають *реакцією хазяїна проти трансплантата* (РХПТ).

У випадку пересаджування кровотворної й лімфоїдної тканини реципієнту, що має антигени, відсутні у трансплантаті, трансплантовані лімфоїдні клітини донора розвиватимуть реакцію проти чужорідних антигенів реципієнта. Цю реакцію називають *реакцією трансплантата проти хазяїна* (РТПХ).

Останнім часом завдяки появі ефективних імуносупресивних препаратів трансплантація органів і тканин для заміни хворих на здорові набула значного поширення. Найбільшого успіху досягнуто у трансплантації нирок. Уперше в світі операцію з пересаджування алогенної нирки на судини стегна провів професор Ю. Воронов у 1935 р. в Харкові, а вдалу гомотопну трансплантацію цього органа — Мургау в 1954 р. в США. Нині щороку в усьому світі пересаджується понад 10 000 нирок, тривалість виживання яких упродовж 5 років становить 80-90 %. Досить поширеними, хоча і менш успішними (показники виживання нижчі порівняно з нирками), є пересаджування кісткового мозку, печінки, серця, легень. Із застосуванням імуносупресивної терапії кількість випадків відторгнення трансплантатів значно зменшилася, але вони ще повністю не ліквідовані.

Підбір донора і реципієнта за антигенами МНС підвищує відсоток успіху трансплантації, але навіть у разі повної сумісності за МНС, як, наприклад, між рідними братами і сестрами (сібсами), відторгнення може бути зумовлене генетичними відмінностями за іншими локусами. Основними підходами до подолання трансплантаційної реакції є пошуки нових, ефективніших імуносупресивних засобів та розробка способів індукування толерантності до трансплантованих тканин.

У цьому розділі буде розглянуто механізми трансплантаційних реакцій (РХПТ і РТПХ) та способи їх пригнічення для запобігання відторгненню пересаджуваних органів і тканин.

17.1. РЕАКЦІЯ ВІДТОРГНЕННЯ ТРАНСПЛАНТАТА

Реакція відторгнення розпочинається з розпізнавання імунною системою (Т-лімфоцитами) реципієнта чужорідних антигенів (алоантигенів) трансплантата (аферентна фаза) та створення ефекторних механізмів і закінчується атакою ними трансплантата (еферентна фаза).

17.1.1. Розпізнавання алоантигенів трансплантата Т-клітинами реципієнта

Відторгнення алотрансплантата зумовлюється імунною реакцією реципієнта, що спрямована проти чужорідних антигенів донора. Найсильнішими індукторами реакції відторгнення є чужорідні молекули МНС, які можуть активувати велику кількість Т-клітин реципієнта. Як уже зазначалося (див. розд. 7), кількість Т-клітин в організмі, специфічних до будь-якої алогенної молекули МНС і здатних відреагувати на неї сильніше, ніж на звичайний білок, становить від 1 до 10

%. Саме через провідну роль у відторгненні трансплантата головний комплекс гістосумісності початково дістав свою назву.

Слід зазначити, що крім антигенів генетичної системи МНС відторгнення трансплантата, хоча і повільніше, можуть зумовити антигени, що кодуються іншими генетичними локусами. Поліморфні антигени, що зумовляють відторгнення трансплантатів, ідентичних за МНС, називають *мінорними антигенами гістосумісності*, або *мінорними Н-антигенами*. Мінорні Н-антигени - пептиди поліморфних клітинних білків, що презентуються молекулами МНС клітин трансплантата. Більшість мінорних Н-антигенів зв'язуються і презентуються молекулами МНС I, хоча у відповіді проти ідентичних за МНС трансплантатів можуть брати участь також комплексовані з молекулами МНС II пептиди. Одиначні мінорні Н-антигени індукують значно слабкіші порівняно з антигенами МНС відповіді (що пов'язано з невеликою кількістю специфічних до них Т-клітин), однак реакції проти кількох мінорних Н-антигенів можуть спричинити відторгнення трансплантата. Реакціями проти мінорних Н-антигенів зумовлюється відторгнення трансплантатів між ідентичними за МНС (Н-2) інбредними лініями мишей, що різняться за численними мінорними Н-антигенами, а також між ідентичними за HLA-субсами. Велике значення мають мінорні Н-антигени у відторгненні кісткового мозку.

Прикладом мінорних Н-антигенів є білки, що кодуються локусами Y-хромосоми. Ці білки експресуються лише в чоловіків і відсутні в жінок, що зумовлює розвиток відповіді імунної системи жінки проти мінорних антигенів гістосумісності чоловіка. Що стосується мінорних Н-антигенів, що кодуються аутосомними генами, то природа більшості їх невідома, за винятком одного, HA-2, який є пептидом, що утворюється з білка міозину.

Імунне розпізнавання алоантигенів, що експресуються на клітинах трансплантата, здійснюється Т-клітинами реципієнта двома способами - прямим і непрямим.

Пряме алорозпізнавання (direct allorecognition). У разі прямого алорозпізнавання наївні аloreактивні Т-клітини реципієнта розпізнають безпосередньо алогенні молекули МНС пересаженого органа, які не ідентичні з власними МНС. Функцію презентації алоантигенів та активації Т-клітин виконують АПК донора (раніше описані як «клітини-пасажери», що залишилися в трансплантованому органі), які мають молекули МНС класів I і II та коstimуляторні молекули (рис. 86, a). Завдяки експресії АПК молекул МНС обох класів створюються умови для активації як CD8 Т-клітин (Т-кілерів), так і CD4 Т-клітин (Т-хелперів). Донорські АПК залишають трансплантат і мігрують лімфою до регіонарних лімфовузлів, де активують ті Т-клітини реципієнта, що несуть рецептори до алогенних молекул МНС трансплантата. Припускають два можливих механізми

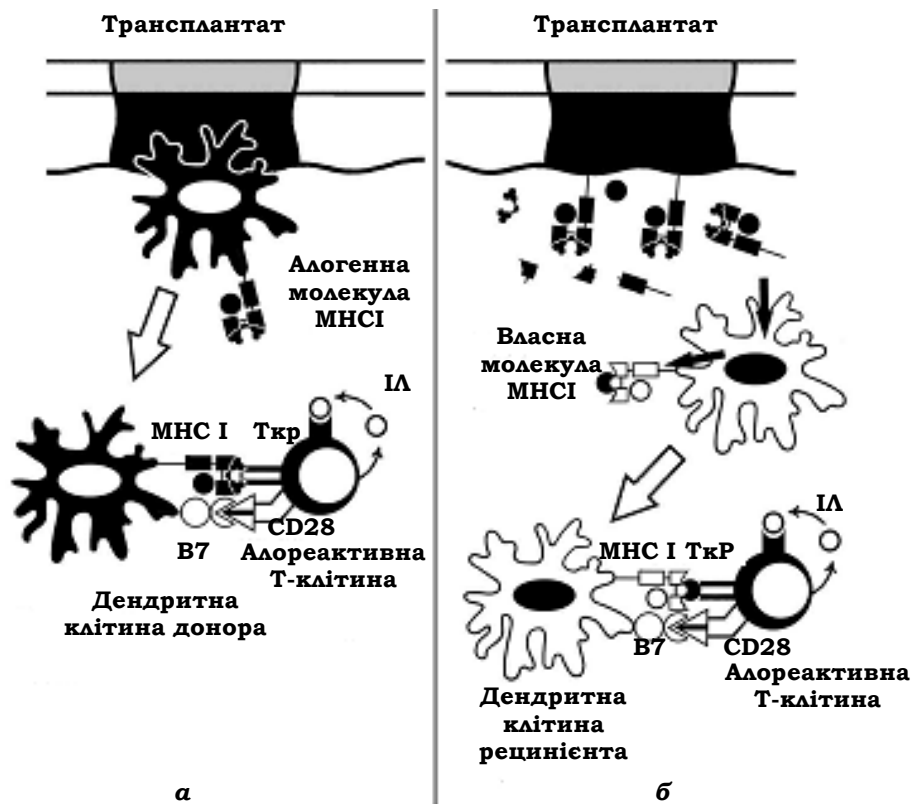


Рис. 86. Механізми прямого (а) і непрямого (б) розпізнавання трансплантата алореактивними Т-клітинами реципієнта:

а - Т-клітина розпізнає алогенну молекулу МНС дендритної клітини з трансплантата; **б** - Т-клітина розпізнає антигенний пептид алогенної молекули МНС в комплексі з власною молекулою МНС дендритної клітини реципієнта (Ткр - Т-клітинний рецептор, ІА - інтерлейкіни)

розпізнавання Т-клітинами алоантигенів на АПК донора: зв'язування Т-рецептора безпосередньо з молекулою МНС, з унікальною її структурою або зі структурою, у формуванні якої бере участь також асоційований з МНС пептид (див. розд. 7). Після активації алореактивні ефекторні Т-клітини мігрують з кров'ю до трансплантата і безпосередньо атакують його та швидко руйнують (рис. 87). Про роль донорських АПК у сенсibilізації свідчать експериментальні дослідження, в яких елімінація АПК обробленням

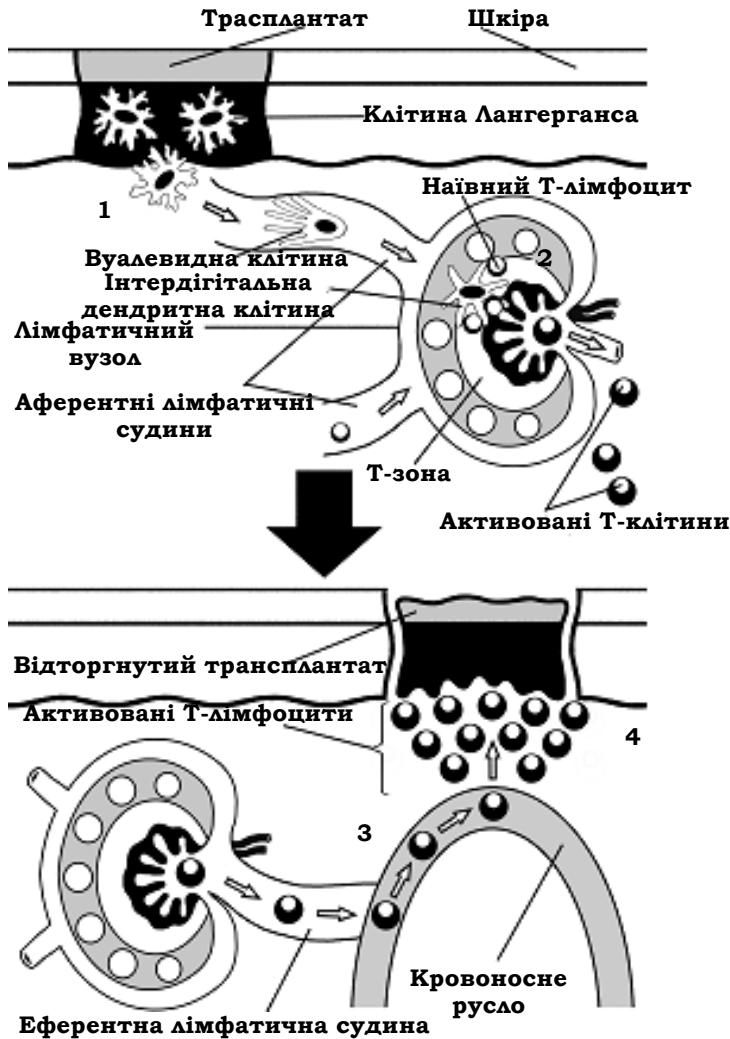


Рис. 87. Ініціювання відторгнення трансплантата шкіри способом прямого алорозпізнавання: 1 - міграція в лімфатичний вузол донорських клітин Лангерганса, які експонують антигенні пептиди трансплантата в комплексі з аlogenними молекулами МНС; 2 - індукування донорськими клітинами Лангерганса (у формі ІДК) активації, проліферації та диференціювання алореактивних Т-лімфоцитів реципієнта; 3 - міграція ефektorних Т-клітин з кров'ю до трансплантата; 4 - руйнування трансплантата антигенспецифічними Т-клітинами

пересаджуваної тканини моноклональними антитілами призводила до сповільненого відторгнення трансплантата. При цьому умовою відторгнення трансплантата є наявність у ділянці трансплантації лімфовідтоку.

