

Instytut Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Polska Akademia Nauk
Zakład Chirurgii Transplantacyjnej

Andrzej Namysłowski

MECHANIZM WZMOCNIENIA IMMUNOLOGICZNEGO W ALLOPRZESZCZEPACH -
DYSTRYBUCJA ALLOANTYGENU I ALLOSUROWICY W ORGANIZMIE BIORCY

Praca doktorska



25 188
(dublet)
H3081

Promotor

Prof. dr hab. Waldemar Lech Olszewski

Warszawa 1998

Serdecznie dziękuję

Profesorowi dr hab. med. Waldemarowi Lechowi Olszewskiemu
za opiekę naukową i pomoc okazaną w czasie przygotowywania pracy.

Andrzej Namysłowski

SPIS TREŚCI

	str.
1. Wstęp.	1
Założenia i cel pracy	1
Przegląd piśmiennictwa	5
2. Materiał i metody.	23
2.1. Zwierzęta doświadczalne.	23
2.2. Schemat doświadczenia.	23
2.3. Grupy doświadczalne.	25
2.4. Stosowane metody.	28
2.4.1. Izolacja komórek ze śledziona.	28
2.4.2. Znakowanie komórek śledziona izotopem $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$.	28
2.4.3. Technika podań dożylnych.	29
2.4.4. Wytwarzanie surowicy odpornościowej (allosurowicy).	29
2.4.5. Izolacja globulin z allosurowicy Wistar anty-August oraz z surowicy szczura szczepu Wistar.	29
2.4.6. Znakowanie globulin z allosurowicy Wistar anty- August oraz z surowicy szczura szczepu Wistar.	30
2.4.7. Przeszczepianie serca.	30
2.4.8. Przeszczepianie skóry.	30
2.4.9. Pomiary radioaktywności narządów i tkanek.	31
2.4.10. Testy in vitro określające własności immunosupresyjne stosowanych allosurowic.	32
2.4.10a. Ocena poziomu przeciwciał cytotoksycznych zależnych od dopełniacza.	32
2.4.10b. Ocena miana aglutynacyjnego.	32

2.4.10c.	Ocena in vitro własności immunosupresyjnych stosowanych allosurowic.	33
2.4.11.	Ocena wpływu allosurowicy Wistar anty-August na leukocytozę szczura szczepu Wistar i szczura szczepu August.	33
2.4.12.	Metody statystyczne.	34
3.	Wyniki.	35
3.1.	Rozmieszczenie znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August w narządach i tkankach szczura szczepu Wistar przed przeszczepieniem serca i/lub skóry szczura szczepu August.	35
3.2.	Rozmieszczenie znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August w narządach i tkankach szczura szczepu Wistar przed przeszczepieniem serca i/lub skóry szczura szczepu August.	36
3.3.	Rozmieszczenie znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August w narządach i tkankach szczura szczepu Wistar po przeszczepieniu serca i/lub skóry szczura szczepu August.	37
3.4.	Rozmieszczenie znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August w narządach i tkankach szczura szczepu Wistar po przeszczepieniu serca i/lub skóry szczura szczepu August.	39
3.5.	Wpływ allosurowicy Wistar anty-August na rozmieszczenie komórek szczura szczepu Wistar.	40
3.6.	Rozmieszczenie znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August w narządach i	

	tkankach szczura szczepu August.	41
4.	Dyskusja.	43
5.	Streszczenie.	57
6.	Podsumowanie i wnioski.	64
7.	Piśmiennictwo.	66
8.	Tabele i ryciny.	90

SPIS TABEL I RYCIN

		str.
Tab. I	Grupy doświadczalne.	90
Tab. II	Grupa 1. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -9 biorcę skrwawiono.	92
Tab. III	Grupa 2. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -7 biorcę skrwawiono.	93
Tab. IV	Grupa 3. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -1 biorcę skrwawiono.	94
Tab. V	Grupa [4 + 6 + 8]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura	

- szczepu August, w dniu +1 biorcę skrwawiono. 95
- Tab. VI Grupa [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August, w dniu +5 biorcę skrwawiono. 96
- Tab. VII Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. 97
- KRWINKI.
- Tab. VIII Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. 98
- SUROWICA.
- Tab. IX Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie

30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

ŚLEDZIONA.