Необхідність лімфатичного дренажу для сенсibilізації Т-клітин було експериментально доведено в дослідженнях з використанням природних і штучно створених імунопривілейованих місць. Імунопривілейованими називають такі анатомічні місця в організмі, в яких пересаджений алотрансплантат може тривало приживатися, оскільки реакція відторгнення не відбувається внаслідок відсутності лімфатичного дренажу (передня камера ока, тестикули, мозок та ін.). Серед них найбільш вивченою є сполучна тканина защічного мішка (дуплікатора слизової, що може впинатися) золотистого хом'ячка.

Якщо алогенну шкіру пересадити безпосередньо в защічний мішок, то вона приживеться. Якщо цьому самому реципієнтові пересадити шкіру на поверхню грудної клітки, то обидва трансплантати відторгнуться за первинним типом. Тканина защічного мішка виконує роль біологічного бар'єра, перешкоджаючи сенсibilізації реципієнта, що зумовлюється відсутністю в ній лімфатичних судин (за наявності кровоносних). Утворені (внаслідок сенсibilізації) при пересаджуванні шкіри на грудну клітку ефекторні фактори проникають через кровоносні судини до локалізованого в тканині защічного мішка трансплантата і зумовлюють його відторгнення. Аналогічні результати отримані також при створенні штучних імунопривілейованих місць - виділення у гвінейської свинки (за допомогою чашки Петрі) шматка шкіри, який з'єднувався з твариною через судинну ніжку («пучок» кровоносних судин). Пересаджувані на виділений шматок несумісні трансплантати відторгалися лише після відновлення лімфатичного дренажу. Отже, при пересаджуванні шкіри сенсibilізація реципієнта здійснюється за участю лімфатичних судин, через які донорські АПК (клітини Лангерганса) мігрують до регіонарних лімфовузлів, де презентують алоантигени Т-клітинам реципієнта. Лімфатичний дренаж має першочергове значення для сенсibilізації реципієнта антигенами трансплантата шкіри.

Непряме алорозпізнавання (*indirect recognition*). Цей спосіб розпізнавання полягає у захопленні, процесингу алогенних білків трансплантата власними АПК реципієнта і презентації Т-клітинам їх пептидів у комплексі з власними МНС реципієнта (рис. 86, б). Серед презентованих АПК реципієнта пептидів є мінорні Н-антигени та пептиди, вилучені з донорських молекул МНС. Презентація пептидів алоантигенів АПК реципієнта власним Т-клітинам і їх активація відбуваються в регіонарних лімфовузлах, звідки утворені алореактивні ефекторні Т-клітини мігрують до трансплантата і руйнують його.

В експериментах з використанням конгенних мишей встановлено, що коли з трансплантатів, які є ідентичними реципієнту за антигенами МНС, але відмінними за мінорними Н-антигенами, елімінувати власні АПК, то вони відторгаються швидше, ніж позбавлені власних АПК трансплантати, які ідентичні реципієнту за мінорними Н-антигенами, але відрізняються за МНС. Повільне відторгнення від-

мінних за МНС трансплантатів свідчить про те, що АПК реципієнта не можуть індукувати пряму відповідь проти чужорідних молекул МНС трансплантата. Відторгнення цих трансплантатів, як вважають, здійснюється, ймовірніше, внаслідок запалення, індукованого Т-клітинами, активованими розпізнаванням пептидів алоантигенів у комплексі з МНС на АПК (макрофагах) реципієнта.

Значення прямого і непрямого механізмів алорозпізнавання для відторгнення трансплантата залишається невідомим. Вважають, що головним індуктором гострого відторгнення є пряме алорозпізнавання, особливо у разі відмінностей донора і реципієнта за МНС, оскільки воно активує велику кількість алореактивних Т-клітин, які здійснюють пряму цитотоксичну атаку на трансплантат. Т-Клітини, активовані непрямим розпізнаванням алоантигенів, реалізують дію на трансплантат опосередковано, активуючи макрофаги та індукуючи синтез антитіл.

17.1.2. Основний феномен трансплантаційного імунітету

Для вивчення реакцій відторгнення в експерименті зазвичай мишам пересаджують на ділянку спини трансплантати шкіри розміром 1 см².

Дослідженнями на різних тваринах встановлено, що ауто- та ізотрансплантати шкіри приживаються без застосування імуносупресивної терапії. Алотрансплантати спочатку також приживаються, але через певний час починають некротизуватися і відторгатися в результаті розвитку імунних реакцій реципієнта проти чужорідних антигенів трансплантата.

Упродовж перших двох діб пересаджуваний шматок шкіри зростається краями зі шкірою реципієнта і встановлюється кровообіг між тканинами донора та реципієнта (васкуляризація трансплантата) у результаті вrostання в трансплантат кро-воносних судин реципієнта. Васкуляризація трансплантата індукується ангиогенними факторами (ТФР). Трансплантат по-кривається шаром регенерувального епітелію донора і набуває вигляду нормальної шкіри.

Патологічні зміни в алотрансплантатах шкіри за первинного пересаджування зазвичай виникають через 5-7 діб. Спостерігаються набрякність, інфільтрація трансплантата лімфоцитами і моноцитами, припинення кровотоку, крововиливи. Трансплантат стає синюшним, твердим, відбуваються дегенеративні зміни в епідермісі та волосяних фолікулах. Епітелій руйнується, дерма оголюється і висихає, поверхня вкривається струпом. Через 10-12 діб трансплантат відмирає і не регенерує навіть після пересаджування донору. Відповідь реципієнта на первинно пересаджену тканину, що зумовлює її відторгнення, називають *первинною реакцією відторгнення*. Вона опосередковується Т-клітинами. У мишей *nude*, які не мають Т-клітин, шкіра не відторгається.

За повторного пересаджування від того самого донора шкіри чи іншої тканини розвивається реакція за типом прискореного відторгнення (*second set rejection*) приблизно вдвічі швидше (через 6-7 діб). При цьому васкуляризація трансплантата є короткочасною і швидко змінюється тромбозом судин та некрозом. Іноді розвивається відторгнення за типом білого трансплантата (*white graft*), коли процеси деструкції розпочинаються відразу після пересаджування до настання васкуляризації трансплантата. Цю прискорену відповідь на повторно пересаджений трансплантат називають *вторинною реакцією відторгнення*. Якщо цьому самому реципієнту пересадити шкіру від іншого донора, то відторгнення розвивається не прискорено, а як первинна реакція відторгнення.

Підсилення реакції на повторне пересаджування трансплантатів від того самого донора та прискорення термінів їх відторгнення стали підставою для висновків, що основою цього явища є імунні механізми. У 1944 р. імунну природу реакцій відторгнення трансплантата вперше експериментально довів П. Медавар.

Прискорений розвиток вторинної реакції відторгнення може бути відтворений у нормальної, інтактної або опроміненої тварини перенесенням їй Т-клітин від реципієнта, який відторгнув попередньо пересаджений трансплантат. Такий спосіб перенесення трансплантаційного імунітету називають *адоптивним*, і він свідчить про імунну специфічність реакції відторгнення. Під час первинного пересаджування відбувається імунізація реципієнта антигенами донора, утворення клітин пам'яті, які зумовлюють прискорене (за типом вторинної відповіді) відторгнення повторно пересадженого трансплантата.

17.1.3. Механізми відторгнення трансплантата

За алогенної трансплантації між реципієнтом і пересадженою тканиною розвивається імунний конфлікт. Інтенсивність його переважно залежить від ступеня відмінностей за антигенами гістосумісності та реактивності реципієнта, від кількості антигенів гістосумісності в трансплантованій тканині.

На відмирання і відторгнення трансплантата впливає розвиток судинних анастомозів між трансплантатом і тканиною реципієнта. Чим інтенсивніше васкуляризується алогенний трансплантат, тим швидше він відторгається. Це наочно демонструється в експерименті з пересаджування трансплантата в передню камеру ока. Оскільки рогівка ока прозора, можна бачити, що руйнування трансплантата збігається з моментом проростання судин.

Відторгнення трансплантата (еферентна ланка трансплантаційного імунітету) зумовлюється ефекторними механізмами, що сформувалися внаслідок сенсибілізації реципієнта антигенами донора. Для з'ясування ролі клітиноопосередкованих та антитілоопосередкованих механізмів у відторгненні алогенних трансплантатів в експеримента-

льній трансплантації використо-увалися різні методичні прийоми. На ранніх етапах досліджень здійснювали пересаджування тканин у мікродифузійних камерах, крізь пори яких проходять антитіла, але не клітини. Інший підхід полягав у введенні реципієнту готових імунних факторів - антитіл (сироватки) чи ефекторних лімфоїдних клітин, специфічних до антигенів трансплантата (попередньо отриманих від тварин, в яких уже відбулося відторгнення трансплантата), і наступному пересаджуванню йому тканини без камери. Прискорене (за типом вторинної відповіді) відторгнення трансплантата у реципієнта з введенням йому певним ефекторним фактором свідчить про про-відну роль останнього в трансплантаційному імунітеті.

Останнім часом трансплантації проводять на реципієнтах з вибірково виснаженими популяціями (субпопуляціями) власних лімфоцитів уведенням їм цитотоксичних моноклональних антитіл, а також на мишах, нокаутних за лімфоїдними клітинами або за їх ефекторними молекулами. Інша експериментальна модель - уведення безтимусним мишам або тимектомованим реципієнтам несенсибілізованих або сенсибілізованих антигенами транспланта-та субпопуляцій T-лімфоцитів (CD4 або CD8T-клітин).