99

Tab. X Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

WĄTROBA.

100

Tab. XI Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

KREZKOWE WĘZŁY CHŁONNE.

101

Tab. XII Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

OBWODOWE WĘZŁY CHŁONNE.

102

- Tab. XIII Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.
SZPIK KOŚCI ŁAP TYLNYCH. 103
- Tab. XIV Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.
SKÓRA GRZBIETU. 104
- Tab. XV Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.
SERCE. 105
- Tab. XVI Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie

30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

PRZESZCZEP SERCA.

106

Tab. XVII Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

PRZESZCZEP SKÓRY.

107

Tab. XVIII Grupa 10. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -9 biorcę skrwawiono.

108

Tab. XIX Grupa 11. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -7 biorcę skrwawiono.

109

Tab. XX Grupa 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -1 biorcę skrwawiono.

110

Tab. XXI Grupa 13. Biorca August. W dniu -10 podano

	dożylnie 30 mg znakowanych ¹²⁵ J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -9 biorcę skrwawiono.	111
Tab. XXII	Grupa 14. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ¹²⁵ J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -7 biorcę skrwawiono.	112
Tab. XXIII	Grupa 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ¹²⁵ J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu -1 biorcę skrwawiono.	113
Ryc. I	Schemat doświadczenia. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.	114
Ryc. II	Schemat doświadczenia. Grupy 10, 11, 12.	115
Ryc. III	Schemat doświadczenia. Grupy 13, 14, 15.	116
Ryc. IV	Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ⁵¹ Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ¹²⁵ J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Krwinki - rozmieszczenie antygeny (splenocyty szczura szczepu August).	117
Ryc. V	Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ⁵¹ Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ¹²⁵ J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu	

0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura
szczepu August. Surowica - rozmieszczenie
antygeny (splenocyty szczura szczepu August). 118

Ryc. VI

Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar.
W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych
 ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w
dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J
globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu
0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura
szczepu August. Śledziona - rozmieszczenie
antygeny (splenocyty szczura szczepu August). 119

Ryc. VII

Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar.
W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych
 ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w
dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J
globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu
0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura
szczepu August. Wątroba - rozmieszczenie
antygeny (splenocyty szczura szczepu August). 120

Ryc. VIII

Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar.
W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych
 ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w
dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J
globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu
0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura
szczepu August. Krezkowe węzły chłonne -
rozmieszczenie antygeny (splenocyty szczura
szczepu August). 121

- Ryc. IX Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Obwodowe węzły chłonne - rozmieszczenie antygenu (splenocyty szczura szczepu August). 122
- Ryc. X Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Szpik kości łap tylnych - rozmieszczenie antygenu (splenocyty szczura szczepu August). 123
- Ryc. XI Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Przeszczep serca - rozmieszczenie antygenu (splenocyty szczura szczepu August). 124
- Ryc. XII Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar.

W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Przeszczep skóry - rozmieszczenie antygenu (splenocyty szczura szczepu August).

125

Ryc. XIII Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar.

W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Krwinki - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar).

126

Ryc. XIV Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar.

W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Surowica - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar).

127

Ryc. XV Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar.

W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych

^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Śledziona - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar).

128

Ryc. XVI Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Wątroba - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar).

129

Ryc. XVII Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Krezkowe węzły chłonne - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar).

130

Ryc. XVIII Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w

dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Obwodowe węzły chłonne - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar). 131

Ryc. XIX Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Szpik kości łap tylnych - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar). 132

Ryc. XX Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Przeszczep serca - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar). 133

Ryc. XXI Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J

- globulin allosurowicy Wistar anty-August, w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August. Przeszczep skóry - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar). 134
- Ryc. XXII Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August. Krwinki - rozmieszczenie syngenicznych splenocytów (szczura szczepu Wistar). 135
- Ryc. XXIII Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August. Surowica - rozmieszczenie syngenicznych splenocytów (szczura szczepu Wistar). 136
- Ryc. XXIV Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August. Śledziona - rozmieszczenie syngenicznych splenocytów (szczura szczepu Wistar). 137
- Ryc. XXV Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August. Wątroba - rozmieszczenie syngenicznych splenocytów