Виявилося, що відторгнення алотрансплантатів можуть зумовлювати як клітинні ефекторні механізми, так і механізми за участю антитіл. При цьому вирішальне значення у відторгненні мають клітинні реакції, які можуть опосередковуватися цитотоксичними CD8 T-клітинами, Th1-клітинами або клітинами обох типів. Участь антитіл у відторгненні значною мірою визначається як природою трансплантата, так і ступенем сенсибілізації організму реципієнта до алоантигенів донора. В експериментах з використанням мікродифузійних камер показано, що антитіла руйнують первинно пересаджувані так звані дисоційовані трансплантати (клітини кровотворної й лімфоїдної тканин) і не спричиняють істотного пошкоджувального впливу на солідні трансплантати. Зазначимо, що у разі пересаджування солідних трансплантатів мішенню дії антитіл є судинний ендотелій. Антитіла лише за певних умов можуть зумовити відторгнення первинно пересаджуваних солідних трансплантатів. Однак їхня роль значно зростає за повторного пересаджування, оскільки організм реципієнта вже сенсибілізований до антигенів донора і відповідь на трансплантат розвивається за вторинним типом. У клінічних спостереженнях доведено, що у разі попередньої сенсибілізації (природної чи індукованої внаслідок певних клінічних маніпуляцій) реципієнта алоантигенами і наявності в його крові специфічних антитіл останні можуть відігравати провідну роль у реакції відторгнення.

Реакцію відторгнення алотрансплантата в клініці називають *кризою відторгнення*. За клінічною картиною і швидкістю розвитку кризи розрізняють три типи відторгнення - надгостре, гостре, хронічне, кожний з яких характеризується певними імунними особливостями.

Надгостре відторгнення. Відторгнення цього типу розвивається дуже швидко - від кількох хвилин до кількох годин після трансплантації. Причиною відторгнення є преформовані (передіснуючі) антитіла до антигенів груп крові та антигенів МНС. На відміну від природних гемаглютининів до антигенів системи АВО антитіла до антигенів системи МНС (HLA) у людей в нормі не трапляються. Вони можуть утворюватися внаслідок попередніх трансплантацій, гемотрансфузій, вагітності або після лікування програмним діалізом.

На моделі надгострого відторгнення серця у щурів показано, що після попереднього руйнування комплементу введенням реципієнту фактора отрути кобри трансплантат не відторгається до моменту відновлення звичайного його рівня в крові. Це свідчить про участь у надгострому відторгненні антитіл і комплементу. В процесі розвитку реакції відторгнення рівень імуноглобулінів і комплементу в крові реципієнта знижується, а їх відкладання можна виявити в судинах відторгнутого трансплантата імунофлуоресцентним методом.

Преформовані антитіла можуть зумовити дуже швидке відторгнення васкуляризованих трансплантатів, реагуючи з антигенами на поверхні судинних ендотеліоцитів. Утворені комплекси антиген-антитіло зв'язують та активують комплемент і активують систему згортання крові. Пошкодження ендотелію відбувається за механізмом комплементзалежного лізису або комплементзалежного імунного запалення. В результаті запалення відбувається активація тромбоцитів, відкладання фібрину, утворення тромбів у судинах та крововиливи в тканину. Ці процеси призводять до порушення мікроциркуляції й кровопостачання трансплантата, його відмирання і відторгнення. Терапевтичних засобів для припинення надгострого відторгнення немає.

Слід зазначити, що у більшості людей є антитіла, здатні реагувати з антигенами ендотелію інших ссавців і спричинювати надгостре відторгнення трансплантованих від них органів. Це розглядається як найістотніша перешкода для використання ксенотрансплантатів, зокрема від свиней, які є найбільш придатним потенційним джерелом органів для людини. Проблема надгострого відторгнення під час ксенотрансплантацій є особливо актуальною (порівняно з алотрансплантаціями), оскільки у зв'язку з існуванням міжвидового бар'єра комплементрегулювальні білки, що експресуються ендотеліальними клітинами трансплантата, не можуть захистити їх від атаки комплементу людини. Зауважимо, що людські Т-лімфоцити розвивають слабшу імунну відповідь на ксеногенні антигени МНС, ніж на алогенні молекули МНС.

Гостре відторгнення. Цей тип відторгнення розвивається впродовж кількох днів або тижнів (до трьох тижнів) після трансплантації і виникає за відсутності або недостатньої імуносупресивної терапії. Первинною й основною причиною відторгнення є Т-клітинний імуні-

тет, хоча пізніше (коли терміни відторгнення подовжуються) в реакцію можуть залучатися також інші ефекторні механізми. У руйнуванні трансплантата можуть бути задіяні всі відомі ефекторні механізми імунного запалення, як залежні від Т-хелперних клітин (реакції за участю Т-кілерів, макрофагів, еозинофілів), так і антитілозалежні (активація комплементу, АЗКЦ)(рис. 88).

Клітиноопосередкована відповідь на алотрансплантат здійснюється за участю CD8 Т-клітин та CD4 Т-клітин. У механізмах відповіді можуть превалювати ознаки цитотоксичної реакції або поєднуватися її прояви з рисами запалення, характерного для сповільненої гіперчутливості. Як вже зазначалося, головним індуктором гострого відторгнення є пряме алорозпізнавання, особливо у разі відмінностей донора і реципієнта за антигенами МНС, які індукують велику кількість алореактивних Т-клітин, здатних прямо розпізнавати МНС трансплантата. Антигени МНС класів I і II презентуються CD8 і CD4 Т-клітинами реципієнта АПК донора, тобто клітинами Лангерганса при трансплантації шкіри та інтерстиціальними ДК («клітинами-пасажирями») при трансплантації органів.

Гостре відторгнення характеризується широкомасштабною інфільтрацією трансплантата мононуклеарними клітинами (лімфоцитами, моноцитами, макрофагами, плазмоцитами), серед яких переважають Т-лімфоцити. Утворені в регіонарних лімфовузлах ефекторні Т-клітини потрапляють у циркуляцію, проникають у трансплантат й індукують реакції, що призводять до його відторгнення. У відторгненні трансплантата беруть безпосередню участь як CD4, так і CD8 Т-клітини. Важливими доказами ролі цитотоксичних CD8Т-лімфоцитів у руйнуванні клітин трансплантата є переважання цих клітин в інфільтраціях; ви-явлення в біопсійному матеріалі мРНК перфору та гранзимів; можливість адоптивного перенесення гострого відторгнення алореактивними CD8 Т-клітинами.

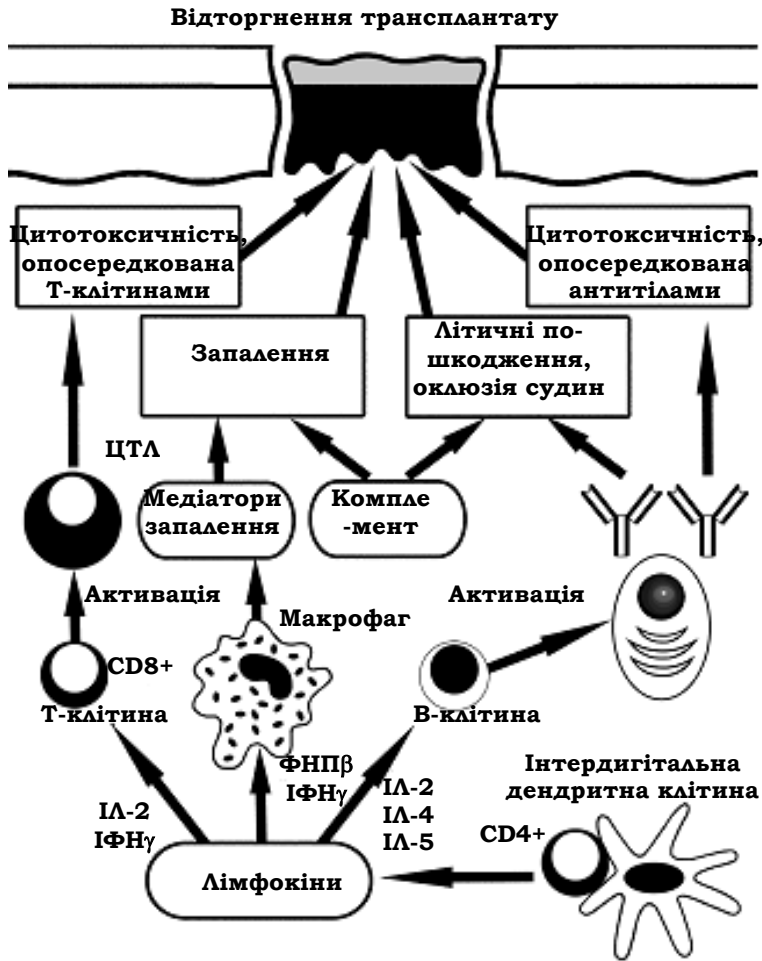


Рис. 88. Ефекторні фактори і механізми, задіяні в гострому відторгненні трансплантата

CD8 T-клітини (Т-кілери) здійснюють безпосередню цитотоксичну дію на клітини трансплантата. Цитотоксичний ефект підсилюється завдяки участі у руйнуванні трансплантата природних кілерів, стимулом до активації яких є відсутність на поверхні клітин-мішеней молекул МНС класу I хазяїна.

Підтвердженням ролі CD4T-лімфоцитів у відторгненні трансплантата є можливість гострого відторгнення у мишей, нокаутних за CD8T-клітинами чи перфорином, та у реципієнтів, яким здійснювали адоптивне перенесення алореактивних CD4T-клітин. CD4T-клітини (Th1) опосередковують реакцію за типом ГСТ, основою якої є залучення й активація макрофагів та розвиток місцевого запалення. В результаті запальної реакції виникає закупорення (тромбоз) судин, що призводить до порушення живлення та некрозу тканин.

Експериментальні дослідження свідчать про те, що провідну роль в ініціюванні (і регуляції) реакції гострого відторгнення відіграють CD4-клітини субпопуляції T_H1, активовані алогенними молекулами МНС II на АПК донора. Продуковані T_H1 цитокіни беруть участь у запуску різних ефекторних механізмів. Так, ІЛ-2 сприяє активації ЦТЛ, а ІФН- γ стимулює НК-клітини, підвищує активність АПК і разом з ФНП- β активує макрофаги. Крім того, ІФН- γ сприяє підсиленню реакції відторгнення завдяки підвищенню експресії молекул МНС II на судинному ендотелії та індукує появу молекул МНС класів I і II на паренхіматозних клітинах. ІФН- γ та ФНП- β підвищують також експресію молекул адгезії на ендотелії, які забезпечують прилипання лейкоцитів, що циркулюють у крові, до стінки судин під час трансендотеліальної міграції.

У формуванні запального інфільтрату беруть участь також синтезовані місцево хемокіни (CXCL5, CXCL8, CCL2). Отримано докази кореляції експресії CXCL8 і хемокіну CINC та гострого відторгнення трансплантата. Експресія високого рівня CXCL8 (на рівні мРНК та білка) під час трансплантації нирок і серця в людини збігалася в часі з ознаками відторгнення органів, і рівень його значно знижувався після досягнення імуносупресії. Аналогічно рівень хемокіну CINC у щурів (гомолог GRO- α людини і КС мишей) зростає, починаючи з третьої доби після трансплантації печінки, значно підвищуючись упродовж наступних 7 діб, а попереднє введення реципієнту імуносупресанту FK-506 зумовлювало значне зниження рівня хемокіну.

Гостре відторгнення можуть зумовити також антитіла. Це можливо тоді, коли у реципієнта антитіла утворюються до антигенів стінок судин трансплантата, зв'язуються зі стінками та активують комплекс. Розвивається гостре запалення, що зумовлює некроз стінок судин без тромбозу.

Хронічне відторгнення. В умовах імуносупресивної терапії та у разі наявності відмінностей між донором і реципієнтом за слабкими (мінорними) антигенами гістосумісності процес відторгнення трансплантата може затягуватися на багато місяців і навіть років. Таке хронічне відторгнення може зумовлюватися як гуморальними, так і клітинопосередкованими реакціями з млявим перебігом. На нокаутних мишах показано, що CD4T-клітини та В-лімфоцити відіграють важливішу роль у хронічному відторгненні, ніж CD8T-клітини.

Пошкодження трансплантата клітинною реакцією пов'язане з інфільтрацією судин та тканини макрофагами, які на ранній стадії залучаються (у формі моноцитів) за допомогою хемокінів (CCL5-RANTES та ін.) аloreактивними CD4T-лімфоцитами (T_H1) та активуються секретованими ними цитокінами (ІФН- γ), а пізніше рекрутування їх посилюється під впливом продуктів самих макрофагальних клітин (ІЛ-1, ІФН- α , хемокіну CCL2-MCP-1). Цито-кіни зумовлюють хронічне запалення.

лення, що призводить до розвитку концентричного атеросклерозу кровоносних судин трансплантата - характерної ознаки хронічного відторгнення. Показано, що в ІФН- γ -дефіцитних реципієнтів атеросклероз судин не розвивається. Клітинна інфільтрація за хронічного відторгнення на відміну від гострого виражена слабо.

Важливу (нерідко провідну) роль у патогенезі хронічного відторгнення відіграють антитіла та комплекси антиген-антитіло, але через низьку їх концентрацію масивні фібринові тромби в судинах, що характерні для надгострого відторгнення, не утворюються. Однак фібрин утворюється, але, очевидно, відразу лізується, про що свідчить підвищення в сечі продуктів його розщеплення.

Імунні реакції супроводжуються активацією і пошкодженням ендотелію та звільненням різних факторів росту (серед них велике значення має ТФР- β), з активністю яких пов'язані розвиток і ре-гуляція двох основних ознак хронічного відторгнення рубцювання тканини (фіброз) та закриття просвіту судин (облітерація) трансплантата. Облітерація кровоносних судин відбувається внаслідок розмноження гладком'язових клітин інтими, що мігрували в судинну стінку, та відкладання компонентів матриксу. Поступове зменшення кровопостачання і заміщення паренхіми фіброзною тканиною призводить до згасання аж до повної втрати функції трансплантата.

17.2. РЕАКЦІЯ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИ ХАЗЯЇНА

Особлива ситуація виникає під час трансплантації кровотворної тканини (кісткового мозку), оскільки в клінічній практиці її переважно здійснюють імунонекомпетентним (або зі зниженою реактивністю) реципієнтам. Кровотворна тканина містить зрілі лімфоїдні клітини, і за умови ослаблення імунної реактивності реципієнта вони можуть розвивати спрямовану проти нього реакцію, яку називають *реакцією трансплантат проти хазяїна* (РТПХ). У процесі цієї реакції трансплантат відторгає організм реципієнта, зумовлюючи його виснаження і навіть загибель. У 1957 р. РТПХ було відтворено у різних лабораторіях і на різних генетичних системах, але прояви цієї реакції в експериментах спостерігали значно раніше. У 1916 р. I. Murphy спостерігав, що після нанесення на хоріоналантоїсну мембрану курячого ембріона клітин кісткового мозку або селезінки дорослих курей на мембрані з'являлися скупчення лейкоцитів у вигляді білуватих плям і в ембріонів виникала спленомегалія (збільшення маси селезінки). Слід зазначити, що синдром розвивався лише після введення клітин дорослих птахів. М. Сімонсен (1957) припустив, що цим феноменом є РТПХ. Він уперше відтворив хворобу, що розвивалася як наслідок РТПХ, після внутрішньовенного введення 16-денним курячим ембріонам аlogenних клітин селезінки дорослих курей. Через кілька днів після виуплення у реципієнтів розвивалася анемія, відмічалася збільшення маси

селезінки і печінки та інші патологічні зміни й вони гинули впродовж одного - двох тижнів (феномен Сімонсена). Виявлено приживання донорських клітин та колонізацію ними лімфоїдних органів реципієнта. З явищем РТПХ у свавців уперше зіткнувся П. Медавар у 1953 р. під час відтворення трансплантаційної толерантності у мишей, спостерігаючи загибель більшості ембріонів після введення їм алогенних лімфоїдних клітин, однак розцінив це як невдалу спробу відтворення толерантності. Через кілька років (1957) співробітники П. Медавара - Р. Біллінгхем і Л. Brent (учасники експериментів відтворення толерантності) - індукували РТПХ у результаті трансплантації новонародженим мишам алогенних клітин селезінки дорослих тварин та описали супутню цій реакції хворобу. У реципієнтів клітин розвивалося захворювання, відоме під назвою «хвороба рант» (*runt disease*) - карликовість (малорослість). Основними проявами рантингу в мишей є затримка росту і відставання приросту маси тіла, пронос, дерматити. Хвороба супроводжується клітинним, або кров'яним, химеризмом - співіснуванням в організмі клітин різних генотипів унаслідок наявності донорських клітин. Спостерігаються гістологічні зміни в органах і тканинах: осередки некрозу в печінці та осередки екстремедулярного кровотворення в селезінці, гіперплазія кісткового мозку, стоншення епідермісу та відділення його від дерми, інфільтрація дерми одноядерними клітинами (лімфоцитами, гістіоцитами, плазмоцитами).

Однією з характерних ознак хвороби є спленомегалія, що зазвичай виявляється після внутрішньовенного введення клітин (системна РТПХ). Збільшується також маса лімфатичних вузлів, що особливо чітко виявляється після підшкірного або внутрішньом'язового введення клітин у ступню кінцівки (локальна РТПХ). З урахуванням цього РТПХ в експерименті оцінюють за збільшенням маси селезінки або лімфатичних вузлів, визначаючи індекс РТПХ. У разі системної РТПХ цей показник (селезінковий індекс) є відношенням маси селезінки до загальної маси тіла тварини і дорівнює 1,5-2,5 (отримані дані множать на 100, щоб уникнути дробових чисел), тоді як у нормі він менший за 1. Для оцінювання локальної РТПХ реципієнту - гібридній миші (АхВ)_{F₁} в ступню однієї задньої кінцівки вводять лімфоїдні клітини одного з батьків, А або В (дослід), а в ступню протилежної кінцівки - сингенні клітини гібрида (контроль). Через 7 діб визначають індекс РТПХ як відношення маси підколінного (або пахового) дослідного лімфовузла до маси підколінного (або пахового) контрольного лімфовузла. За позитивної реакції значення індексу становить від 1,5 до 10, а в нормі дорівнює 1.

У дорослих реципієнтів (тварин, людини) хвороба, що виникає як наслідок РТПХ, називається алогенною хворобою, оскільки вона зумовлена алогенним трансплантатом. Прояви цієї хвороби подібні до проявів хвороби рант, за винятком затримки росту. Це захворювання може розвинути після трансплантації не лише алогенних, а й ксено-

генних лімфоїдних клітин, з врахуванням чого було запропоновано називати всі його різновиди *транс-плантаційною хворобою* (А. С. Шевельов, 1976). Останнім часом для позначення цього захворювання використовують (особливо в іноземній літературі) термін *хвороба трансплантат проти хазяїна* (ХТПХ).

У дорослих тварин РТПХ і супутня їй хвороба відтворені на різних генетичних системах, які будуть описані нижче. Однак в усіх випадках для розвитку цієї реакції як в ембріонів і новонароджених, так і в дорослих тварин необхідні однакові принципові умови.

17.2.1. Умови відтворення РТПХ

Як уже зазначалося, РТПХ відтворюється за трансплантації алогенної кровотворної та лімфоїдної тканини. Трансплантовані клітини містять чужорідні антигени гістосумісності, здатні індукувати імунні реакції реципієнта, а також зрілі лімфоїдні клітини, що можуть, у свою чергу, здійснювати реакції проти антигенів реципієнта. Тому РТПХ розвивається за певних умов.

1. Трансплантат має містити достатню кількість лімфоїдних клітин, що здатні розпізнавати антигени реципієнта і реагувати проти них. Найактивнішими в РТПХ є клітини лімфатичних вузлів. Активність лімфоцитів інших лімфоїдних органів і тканин знижується у такій послідовності: лімфатичний вузол → селезінка → кров → тимус → кістковий мозок.

2. Реципієнт має бути чужорідним в антигенному відношенні для імунокомпетентного донора, тобто містити антигени, яких немає в трансплантаті. Реакція відбувається у разі відмінності донора і реципієнта як за антигенами МНС класів I і II, так і за кількома мінорними Н-антигенами. Реакція розвивається після трансплантації кісткового мозку між сибсами, які зазвичай відрізняються один від одного за багатьма мінорними Н-антигенами.

3. Основною умовою розвитку РТПХ є знижена здатність реципієнта відторгати трансплантовані клітини. Ареактивність реципієнта може бути зумовлена різними причинами. Зважаючи на це, розрізняють кілька форм РТПХ.

Основні форми РТПХ. *РТПХ в ембріонів і новонароджених* відносно легко відтворюється в результаті незрілості імунної системи. За цієї умови відтворено описані вище феномен Сімонсе-на в курячих ембріонів і хвороба рант у новонароджених мишей.

РТПХ у гібридів. У дорослих реципієнтів РТПХ легко відтворюється, коли вони генетично не можуть здійснювати реакцію — при введенні гібридам (C57BLxCBA) F₁ лімфоїдних клітин (найчастіше лімфатичних вузлів) одного з батьків (CBA або C57BL). Гібриди F₁ не реагують проти антигенів трансплантата, оскільки в їхньому організмі містяться антигени обох батьків, тоді як введені клітини одного з батьків

можуть реагувати проти антигенів іншого батька, що експресовані в тканині гібрида (рис. 89).