- (szczura szczepu Wistar). 138
- Ryc. XXVI Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August. Krezkowe węzły chłonne - rozmieszczenie syngenicznych splenocytów (szczura szczepu Wistar). 139
- Ryc. XXVII Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August. Obwodowe węzły chłonne - rozmieszczenie syngenicznych splenocytów (szczura szczepu Wistar). 140
- Ryc. XXVIII Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August. Szpik kości łap tylnych - rozmieszczenie syngenicznych splenocytów (szczura szczepu Wistar). 141
- Ryc. XXIX Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August. Krwinki - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August. 142
- Ryc. XXX Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August. Surowica - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August)

- i globulin (Wistar) u szczura szczepu August. 143
- Ryc. XXXI Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August. Śledziona - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August. 144
- Ryc. XXXII Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August. Wątroba - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August. 145
- Ryc. XXXIII Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August. Krezkowe węzły chłonne - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August. 146
- Ryc. XXXIV Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August. Obwodowe węzły chłonne - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August. 147
- Ryc. XXXV Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August. Szpik kości łap tylnych - rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u

szczura szczepu August.

148

Ryc. XXXVI Lokalizacja antygeny i alloprzeciwciał oraz
przypuszczalna lokalizacja kompleksów antygen-
przeciwciała.

149

SPIS SKRÓTÓW ZASTOSOWANYCH W PRACY

- aktywn. - aktywności
- ALC - (allogeneic lymphocyte cytotoxicity)
allogeniczna cytotoksyczność limfocytarna
- ALS - (antilymphocyte serum) surowica
antylimfocytarna
- AUG - szczep szczurów August
- BSA - (bovine serum albumin) albuminy surowicy
bydłęcej
- CMC - (cell mediated cytolysis) reakcja cytolityczna
zależna od komórek
- CSF - (colony stimulating factor) czynnik stymulujący
wzrost kolonii granulocytowych
- CTL - (cytotoxic T lymphocyte) limfocyt T
cytotoksyczny
- CyA - cyklosporyna A
- doświadcz. - doświadczalna
- DST - (donor specific transfusion) dawcospecyficzne
przetoczenie
- DTH - (delayed type hypersensitivity) reakcja późnej
nadwrażliwości
- GvH - (graft versus host reaction) reakcja przeszczep
przeciw gospodarzowi
- H-2 - główny kompleks zgodności tkankowej myszy
- Ia - (I region associated antigens) antygeny
kodowane przez geny z regionu I kompleksu MHC
- ICAM-1 - (intercellular adhesion molecule)
- IFN γ - interferon γ

IL-1	- interleukina 1
IL-2	- interleukina 2
IL-4	- interleukina 4
MHC	- (major histocompatibility complex) główny kompleks zgodności tkankowej
MLN	- (mesenteric lymph nodes) krezkowe węzły chłonne
MLR	- (mixed lymphocyte reaction) mieszana hodowla limfocytów
PGE	- prostaglandyna E
PHA	- fitohemaglutynina A
PLN	- (peripheral lymph nodes) obwodowe węzły chłonne
RTI	- główny kompleks zgodności tkankowej szczura
SD	- (serologically detected) antygeny MHC identyfikowane metodami serologicznymi
T_{H0}	- (lymphocyte T_{H0}) limfocyt T_{H0}
$T_{c/s}$	- (lymphocyte T cytotoxic/suppressor) limfocyt T cytotoksyczny/supresorowy
TDL	- (thoracic duct lymphocytes) limfocyty z przewodu piersiowego
TGF β 1	- (transforming growth factor β 1) czynnik wzrostowy transformujący β 1
T_h	- (lymphocyte T helper) limfocyt T pomocniczy
TNF	- (tumor necrosis factor) czynnik martwicy guza
T_s	- (lymphocyte T suppressor) limfocyt T supresorowy
TXB	- tromboksan B
Wis/WAG	- szczep szczurów Wistar/WAG

WSTĘP

ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Wzmocnieniem immunologicznym nazywamy przedłużenie czasu przeżycia allogenicznego przeszczepu w obecności przeciwciał przeciwko antygenom przeszczepu (128). Zjawisko to opisano po raz pierwszy jako ułatwienie wzrostu allogenicznego guza nowotworowego (31). Kilkadziesiąt lat później wykazano, że podanie przeciwciał anti-MHC i/lub rozpuszczalnego antygeny dawcy, przed przeszczepieniem, może wywołać długotrwałą tolerancję allogenicznego przeszczepu nerki u szczura (5, 6, 152).

Próby doświadczalnego przedłużania przeżycia alloprzeszczepów nerki umożliwiły wyodrębnienie różnego rodzaju skutecznych, tzw. biologicznych metod osłabiania reaktywności biorcy na alloantygeny dawcy, m.in. poprzez: podawanie biorcy antygeny dawcy - limfocytów (czynne wzmocnienie immunologiczne), allosurowicy - antysurowicy szczepu biorcy przeszczepu przeciw antygenom transplantacyjnym dawcy (bierne wzmocnienie immunologiczne) lub kombinacji obu tych czynników. Zakres przedłużenia czasu przeżycia allogenicznego przeszczepu zależy przy tym od momentu podania, dawki oraz różnic antygenowych między dawcą i biorcą.

Zdecydowanie najpopularniejszą spośród wyżej opisanych metod jest DST (dawcospecyficzna transfuzja krwi), polegająca na przedoperacyjnym przetoczeniu biorcy krwi dawcy lub jej

niektórych komponent, a więc podaniu komórkowych antygenów dawcy. Połączona z lekami immunosupresyjnymi, przedłuża ona przeżycie alloprzeszczepów narządowych u zwierząt doświadczalnych i człowieka.

Mechanizmy indukcji i podtrzymywania ograniczonej reaktywności immunologicznej wobec alloprzeszczepów narządowych, po podaniu antygeny dawcy, są słabo poznane.

Wzmocnienie immunologiczne polega na hamowaniu specyficznej odpowiedzi przeciw antygenom transplantacyjnym dawcy, przewyższa więc działające niespecyficznymi środkami immunosupresyjnymi, gdyż nie powoduje stłumienia istotnych w walce z zakażeniami, fizjologicznych mechanizmów obronnych. Szczegółowe poznanie procesów składających się na wzmocnienie immunologiczne mogłoby ponadto wyjaśnić charakter zjawiska adaptacji przeszczepów trwale przeżywających w organizmie biorcy.

W klasycznym protokole wzmocnienia immunologicznego, podanie biorcy alloprzeszczepu narządowego w dniu -11 dawcospecyficznych limfocytów i w dniu -10 allosurowicy biorcy skierowanej przeciw limfocytom dawcy przedłuża czas przeżycia przeszczepu serca powyżej 100 dni (109). Podobny mechanizm jest przypuszczalnie odpowiedzialny za przedłużenie czasu przeżycia przeszczepów narządów u gryzoni oraz nerki ludzkiej po DST.

Celem pracy doktorskiej było badanie dystrybucji w narządach i tkankach oraz kinetyki eliminacji antygeny dawcy i allosurowicy u biorcy przeszczepu narządowego przed i po wykonaniu przeszczepu, dla uzyskania informacji, w których narządach limfatycznych może rozwijać się proces regulacji odpowiedzi

gospodarza. Chodziło głównie o uzyskanie odpowiedzi na pytania:

- 1) jakie jest rozmieszczenie podanych alloprzeciwciał (przeciwciał gospodarza przeciw antygenom limfocytów dawcy) w narządach limfatycznych biorcy i jak długo tam pozostają,
- 2) jakie jest rozmieszczenie podanego alloantygeny (dawcy), w postaci allogenicznych limfocytów, w narządach limfatycznych biorcy,
- 3) jak przebiega proces eliminacji podanego alloantygeny u biorcy, który otrzymał alloprzeciwciała przeciw temu alloantygenowi i gdzie gromadzą się ewentualne kompleksy antygen-przeciwciała,
- 4) czy podane alloprzeciwciała gromadzą się w alloprzeszczepie serca i skóry.