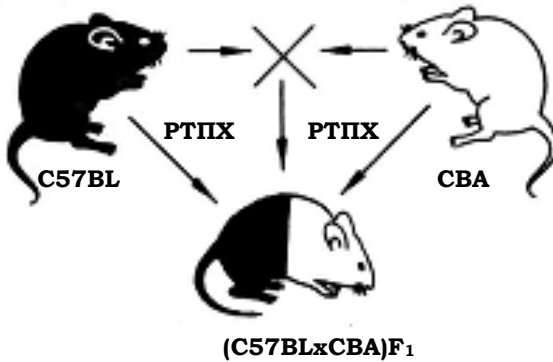


Рис. 89. Розвиток реакції трансплантат проти хазяїна в мишей – гібридів першого покоління (F₁) при трансплантації лімфоїдної тканини від мишей батьківських ліній

Гібриди інбредних ліній мають природну генетично зумовлену толерантність до антигенів батьківських ліній, тому вони не відторгають тканини батьків. Ця генетична система, запропонована Шварцом і співавторами (1957), є найкращим способом відтворення РТПХ. Однак навіть у цій системі реакція легко відтворюється на гібридах-сисунках, а в дорослих гібридів - після опромінення їх сублетальними дозами радіації, яка значною мірою руйнує їхню власну лімфоїдну тканину.

РТПХ у реципієнтів зі штучною толерантністю. У дорослих тварин у разі двосторонньої генетичної несумісності донора і реципієнта РТПХ можна відтворити за умови індукування у реципієнта в період ембріонального розвитку або відразу після народження толерантності до антигенів гістосумісності донора. Для успішного індукування толерантності та зменшення загибелі ембріонів (унаслідок РТПХ) зазвичай вводять частково несумісні клітини, наприклад тваринам батьківської лінії А клітини гібридів (АхВ) F₁. Дорослі тварини, що розвинулися з таких ембріонів, не відторгають клітини лінії В, але ці клітини розвивають РТПХ проти алоантигенів А.

РТПХ у смертельно опроміненіх реципієнтів. У дорослих тварин у разі двосторонньої генетичної несумісності донора і реципієнта РТПХ відтворюється за умови смертельного опромінення реципієнта, яке руйнує кровотворну і лімфоїдну його тканини. Якщо опроміненому смертельною дозою дорослому реципієнту трансплантувати алогенний кістковий мозок, він приживається і заміщує уражену кровотворну тканину. У таких тварин, названих *радіохимерами*, клітини крові мають донорське походження. У повних химер усі 100 % клітин крові (еритроцитів, лейкоцитів) походять із клітин кісткового мозку донора, тоді як усі інші клітини (різних органів і тканин) мають гено-

тип реципієнта. В організмі химер формується толерантність до антигенів донора. Тому радіохимери є зручною моделлю для вивчення механізмів індукування імунної толерантності.

Трансплантацію кісткового мозку застосовують як спосіб лікування променевої хвороби, однак у більшості випадків урятований організм гине через два-три тижні або значно пізніше від зумовленої РТПХ *вторинної алогенної хвороби*. При цьому під первинною хворобою мають на увазі наслідки самого опромінення.

17.2.2. Механізми РТПХ і патогенез хвороби ТПХ

У механізмах РТПХ і в патогенезі зумовленої нею хвороби (хвороби ТПХ, або ХТПХ) основну роль відіграють Т-кліти-ноопосередковані реакції та секретовані Т-клітинами (та іншими клітинами) цитокини.

Реакція трансплантат проти хазяїна ініціюється наявними в кістковому мозку Т-клітинами, які розпізнають алоантигени хазяїна. Індукторами реакції можуть бути як антигени МНС, так і мінорні Н-антигени. Однак у людей переважно розвивається реакція проти мінорних Н-антигенів, оскільки трансплантація зазвичай не проводиться, якщо донор і реципієнт відрізняються за МНС.

Експериментальними дослідженнями показано, що розвиток зумовленої РТПХ хвороби призводить до значних патологічних змін в організмі реципієнта. Для патогенезу хвороби характерні фазні зміни в лімфоїдній тканині, які найбільш виражені при гострій формі захворювання, що розвивається після внутрішньовенного (або внутрішньочеревного) введення великих доз лімфоїдних клітин і закінчується загибеллю більшої частини тварин. У ранню фазу ХТПХ спостерігається інтенсивна проліферація клітин у лімфоїдній тканині, що призводить до значного збільшення маси лімфатичних вузлів, селезінки і печінки. У цей період реєструється найбільш виражена форма спленомегалії, але виникнення її не зумовлюється збільшенням загальної кількості клітин, оскільки одночасно з проліферацією клітин у селезінці відбувається деструкція лімфоїдних фолікулів. Ймовірно, що спленомегалія зумовлюється збільшенням розмірів клітин унаслідок перетворення лімфоцитів на великі бластні форми і набряком органа.

У пізню фазу захворювання відбувається поступове зниження проліферативної активності клітин, що пов'язано з виснаженням клонів донорських лімфоцитів у результаті реакції проти надмірної кількості антигенів реципієнта і з руйнуванням клітин реципієнта. Заміщення втрачених зруйнованих власних лімфоїдних клітин утворенням нових у зв'язку зі зниженням лімфопоезу не компенсується. Розвивається значна атрофія лімфоїдної тканини реципієнта. В лімфатичних вузлах і селезінці у лімфоїдних фолікулах збільшується кількість гістіоцитарних та зменшується кількість лімфоїдних клітин аж до повного виснаження лімфоїдної тканини. В тимусі атрофічні процеси розвиваються вже через 10 діб, тобто у період максимального збільшення ма-

си селезінки, а через 25-40 днів залозу важко виявити на аутопсії. Атрофія лімфоїдної тканини призводить до пригнічення імунної реактивності, внаслідок чого різко знижується резистентність до мікробів, у тому числі й до представників аутофлори. Виникають тяжкі аутоінфекції, які нерідко супроводжуються аутоімунними процесами. Інфекції часто є причиною загибелі реципієнтів. За гострої форми хвороби спостерігається також некроз слизової оболонки кишок та утворення виразок. Як результат ураження кровотворних клітин та аплазії кісткового мозку розвивається гемолітична анемія, іноді виникають лейкопенія і тромбоцитопенія. Загибель реципієнта настає через 1-2 міс.

За певних умов, зокрема після введення невеликих доз лімфоїдних клітин, може розвиватися хронічна форма ХТПХ. Цю форму хвороби найдокладніше вивчено у гібридів при трансплантації клітин батьківської лінії, оскільки в їхньому організмі створюються умови для розвитку тривалого імунного конфлікту. Для неї характерний тривалий інкубаційний період, слабкі прояви клінічних симптомів та відносно низька смертність. За хронічної хвороби спостерігається більшість симптомів гострої хвороби, але основними ознаками її є: зниження маси тіла, латергія, сколіоз, скуйовдження шерсті, облісіння, набряк морди, гіпотермія. В крові відмічаються анемія, лейкопенія, тромбоцитопенія, зниження вмісту гемоглобіну. У частини тварин, що довго хворіють, розвивається тяжкий гломерулонефрит, що по-дібний до гломерулонефриту при імунних комплексах, виявляються анти-МНС-антитіла, відмічається надлишок виділення кортикостероїдів, що призводить до зниження резистентності до інфекцій. Головною особливістю хронічної хвороби ТПХ у дорослих гібридів, що відрізняє її від гострої, є відсутність атрофії лімфоїдної тканини, зокрема тимуса, і наявність чітко вираженої лімфоїдної гіперплазії.

У людини зумовлена РТПХ хвороба розвивається після трансплантації алогенного кісткового мозку для заміщення власного, зруйнованого внаслідок опромінення під час радіаційних аварій або введення цитотоксичних препаратів з лікувальною метою, наприклад при лейкемії. Хвороба ТПХ може мати гострий і хронічний перебіг. Гостра ХТПХ виникає у понад половини реципієнтів з другої декади впродовж 100 днів від пересаджування кісткового мозку. Основні симптоми хвороби пов'язані з ураженням шкіри, слизових оболонок, печінки, що виявляється появою в них запальних і некротичних осередків, масивним руйнуванням епітеліальних клітин. Симптоми хронічної хвороби з'являються у частини реципієнтів (20-30 %) впродовж року після пересаджування. Ризик виникнення хронічної хвороби зростає після кількаразово (більше двох) перенесеної гострої. Хронічна ХТПХ спричинює гематологічний розлад (порушення гемо- і лімфопоезу) з наступним розвитком імунодефіциту - Т-клітинної недостатності. Хвороба часто супроводжується розвитком інфекцій та лімфопро-

ліферативних процесів, які можуть бути причиною смерті реципієнтів.

Ефекторні клітини, що зумовлюють руйнування тканин, зокрема епітелію слизових оболонок кишок та шкіри, нині вивчені ще недостатньо. Прийнято вважати, що головними клітинами, відповідальними за руйнування тканин, є запальні клітини хазяїна, які залучаються у місце розвитку реакції цитокинами, що продукуються активованими CD4 Т-клітинами (Th1) донора. Залучені клітини, активуючись, також продукують цитокіни. Секретовані задіяними в запальній реакції клітинами цитокіни підтримують їх проліферацію й індукують апоптоз клітин епітелію. Під час гістологічних досліджень виявляються НК-клітини, які щільно прилягають до епітеліоцитів, що гинуть. Можливо, при-родні кілери є важливими ефекторними клітинами РТПХ.

Розвиток РТПХ супроводжується ушкодженням кровотворної тканини. На моделі РТПХ, індукованої введенням гібридам F₁ клітин кісткового мозку батьківської лінії, показно, що РТПХ знижує кількість КУО в селезінці. Стовбурові кровотворні клітини і Т-лімфоцити є первинними мішенями активованих ЦТЛ. Утворені донорські ЦТЛ руйнують СКК і Т-лімфоцити реципієнта, тому РТПХ у гібридів P^h розглядають як аналог односпрямованої реакції в змішаній культурі лімфоцитів *in vivo*. РЗКА - спрощений феномен загального стану інтенсивності РТПХ.

Слід зазначити, що РЗКА *in vivo*, незважаючи на безсумнівну шкоду її для здоров'я реципієнта, може мати в певних випадках, зокрема при лейкемії, деякий терапевтичний ефект. Т-Клітини донорського кісткового мозку, розпізнаючи мінорні Н-антигени або пухлиноспецифічні антигени, що експресовані на лейкозних клітинах реципієнта, активуються і вбивають ці клітини (*модель трансплантат проти лейкемії*). Елімінація Т-клітин з кісткового мозку хоча і має переваги для реципієнта, але зменшує ефект трансплантат - проти лейкемії.

Видалення Т-клітин з кісткового мозку перед трансплантацією є одним із способів пригнічення РТПХ, однак при цьому знижується можливість приживання трансплантата. Вважають, що механізм цього феномену пов'язаний з тим, що зрілі Т-клітини продукують цитокіни, передусім КСФ, які сприяють відновленню популяції СКК. Тому нині під час трансплантації кісткового мозку проводять видалення Т-клітин з одночасним додаванням Г-КСФ і М-КСФ, які сприяють приживанню трансплантата.