Odpowiedzi na te pytania pozwoliłyby rozstrzygnąć, czy proces zmniejszenia reaktywności na antygeny transplantacyjne dawcy ma miejsce w narządach limfatycznych biorcy, czy w samym przeszczepie. Jeśli kompleksy antygen dawcy - przeciwciała biorcy przeciw dawcy gromadziły się w śledzionie, wątrobie i węzłach chłonnych lub specyficznym w jednym z tych narządów, świadczyłoby to o uruchomieniu specyficznego dla dawcy mechanizmu eliminacji antygeny w tych narządach. Mechanizm ten pozwalałby na ciągłą eliminację przez biorcę antygeny dawcy uwalnianego z przeszczepu. Inny proces, który mógłby rozgrywać się w narządach limfatycznych, to wytwarzanie przeciwciał antyidiotypowych. Powstawałyby one w odpowiedzi na podane alloprzeciwciała lub wytwarzane kompleksy.

Jeśli miało mieć miejsce blokowanie przez biorcę antygenów

na powierzchni komórek przeszczepu dawcy, to podane alloprzeciwciała odkładałyby się w przeszczepie, zaś podany w postaci limfocytów dawcy antygen wzmacniałby produkcję blokujących alloprzeciwciał.

Uzyskane dane mogłyby pozwolić na zrozumienie w dużym stopniu, jakie zjawiska prowadzące do ułatwienia przyjęcia alloprzeszczepu zachodzą po przetoczeniu dawcospecyficznego krwi, w szczególności, jaki jest los przetoczonych leukocytów (alloantygen) i jaką rolę mogą odgrywać alloprzeciwciała wytwarzane w wyniku podania komórek dawcy.

Podanie biorcy pełnej krwi, a więc leukocytów, erytrocytów, płytek, osocza z zawartymi w nim cytokinami i rozpuszczalnymi receptorami, wywołuje odpowiedź odpornościową, przy której nie wiadomo, jaka komponenta krwi odgrywa w niej kluczową rolę. Stąd słuszne wydawało się ograniczenie modelu doświadczalnego do podawania limfocytów i surowicy (przeciwciał) wytworzonej przeciw limfocytom.

PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA

Znany jest w szczególności schemat następujących kolejno po sobie odpowiedzi pierwotnej i wtórnej na obce antygeny. Tłumaczy on niewątpliwie zjawiska zachodzące podczas walki z drobnoustrojami i niektóre procesy patologiczne z udziałem układu odpornościowego (np. konflikt Rh, choroba posurowicza). Jednakże, nie można mówić o jego pełnej porównywalności z sytuacjami spotykanymi w transplantologii. Sam przeszczep narządowy stwarza zupełnie niecodzienne, nieporównywalne z innymi, spotykanymi w filogenezie warunki dla ustroju biorcy. Odrzucenie alloprzeszczepu narządowego wynika z ogólnych tendencji układu odpornościowego do zachowania integralności ustroju poprzez likwidowanie obcych antygenowo struktur, a nie z ewolucyjnego wykształcenia się ściśle ukierunkowanych pod tym względem mechanizmów, albowiem kontakt z alloantygenami zdarza się niezmiernie rzadko, z alloantygenami zaś w formie narządu - nigdy. W procesie odrzucania uczestniczą liczne, tworzące skomplikowaną sieć wzajemnych powiązań komórki, takie jak makrofagi (komórki prezentujące antygeny), poszczególne podtypy limfocytów T, a nawet limfocyty B. Stopień komplikacji tego układu sprawia, że jego reakcja na zmiany poszczególnych parametrów immunologicznych nie jest tak jednoznacznie ukierunkowana i łatwa do przewidzenia pod względem natężenia, jak w opisywanym powyżej schemacie. Z tej też przyczyny zrodziły się koncepcje oddziaływania na cały ów system przez podawanie dodatkowej porcji alloantygeny i/lub przeciwciał przeciwko

alloantygenowi, tak aby w efekcie uzyskać przedłużone przeżycie przeszczepu. Te przedłużające przeżycie przeszczepu metody można określić jako biologiczne, przeciwstawiając je pozostałym (promieniowanie jonizujące, leki immunosupresyjne, surowica antylimfocytarna, przeciwciała monoklonalne przeciw poszczególnym komórkom odpornościowym).

Próby doświadczalnego przedłużania przeżycia alloprzeszczepów nerki umożliwiły wyodrębnić różnego rodzaju skutecznych, biologicznych metod postępowania. Są to m.in.: podawanie biorcy antygeny dawcy - limfocytów (czynne wzmocnienie immunologiczne) (48, 134), allosurowicy - surowicy biorcy przeciw antygenom transplantacyjnym dawcy (bierne wzmocnienie immunologiczne) lub kombinacji obu tych czynników. Uzyskiwane w tych doświadczeniach przedłużenie przeżycia alloprzeszczepów podtrzymywane jest zapewne przez komórki supresorowe, jednakże mechanizm(y) odpowiedzialny(e) za jego indukcję pozostaje(a) nieznany(e). Mechanizmy indukcji i podtrzymywania ograniczonej reaktywności immunologicznej wobec innych alloprzeszczepów narządowych, po podaniu antygeny dawcy i/lub surowicy skierowanej przeciw temu antygenowi, są również słabo poznane.

Niezależnie od rodzaju przeszczepionego narządu, ograniczona reaktywność immunologiczna przejawia się trwałą akceptacją przeszczepu i zahamowaniem produkcji przeciwciał IgM oraz limfocytów cytotoksycznych przy zachowanej reaktywności biorcy wobec antygenów dawcy w testach limfocytów *in vitro*: MLR, GvH (6, 50, 100).

Zdecydowanie najpopularniejszą spośród wyżej opisanych metod

jest DST, polegająca na przedoperacyjnym przetoczeniu biorcy krwi dawcy lub jej niektórych komponent, a więc podaniu komórkowych antygenów dawcy (23, 71, 87, 103, 160, 178). Połączona z lekami immunosupresyjnymi, przedłuża ona przeżycie alloprzeszczepów narządowych u zwierząt doświadczalnych i człowieka.

Mimo znacznej liczby doniesień wykazujących korzystny efekt przetoczenia krwi w przeszczepianiu nerek, ciągle nie został sprecyzowany optymalny protokół przetoczeń. Najbardziej kontrowersyjnymi problemami są ilość przetoczeń krwi oraz składowa krwi odpowiedzialna za w/w efekt. Skutki prezentacji alloantygenów drogą dożylną są różne i zależą od takich czynników, jak rodzaj przeszczepionego narządu (8), stopień niezgodności antygenowej pomiędzy dawcą i biorcą (8, 107, 174), wiek biorcy (140) oraz skład komórkowy podanej dożylnie krwi (63, 171). W związku z tym, DST nie w każdym przypadku daje korzystne efekty kliniczne (63, 171). W niektórych kombinacjach szczepowych u szczurów nie stwierdza się przedłużenia okresu przeżycia przeszczepu (113, 124), zaś w innych kombinacjach szczepowych DST przedłużało przeżycie przeszczepu, ale nie przedłużało, gdy dawca stał się biorcą, a biorca dawcą (45). W niektórych przypadkach DST może wręcz uczulać gospodarza na podawane alloantygeny (98, 129, 132, 153). Należy również pamiętać o tym, że korzystny efekt DST w klinicznym przeszczepianiu nerek i doświadczalnym przeszczepianiu narządów ograniczony jest tylko do sytuacji, w których pobiera się narząd od żywego dawcy.

Przetoczenie semiallogenicznej krwi powoduje niekiedy większe działanie tolerogenne i mniejsze działanie uczulające, niż

przetoczenie w pełni allogenicznej krwi (125).

DST na 7 dni przed przeszczepieniem przedłuża przeżycie alloprzeszczepu nerki u szczura (30, 53, 116, 171). Pojedyncze podanie dożylnie pełnej krwi dawcy 7 dni przed przeszczepem może (efekt swoisty dla dawcy) indukować supresję odrzucenia alloprzeszczepów wątroby (75, 177).

DST może stymulować indukcję swoistych dla dawcy komórek supresorowych i czynników supresorowych, co wykryto w węzłach chłonnych i przewodzie piersiowym 7 dni po przetoczeniu. Efekt supresyjny był zależny od dawki. Wynika to najprawdopodobniej z bardzo chwiejnej równowagi pomiędzy komórkami supresorowymi i efektorowymi, gdzie działanie tych ostatnich ujawnia się przy zbyt wysokim lub zbyt niskim poziomie komórek supresorowych.