В останні роки для відновлення кровотворної системи застосовують трансплантацію СКК (аутологічних або алогенних), виділених з периферичної крові, з використанням МкАТ анти-CD34 та стимульованих для збільшення їх кількості цитокинами (КСФ). При цьому відновлення гемопоезу відбувається швидше, ніж у разі трансплантації кісткового мозку.

17.3. ПОДОЛАННЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЙНОГО ІМУНІТЕТУ

Подолання тканинної несумісності під час пересаджування органів і тканин у клініці досягається підбором донора та пригніченням імунних реакцій реципієнта.

17.3.1. Підбір донора

Для трансплантації здійснюють підбір донора, найбільш сумісного за антигенним набором з реципієнтом. Під час підбору пар донор - реципієнт враховують такі показники: сумісність за антигенами систем АВО, Rh та HLA, наявність у реципієнта преформованих антитіл до антигенів донора. Підбір донора, сумісного за антигенами системи АВО, має особливо велике значення для трансплантації нирки.

Основний метод підбору донора - визначення антигенів системи HLA *in vitro* (HLA-типування). Як уже зазначалося у розд. 5, система HLA контролюється трьома локусами генів (HLA-A, HLA-B, HLA-C), які кодують антигени HLA класу I, та трьома локусами генів (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP), що кодують антигени HLA класу II. Визначення антигенів HLA донора і реципієнта дає змогу встановити ступінь їх HLA-сумісності, отже, передбачити наслідки трансплантації.

Оцінити ступінь HLA-сумісності донора і реципієнта можна двома способами - вимірюванням реакції між їхніми лімфоцитами (реакція у змішаній культурі лімфоцитів - РЗКЛ) та проведенням серологічного визначення антигенів. Антигени HLA класу I визначають за допомогою діагностичних анти-HLA-сироваток серологічними методами, а антигени HLA класу II - ще й клітинними тестами, зокрема РЗКЛ.

Змішана культура лімфоцитів. Реакція змішаних лімфоцитів широко використовується для виявлення алоантигенів лімфоцитів. Суміш лімфоцитів донора і реципієнта культивують *in vitro* впродовж кількох (від 3 до 5) діб. Якщо лімфоцити донора містять Т-клітини, специфічні до алоантигенів, експресованих на клітинах реципієнта, то вони будуть активуватися і розмножуватися. Аналогічно Т-клітини реципієнта реагуватимуть на алоантигени на клітинах донора. Описаний варіант реакції за двосторонньої гістнесумісності донора і реципієнта називають *двоспрямованою реакцією в ЗКЛ*.

Частіше використовують *односпрямовану реакцію в ЗКЛ*, в яку клітини однієї особи вводять інтактними, їх називають *реагуючими*, а клітини іншої особи пригнічують йонізуючим випромінюванням або мітоміцином С. Оброблені таким способом клітини втрачають здатність синтезувати ДНК і розмножуватися, зберігаючи здатність стимулювати інші клітини, їх називають *стимулювальними*. У разі трансплантації солідних тканин у ЗКЛ пригнічуються клітини донора, отже, перевіряється реактивність лише клітин реципієнта проти алоантигенів донора. При трансплантації кісткового мозку реципієнту з пригніченою імунною системою мітогенним інгібітором обробляють

клітини реципієнта і таким чином перевіряють реактивність лише клітин донора.

За допомогою ЗКЛ можна не лише виявляти алоантигени, а й визначати їх, інкубуючи тест-клітини з гомозиготними стимулювальними клітинами (лімфоцитами) відомої HLA П-специфічності, які несуть відомі антигени HLA-DR, HLA-DQ і HLA-DP від гомозиготних за ними донорів. Якщо тест-клітини не реагують бласттрансформацією і проліферацією на стимулювальні клітини певного типу, то це свідчить про те, що вони несуть антиген цієї специфічності. Отже, ЗКЛ дає змогу оцінити сумісність донора і реципієнта без аналізу антигенів HLA та виявити відмінності за антигенами HLA-DQ, і особливо HLA-DP, які не виявляють серологічними методами в зв'язку зі складністю отримання діагностичних сироваток до них.

Реакція в ЗКЛ трактується як відповідь *in vitro* Т-лімфоцитів на алоантигени HLA. В ЗКЛ CD4 Т-клітини стимулюються антигенами HLA класу II на макрофагах, В-лімфоцитах, ДК і розвивають проліферативну відповідь, яку оцінюють за включенням ³H-тимідину. Реакція ЗКЛ супроводжується також активацією CD8 Т-клітин антигенами HLA класу I, які диференціюються на ЦТЛ, здатні вбивати клітини-мішені. Кілерний ефект Т-клітин можна протестувати у пробі лімфоцитотоксичності *in vitro* з міченими ⁵¹Cr лімфоцитами-мішенями. Цитотоксичний ефект генерованих у ЗКЛ Т-кілерів визначають за вивільненням ⁵¹Cr з клітин-мішеней.

ЗКЛ є індикатором ступеня гістосумісності донора і реципієнта. Чим сильніше виражена реакція в ЗКЛ, тим більша невідповідність між донором і реципієнтом за антигенами HLA, передусім класу II, яка є найважливішим фактором відторгнення трансплантата. Однак цей метод дає результати тільки через кілька діб і може використовуватися лише за умови планових операцій. Реакція в ЗКЛ - основний метод підбору донора для трансплантації кісткового мозку і лімфоїдної тканини.

При пересаджуванні органів (особливо від осіб, що загинули) проводять тканинне типування - серологічне визначення антигенів HLA за допомогою антисироваток.

Серологічне визначення антигенів HLA Цей метод типування полягає у серологічному визначенні фенотипу HLA донора і реципієнта та встановленні ступеня їх гістосумісності. Фенотип визначають, типуючи лімфоцити периферичної крові, на яких щільно експресовані антигени HLA, за допомогою набору діагностичних анти-HLA-сироваток, що містять антитіла до всіх відомих антигенів системи HLA, або моноклональних антитіл МкАТ. Великий набір діагностичних реагентів необхідний у зв'язку зі значною кількістю ізоантигенів у цій системі. Ідентифіковано близько 80 різних молекул класу I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) і близько 40 молекул класу II (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-

DP). В Україні типування найчастіше проводять за антигенами локусів HLA-A, B, C і DR.

Антигени гістосумісності зазвичай визначають за допомогою цитотоксичного тесту, основою якого є здатність сироватки (антитіл), специфічної до певного антигену HLA, зумовлювати за наявності комплементу лізис лімфоцитів, що мають цей антиген. Загибель клітин реєструють за фарбуванням їх вітальними барвниками, найчастіше - трипановим синім (див. розд. 5). Для визначення антигенів класу I використовують нерозділену суспензію лімфоцитів, а для визначення антигенів класу II - суспензію, збагачену В-лімфоцитами, на поверхні яких є ці антигени. Лімфоцити донора і реципієнта лізуються набором (групою) тих сироваток, які є специфічними до експресованих на їхній поверхні антигенів. За результатами реакції з різними сироватками (антитілами) встановлюють серологічний тип кожного антигену HLA на клітинах.

Слід зазначити, що в зв'язку зі складністю отримання діагностичних сироваток (для серологічного типування) до рідкісних антигенів HLA II (особливо HLA-DP) і тривалим перебігом реакції в ЗКЛ останнім часом проводять типування генів HLA класу II, використовуючи молекулярно-генетичний метод - полімеразну ланцюгову реакцію, принципи якої описано у розд. 21.

Лімфоцитотоксичний тест використовується також для визначення у реципієнта преформованих антитіл до антигенів HLA донора. Цю реакцію з лімфоцитами донора і сироваткою реципієнта називають *перехресною пробою на індивідуальну сумісність*, або крос-матч (cross-match). Наявність преформованих антитіл є фактором ризику надгострого відторгнення трансплантата. Однак відомі випадки надгострого відторгнення трансплантата за негативної перехресної проби, однією з причин якого може бути пресенсибілізація реципієнта до інших (не HLA) антигенів, особливо до тих, що експресуються на клітинах ендотелію.

Зауважимо, що цитотоксичною активністю характеризуються антитіла проти антигенів HLA класу I, які експресуються на всіх клітинах організму і трансплантата. Високі титри цих антитіл зумовлюють руйнування трансплантата за механізмом комплементозалежного лізису. Ці антитіла визначають у цитотоксичному тесті з T-лімфоцитами за температури 37 °C і їх називають *тепловими анти-T-антитілами*. Антитіла проти антигенів HLA класу II зумовлюють не цитотоксичний, а блокуючий ефект: екранують антигени HLA (зокрема, DR-антигени) на АПК і запобігають імунному розпізнаванню, сприяючи таким чином виживанню трансплантата. Ці антитіла визначають у цитотоксичному тесті з В-лімфоцитами за температури 8-10 °C і називають *холодовими анти-В-антитілами*.

Наявність у сироватці крові реципієнта преформованих цитотоксичних анти-HLA-антитіл проти антигенів HLA донора є протипока-

занням для використання органа цього донора для трансплантації. За відсутності цитотоксичних антитіл висновок про можливість трансплантації роблять з урахуванням ступеня сумісності донора і реципієнта. Оптимальним варіантом є сумісність донора і реципієнта за антигенами системи ABO, Rh та HLA. Однак практично неможливо підібрати повністю сумісних донора і реципієнта, тому селекція, по суті, зводиться до підбору найприйнятнішого донора. Вірогідність знайти повністю HLA-сумісного донора найбільша серед родичів і становить 1 : 4 серед рідних братів і сестер (сібсів). Підбір оптимального співвідношення між донором і реципієнтом значно подовжує тривалість виживання трансплантата. Найкращі результати отримують у разі сумісності донора і реципієнта за антигенами HLA класу II, особливо за антигенами HLA-DR. Серед антигенів HLA класу I найбільше значення мають ті, що кодуються локусом B. Клінічні спостереження дали змогу встановити, що наслідки типування HLA впливають на тривалість життя трансплантата залежно від попередньо проведених реципієнту трансплантацій, гемотрансфузій.

Оскільки в клініці допускають пересаджування і за несумісності за одним-двома антигенами системи HLA, то підбір донора в багатьох випадках повністю не виключає розвитку реакції (кризу) відторгнення. Кризи відторгнення можуть повторюватися і супроводжуються руйнуванням частини паренхіми трансплантата (органа), що призводить до поступового згасання його функцій. Водночас вдалий підбір дає змогу коригувати кризи відторгнення пригніченням імунної системи реципієнта за допомогою імуносупресивної терапії.