Komórki supresorowe były obecne w śledzionie myszy i szczura w 1 tydzień po przetoczeniu krwi swoistej dla dawcy (91, 133). Najprawdopodobniej, właśnie komórki supresorowe odpowiadają za trwałe przeżycie alloprzeszczepów u gryzoni w mechanizmie wzmocnienia immunologicznego (52). Pojedyncze przetoczenie krwi indukuje komórki supresorowe myszy (85) i człowieka (80, 136). U człowieka (80) identyfikowano komórki supresorowe jako monocyty krwi obwodowej, podczas gdy u gryzoni pochodziły one ze śledziony. Wykazano znaczną rolę śledzionowych komórek supresorowych (7, 158).

Istotnymi mechanizmami indukcji i podtrzymywania antygenospecyficznej tolerancji mogą być generacja podtypu komórek T zdolnego do specyficznego hamowania odpowiedzi odpornościowych przeciwko dawcy, wraz ze zwiększeniem produkcji

IL-4 przez biorcę (181).

W nieodrzuconych po DST przeszczepach nerki stwierdza się obecność cytotoksycznych limfocytów T, wykazujących aktywność skierowaną przeciw alloantygenom dawcy (20). Być może: 1) same limfocyty T cytotoksyczne nie wystarczają do zapoczątkowania procesu odrzucania (141), 2) czynność komórek cytotoksycznych hamowana jest przez działanie antyidiotypowych limfocytów T supresorowych (15), 3) czynność limfocytów T cytotoksycznych blokują rozpuszczalne czynniki supresorowe, tzw. przeciwciała wzmacniające lub przeciwciała antyidiotypowe.

Prawdopodobnie, podane komórki zawierające wyłącznie antygeny klasy I MHC mogą wywierać działanie supresyjne na alloprzeszczep wątroby u szczura. Ponadto, w śledzeniu długo żyjących biorców alloprzeszczepów wątroby, którym to biorcom przetoczono uprzednio takie komórki, stwierdza się obecność specyficznych dla dawcy komórek supresorowych, podobnie jak po przetoczeniu pełnej krwi dawcy (180). Szczurze erytrocyty lub płytki krwi, wyrażające antygeny MHC klasy I (ale nie klasy II), mogą indukować przedłużenie przeżycia alloprzeszczepu (171, 172).

Najważniejszym czynnikiem wpływającym na efekt DST u szczurów jest kombinacja dawca-biorca. Kluczową rolę w tolerancji alloprzeszczepów może odgrywać wysoki poziom przeciwciał przeciwko antygenom klasy II u szczurów z długo przeżywającymi przeszczepami (45).

Dożylnie podanie allogenicznych limfocytów prowadzi do funkcjonalnej delecji klonalnej lub anergii dwoistej czynności cytotoksycznych limfocytów T (produkcja i wychwytywanie własnych

czynników pomocniczych) w alloprzeszczepie, co prowadzi do jego tolerancji. Delecja klonalna, a zwłaszcza inaktywacja dwoistej czynności cytotoksycznych limfocytów T, mogą oznaczać nie tylko brak cytotoksycznych komórek T, ale również komórek T produkujących czynniki pomocnicze (16).

Indukcja wzmocnienia immunologicznego w przeszczepie skóry zależy od obecności promieniowrażliwych komórek T w allogenicznej populacji komórkowej, podanej dożylnie (159). Dożylne podanie myszy komórek śledzionowych, niezgodnych w obrębie antygenów zgodności tkankowej klasy I, powoduje swoistą dla dawcy redukcję odpowiedzi cytotoksycznych limfocytów T biorcy (121, 122).

Spadek poziomu prekursorów cytotoksycznych limfocytów T, po dożylnym podaniu allogenicznych limfocytów, nie jest zjawiskiem długotrwałym. Prawdopodobnie okres funkcjonalnej delecji klonalnej lub anergii jest wystarczająco długi, aby komórki alloprzeszczepu skóry, prezentujące antygeny głównego układu zgodności tkankowej, zostały zastąpione przez komórki biorcy. Chociaż poziom allospecyficznych prekursorów cytotoksycznych limfocytów T powraca stopniowo do stanu sprzed dożylnego podania allogenicznych limfocytów, ekspresja antygenów docelowych może być niewystarczająca do rozpoznania przez limfocyty T (159).