17.3.2. Пригнічення імунних реакцій

Для подовження виживання трансплантата велике значення має виявлення ранніх симптомів кризів відторгнення і своєчасна корекція імуносупресивної терапії. З цієї метою після трансплантації здійснюється імунологічний моніторинг реципієнта - спостереження за імунною реактивністю. Найнадійнішим методом діагностики кризи відторгнення трансплантата нині є тонкоголова аспіраційна біопсія. Дослідження біоптату (аспірату) дає змогу спостерігати за процесами, що відбуваються в самому трансплантаті, ідентифікувати типи клітин імунної системи за їх поверхневими маркерами (імунофлуоресцентним методом) або за біохімічною (ферментативною) активністю (гістохімічними методами). Розвиток кризи відторгнення супроводжується клітинною інфільтрацією трансплантата, при цьому клітинний склад інфільтрату змінюється в динаміці процесу. Зміна лімфоїдної інфільтрації на макрофагальну і нейтрофільну свідчить про розвиток незворотного гострого кризи відторгнення.

Для діагностики кризи відторгнення визначають також показники, які є критерієм активації імунної відповіді: співвідношення лімфоцитів CD4 і CD8 та рівень цитокінів, насамперед ІЛ-2, який, як відомо,

продукується активованими Т-лімфоцитами, є фактором їх росту і стимулює утворення ЦТЛ. Однак підвищення цих показників у реципієнта не завжди відображає активність імунної відповіді на трансплантат, оскільки вони підвищуються і під час багатьох захворювань, зокрема інфекційних.

Дані імунологічного моніторингу реципієнта - критерій для проведення корекції імуносупресивної терапії та оцінювання її ефективності. Існує два види імуносупресивної терапії - антигеннеспецифічна та антигенспецифічна імуносупресія.

Неспецифічна імуносупресія зумовлює загальне пригнічення імунної системи, знижуючи її активність до всіх антигенів. Загальна супресія імунної системи завжди призводить до зниження резистентності організму реципієнта до інфекційних захворювань.

На ранніх етапах розвитку трансплантації для пригнічення імунних реакцій проводили загальне опромінення організму реципієнта рентгенівським випромінюванням. Однак для повного пригнічення імунних реакцій необхідні високі дози випромінювання, які хоча і запобігають відторгненню, але одночасно спричиняють небажані побічні ефекти (некроз слизових оболонок, порушення кровотворення, безплідність), оскільки діють на всі клітини, що діляться. Тому для пригнічення імунної системи загальне опромінення у практиці не застосовують.

Нині для пригнічення трансплантаційного імунітету широко і досить успішно використовують імуносупресивні агенти — препарати, різні за походженням, хімічною природою, механізмами дії, які тією чи іншою мірою вибірково впливають на імунну систему. У клінічній практиці найчастіше застосовують імуносупресивні агенти чотирьох типів - кортикостероїди (преднізолон, дексаметазон та ін.), антиметаболіти (азатіоприн), антибіотики (циклоспорин та ін.), антитіла (табл. 45).

Кортикостероїди характеризуються вираженими протизапальними властивостями. При застосуванні їх у клінічній трансплантації спостерігається супресія імунної запальної реакції, яка має вирішальне значення у відторгненні трансплантата. Імуносупресивна дія стероїдів пов'язана з інгібуванням секреції запальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α , ІФН- γ), а також експресії антигенів МНС та молекул міжклітинної адгезії (CD62E, ICAM-1), наслідком якого є пригнічення активації і функціонування Т-лімфоцитів і макрофагів та міграції лейкоцитів до ділянок запалення.

Таблиця 45. Імуносупресивні препарати, які використовують при трансплантації

Препарат	Механізм дії
----------	--------------

Азатиоприн	<i>Інгібітори синтезу нуклеотидів</i> Блокує проліферацію активованих попередників лімфоцитів унаслідок інгібування синтезу аденозинових і гуанінових нуклеотидів
Мікофенолат-мофетил	Блокує проліферацію лімфоцитів унаслідок інгібування синтезу гуанінових нуклеотидів
Кортикостероїди	<i>Інгібітори експресії гена</i> Зменшують запалення внаслідок інгібування секреції цитокінів макрофагами
Циклоспорин і FK 506	Блокують продукування цитокінів унаслідок інгібування активності фактора транскрипції NF-AT
Рапаміцин	<i>Інгібітори трансдукції сигналу цитокіну</i> Блокує проліферацію лімфоцитів унаслідок інгібування ІЛ-2-залежної сигналізації
Анти-CD25 МкАТ	Інгібують проліферацію Т-клітин, блокуючи зв'язування ІЛ-2
Анти-CD40L*	<i>Інгібітори трансдукції сигналу коstimулятора</i> Інгібують активацію макрофагів і ендотелію, блокуючи зв'язування CD40-ліганду (CD40L) Т-клітин з CD40 макрофагів
CTLA4-Ig*	Інгібують активацію Т-клітин, блокуючи зв'язування коstimулято-ра В7 АПК з CD28 Т-клітин
Анти-CD3, АЛГ, АТГ	<i>Інгібітори функцій Т-клітин</i> Блокують білки-мішені, не елімінуючи клітин, або виснажують популяцію (субпопуляцію) Т-клітин, сприяючи фагоцитозу або комп-лементзалежному лізису їх

Примітка. Зірочкою позначено експериментальні препарати; АЛГ — антилімфоцитарний імуноглобулін; АТГ - антитимочитарний імуноглобулін.

Завдяки здатності індукувати зазначені ефекти кортикостероїди можуть призупинити гостру стадію розвитку кризи відторгнення. Терапевтичний ефект кортикостероїдів залежить від їх дози. Так, преднізолон для профілактики кризи вводять відразу після трансплантації й до стабілізації клінічного стану хворого в дозі 3-4 мг/кг маси тіла, а надалі в підтри-мувальній дозі - 0,5 мг/кг. Для лікування вже розвинутого гострого

кризу доза стероїдів значно збільшується і становить для метилпреднізолону до 1000 мг на добу впродовж однієї - чотирьох діб. Високі дози кортикостероїдів зумовлюють сильні токсичні ефекти - затримку рідини, збільшення маси тіла, діабет тощо.

Азатиоприн імуносупресивний агент з антипроліферативною дією. Продукт метаболізму азатиоприну - тіоінозинова кислота діє як антиметаболіт, конкуруючи з інозином монофосфату і блокуючи синтез пуринових основ — аденозин- та гуанозинмонофосфату. Включаючись у ДНК клітин, що діляться, вона перешкоджає їх проліферації. При застосуванні в трансплантації (терапевтична доза становить 2-3 мг/кг маси тіла на добу) азатиоприн пригнічує проліферацію лімфоцитів, що активуються алоантигенами трансплантата. Антипроліферативний ефект препарату не обмежується лімфоцитами, а поширю-

ється на інші клітини, що діляться, чим зумовлюється його побічна дія, зокрема на кістковий мозок та печінку.

Антибіотики - циклоспорин, FK 506 і рапаміцин, що отримані з мікроорганізмів ґрунту (див. розд. 21), різняться за структурою, пригнічують клітинні реакції імунітету.

Всі три препарати блокують активацію та проліферацію Т-клітин, інгібуючи внутрішньоклітинне передавання сигналу цитокіну після зв'язування зі своїми рецепторами - цитоплазматичними білками імуніфілінами. Циклоспорин зв'язується з циклофіліном, а FK 506 і рапаміцин з FK-зв'язувальними білками (*FK-binding protein*) - відповідно FK BP12 і FK BP25.

Після зв'язування циклоспорин і FK 506 блокують фосфатазну активність сигнального білка кальциневрину, що є необхідним для транскрипційної активації ІЛ-2 гена, і пригнічують продукування ІЛ-2 Т-клітинами та експресію його рецептора (CD25). Рапаміцин зумовлює інактивацію протеїнкінази, що бере участь в активації гена α -ланцюга рецептора ІЛ-2, і таким чином блокує сприйняття індукованого ІЛ-2 сигналу.

Циклоспорин та його функціональні аналоги виявляють цілеспрямовану інактивувальну дію на ті Т-клітини, що активуються антигенами трансплантата, і в цьому їхня перевага над іншими імуносупресантами. Впровадження в клінічну практику циклоспорину (1982) відкрило нову еру в трансплантації - «еру циклоспорину». Застосування циклоспорину (в дозі 5 мг/кг маси тіла на добу) значно подовжило виживання трансплантатів упродовж перших років після пересаджування (хоча і не вирішило проблеми хронічного відторгнення) і знизило частоту інфекційних ускладнень. Однак циклоспорин (як і його функціональні аналоги) має нейро-, нефро- і гепатотоксичні властивості, а тривале застосування його пов'язане зі збільшенням ризику злоякісних пухлин у реципієнтів, що значною мірою може бути зумовлено, як це припускають, ТФР- β -стимулювальними властивостями антибіотика.

Отже, імуносупресивні агенти трьох типів діють на різні етапи реакції відторгнення, а тому для мінімізації побічних ефектів, які могли б спричинитися високими дозами кожного з них у випадку застосування їх як монотерапевтичних засобів, їх комбінують, використовуючи менші (менш токсичні) дози. Циклоспорин, такролімус і рапаміцин, хоча і діють більш селективно, ніж азатіоприн та інші антиметаболіти, однак є токсичними для багатьох тканин. Менш токсичними є антитіла, які характеризуються чітко вибірковою дією.

Антитіла. Упродовж багатьох років для лікування гострого відторгнення трансплантата використовувалися і нині використовуються, але з певними обмеженнями, поліклональні антитіла (ПкАТ) - антилімфоцитарний імуноглобулін (АЛГ) та антитимоцитарний імуноглобулін

(АТГ), які отримують внаслідок імунізації тварин (кролів, коней) лімфоцитами або клітинами тимуса людини. Терапевтичний ефект ПкАТ полягає в тому, що вони зумовлюють комплементзалежний лізис Т-лімфоцитів. Однак застосування ПкАТ підвищує ризик інфекцій у реципієнта. Можливі й інші ускладнення, пов'язані з наявністю в препаратах чужорідного білка (алергічні реакції) та антитіл різної специфічності (тромбоцитопенія). Крім того, ці препарати глобулінів руйнують Т-лімфоцити незалежно від їх антигенної специфічності, тобто не лише ті, що реагують проти трансплантата.

Ефективнішим є застосування «гуманізованих» мишачих МкАТ (див. розд. 22) з певною спрямованою дією, оскільки дає змогу мінімізувати антигенність цих білків для людини. МкАТ специфічні до певних поверхневих молекул клітин, що беруть участь у процесах розпізнавання антигену й активації лімфоцитів. Деякі з МкАТ можуть зумовити деструкцію лімфоцитів, інші - блокування функції своїх білків-мішеней, не руйнуючи клітин, що їх експресують.

У клінічній трансплантації використовують МкАТ миші проти CD3-молекули людини (муромонаб-CD3), що є частиною Т-клітинного антигенрозпізнавального комплексу. В експерименті для запобігання відторгненню трансплантата використовують МкАТ проти різних молекул клітинної поверхні Т-лімфоцитів: CD4 - маркера головної, як вважають, у реакції відторгнення субпопуляції Т-клітин; CD8 - маркера цитотоксичних Т-лімфоцитів, CD25 (α -ланцюга рецептора до ІЛ-2) - відповідальної за сприйняття сигналу від цитокіну; ICAM-1 (CD54) - важливої для адгезії (і активації) та CD154 (CD40-ліганд), важливої для активації Т-клітин. Досліджуються також МкАТ до експресованих на АПК коstimуляторних молекул В7.1 (CD80) та В7.2 (CD86), взаємодія яких з їхнім лігандом CD28 на Т-клітинах запускає каскад необхідних для активації сигналів. Інший підхід полягає у використанні альтернативного до CD28 ліганда коstimуляторних молекул - СТЛА-4, зв'язування якого з молекулами В7 призупиняє активацію Т-клітин. Показано, що введення розчинного СТЛА-4 (або СТЛА4-Ig) тваринам сприяє тривалому виживанню деяких трансплантованих тканин. Ефект СТЛА-4 зумовлюється блокуванням коstimуляції Т-клітин, які специфічні до антигенів гістосумісності донора, та індукуванням у них стану анергії.

Отже, антитіла, на відміну від широко вживаних лікарських засобів, здатних спричинювати небажані ефекти на нелімфоїдні тканини, діють спрямовано на певні клітини імунної системи. До того ж ефективність антитіл можна підвищити, кон'югуючи їх з токсинами. Ще один новий підхід полягає в кон'югуванні з токсинами цитокинів. Наприклад, кон'югати ІЛ-2-токсин, зв'язуючись з ІЛ-2-рецепторами, зумовлюють інактивацію клітин, що несуть ці рецептори. Однак, незважаючи на всю привабливість, терапія кризи відторгнення за до-

помогою біологічних агентів, антитіл і цитокінів перебуває ще на стадії пошуку. Крім того, біологічні агенти, хоча і діють більш вибірково, в чому полягає їхня перевага над лікарськими засобами, також характеризуються неспецифічними імуносупресивними властивостями. В перспективі описані нові підходи будуть вдосконалюватися так, щоб можна було вибірково еліминувати або блокувати активність тих клонів лімфоцитів, що специфічні до антигенів трансплантата, не впливаючи на всі інші клони. Це дасть змогу уникати небажаних побічних ефектів, в тому числі зниження резистентності до інфекцій.

Специфічна імуносупресія. Специфічна імуносупресія, на відміну від неспецифічної, зумовлює інактивацію лише тих клонів лімфоцитів, що відповідають за відторгнення трансплантата, не впливаючи на реактивність імунної системи щодо інших антигенів. Сьогодні для запобігання відторгненню трансплантата в експерименті використовують такі прийоми, як індукування толерантності в неонатальний період та активне і пасивне підсилення толерантності.

У гризунів (тварин, які найчастіше використовують в експериментальній трансплантології) Т-клітини емігрують із тимуса відразу після народження і толерантність у них можна індукувати, вводячи їм у цей період клітини, здатні рости і розвиватися й бути постійним джерелом донорських антигенів. Зазвичай мишам однієї батьківської лінії, наприклад В, вводять клітини кісткового мозку гібридів (АхВ) F₁, що призводить до розвитку у реципієнтів ареаактивності до антигенів А, яка виникає внаслідок пригнічення

утворення зрілих алореактивних анти-А Т-клітин. Індукована толерантність підтримується в дорослому стані, чим і пояснюється тривале виживання у таких реципієнтів трансплантатів від донорів лінії А (див. розд.13).

Вважають, що основою неонатального індукування толерантності може бути як інактивація антигеном клонів Т-клітин, так і вибіркова активація певних їх субпопуляцій. Так, підвищення кількості донорспецифічних Тх2-клітин і утворення ними цитокінів, зокрема ІЛ-10, пригнічує продукування Тх1 клітинами ІФН- γ та ІЛ-2. Дефіцит донорспецифічних Тх1-клітин, яким належить вирішальна роль у реакції відторгнення, за підвищеної кількості Тх2-клітин призводить до пригнічення реакції відторгнення і сприяє виживанню трансплантата. Існує також думка, що неонатально індукована толерантність може бути зумовлена активацією супресорних Т-клітин, яка обґрунтовується можливістю адаптивного перенесення супресії реакції відторгнення інтактному реципієнту за допомогою Т-лімфоцитів від донора, толерантного до трансплантата. Однак питання про природу супресорних Т-лімфоцитів остаточно ще не з'ясовано.

У людини виселення Т-клітин з тимуса відбувається через 16-20 тижнів внутрішньоутробного розвитку, тобто наприкінці першої половини вагітності, а тому отримати стан неонатально індукованої толерантності (як у гризунів) неможливо. Подібний певною мірою стан виникає у людини після загального опромінення лімфоїдної тканини з екрануванням кісткового мозку і наступного введення антигену. Однак, як уже зазначалося, застосування загального опромінення пов'язане з важкими побічними ефектами, що унеможлиблює широке використання цього методу в клінічній практиці.

У тварин і людини можна індукувати стан ареактивності до трансплантата та подовжувати його виживання за допомогою гемотрансфузій. У людини в деяких випадках можна подовжити термін виживання трансплантата попереднім переливанням крові. Сприятливий вплив на виживання трансплантата може чинити попередня внутрішньовенна (не інша!) трансфузія реципієнту крові не лише від донора органа (*donor specific transfusion*), а й від іншого, не підбраного спеціально, донора, що зумовлено випадковим збігом деяких антигенів донора крові і донора трансплантата (органу).

Гемотрансфузійний ефект виникає як наслідок активної імунної відповіді реципієнта на введені чужорідні антигени донора, тому цей феномен називають *активним імунним підсиленням толерантності* або *активним підсиленням виживання трансплантата*. Активне підсилення, як вважають, може опосередковуватися різними механізмами, такими як індукування антигенами крові анергії чи вибіркова активація певних субпопуляцій Т-клітин (Тх2), утворення «підсилювальних антитіл», які пригнічують процес розпізнавання та презентації антигенів (блокуючи антигенні детермінанти трансплантата чи руйнуючи АПК - «лейкоцити-пасажири») або зумовлюють елімінацію алореактивних клітин. У свій час попереднє переливання донорської крові широко застосовувалося в багатьох центрах трансплантації. Однак ця процедура пов'язана з ризиком сенсibiлізації реципієнтів та можливим інфікуванням їх вірусами. Із запровадженням ефективних імуносупресивних агентів застосування цього методу в більшості випадків стало недоцільним.

В експерименті тривалого виживання трансплантата досягають також введенням реципієнту під час трансплантації готових антидонорських антитіл, які зумовлюють *пасивне підсилення толерантності* (*пасивне підсилення виживання трансплантата*). Ефект підсилення може бути зумовлений регуляцією введеними антитілами імунної відповіді на трансплантат за механізмом зворотного зв'язку (див. розд. 10, 11).

Як індуковані в організмі реципієнта, так і введені готові антитіла пригнічують реакції відторгнення лише щодо антигенів конкретного донора, що підтверджує імунну специфічність феноменів активного і пасивного підсилення.

Отже, специфічна імуносупресія, ослабляючи імунну відповідь на трансплантат, не знижує резистентності реципієнта до збудників інфекцій. Однак застосування методів специфічної імуносупресії в клінічній практиці вірогідно стане можливим лише у майбутньому.

ВИСНОВКИ

Пересаджування алогенних органів і тканин за відсутності лікування майже завжди супроводжується відторгненням трансплантата. В основі відторгнення лежить розпізнавання імунною системою реципієнта чужорідних антигенів гістосумісності, експресованих на клітинах трансплантата, і розвиток реакцій на них. Найважливіші антигени гістосумісності кодуються генами комплексу МНС. Т-Клітини реципієнта розпізнають безпосередньо алогенні молекули МНС чи комплексовані з ними пептиди інших алогенних білків на АПК донорського походження («лейкоцитах-пасажирах»), а також пептиди алогенних білків в асоціації з власними молекулами МНС на АПК реципієнта. Головним індуктором реакції відторгнення є пряма активація Т-клітин алогенними молекулами МНС, експресованими на АПК трансплантата. Активовані алореактивні Т-клітини здійснюють пряму цитотоксичну дію на клітини трансплантата або секретують цитокіни, за допомогою яких залучають для його руйнування різні ефекторні механізми, як антигенспецифічні, так і запальні неспецифічні. Цитокіни стимулюють також експресію антигенів МНС і молекул адгезії на клітинах трансплантата, сприяючи таким чином реалізації ефекторних механізмів. У патогенезі гострого відторгнення провідну роль відіграють клітинні реакції, тоді як у хронічному відторгненні беруть участь також анти-МНС-антитіла. Преформовані антитіла реципієнта до антигенів МНС донора можуть бути причиною над гострого відторгнення трансплантата. При пересаджуванні кісткового мозку реципієнтам зі зниженою імунореактивністю розвивається реакція трансплантат проти хазяїна, яка індукується антигенами гістосумісності реципієнта і може призвести до його загибелі. Ослабити реакції відторгнення та подовжити виживання трансплантата можна підбором донора і реципієнта за антигенами МНС. При цьому найбільше значення має сумісність за антигенами МНС класу II, зокрема HLA-DR, та антигенами HLA-B класу I. Різні неспецифічні імуносупресивні агенти, які широко використовують у клінічній практиці для блокування реакцій відторгнення, подовжують виживання трансплантата, однак, зумовлюючи загальне пригнічення імунної системи, вони здатні знижувати резистентність до інфекцій. Позбавлені цього побічного ефекту методи специфічної імуносупресії - інактивації лише клонів лімфоцитів, що відповідають за відторгнення трансплантата, поки що знаходяться на стадії експериментальної розробки.

Контрольні запитання

1. У чому полягає суть прямого і непрямого розпізнавання антигенів трансплантата і чим відрізняються реакції, індуковані в результаті прямої і непрямої активації Т-клітин реципієнта?

2. Які з алотрансплантатів відторгнуться реципієнтом швидше, якщо видалити з них власні антигенпрезентувальні клітини: а) відмінні за антигенами МНС, але ідентичні за мінорними? б) відмінні за мінорними антигенами, але ідентичні за МНС?

3. Які ефекторні механізми зумовлюють гостре та хронічне відторгнення алотрансплантатів?

4. Які механізми спричинюють надгостре відторгнення і чим зумовлена більша складність проблеми відторгнення цього типу при ксенотрансплантаціях порівняно з алотрансплантаціями?

5. Які способи, засоби та методи використовують для ослаблення (блокування) реакції відторгнення?

6. Що є абсолютним протипоказанням для трансплантації і яку комбінацію лікарських препаратів, антитіл і антигенів можна вважати оптимальною при пересаджуванні алотрансплантата?