Alloprzeszczep serca, u mysiego biorcy poddanego procedurze dawcospecyficznego przetoczenia, zawiera w porównaniu z alloprzeszczepem u normalnego biorcy więcej komórek wyrażających granzym A i perforynę, markery czynnościowe cytotoksycznych limfocytów T (14).

Przetoczenia krwi osłabiają odpowiedź immunologiczną zależną

od komórek (131). Eliminacja antyalloantygenu aktywności T_h jest współmierna do uzyskanego przedłużenia przeżycia przeszczepu skóry (29). Jedną z możliwych dróg indukcji immunosupresji przez DST jest wytwarzanie prostanoidowych pochodnych kwasu arachidonowego, takich jak prostaglandyna E_2 (81, 126, 143). Synteza PGE w otrzewnowych makrofagach szczura zwiększa się po przetoczeniu krwi allogenicznej (166). DST nasila uwalnianie prostanoidów poprzez aktywację monocytów-makrofagów, co może stanowić przyczynę wzrostu aktywności komórek supresorowych (81). Tak więc wzrost produkcji PGE_2 może zwiększać efekt immunosupresyjny DST (155).

Pojedyncze przetoczenie krwi ma znaczne działanie immunosupresyjne, objawiające się gwałtownym spadkiem poziomu niektórych limfokin w połączeniu z gwałtownym wzrostem wydzielania PGE_2 in vitro przez stymulowane PHA komórki jednojądrzaste krwi obwodowej, co potwierdza hipotezę, iż takie zmiany w układzie immunologicznym odgrywają rolę w indukcji efektu przetoczeń krwi (65). Pojedyncze przetoczenie krwi powoduje u człowieka znaczne zmiany w produkcji IL-2, CSF, IFN γ i TNF. Pojedyncze przetoczenie krwi u myszy powoduje gwałtowny spadek produkcji IL-2 (120, 173). Stopniowy i znaczny wzrost wydzielania PGE_2 in vitro przez pierwszy tydzień po przetoczeniu krwi może tłumaczyć spadek produkcji IL-2, gdyż PGE_2 mają działanie immunosupresyjne. Stwierdzano zwiększone poziomy prostanoidów w surowicy (81) oraz wzrost wydzielania prostanoidów in vitro. Podanie czerwonych krwinek owcy in vivo powoduje znaczny i natychmiastowy wzrost produkcji PGE przez makrofagi

śledzionowe myszy (167). Prawdopodobnie, przetoczenia krwi indukują wzrost uwalniania PGE_2 poprzez aktywację układu monocytów. Początkowa faza indukcji przedłużenia przeżycia po przetoczeniu allogenicznej krwi może polegać na hamowaniu rozwoju cytotoksycznych limfocytów T przez aktywowane makrofagi poprzez blokowanie produkcji IL-2. Spadek produkcji IL-2 wpłynąłby na generację wszystkich cytotoksycznych komórek T, niezależnie od ich swoistości (65). Dysfunkcja aktywności komórek NK (69) może wynikać ze spadku produkcji IL-2 przez pomocnicze komórki T, co tłumaczyłoby także spadek produkcji IFN γ . Podanie IFN γ przełamuje indukcję tolerancji alloprzeszczepu po DST, zjawisku towarzyszy spadek poziomu TGF β 1 (64).

Dawcospecyficzne przetoczenie obniża wyrażanie przez granulocyty obojętnochłonne czynnika martwicy guza alfa oraz chemoatraktantów, jak również gromadzenie się granulocytów obojętnochłonnych w alloprzeszczepach wątrobowych (57). Indukcja makrofagalnej syntazy NO hamowana jest przez dawcospecyficzne przetoczenie krwi (58).

DST (jedna lub kilka) przedłuża przeżycie przeszczepu trzustki, lecz do trwałego, długoterminowego przeżycia dochodzi zdecydowanie rzadziej, niż w wypadku przeszczepu serca albo przeszczepu nerki (92, 107). Ten ograniczony wpływ DST na przedłużanie czasu przeżycia alloprzeszczepów dotyczy także skóry (113) i jelita, zdecydowanie zaś silniejszy jest w odniesieniu do nerki, serca oraz wątroby (77). Wynika to najprawdopodobniej z różnic immunogenności powyższych alloprzeszczepów, co oznacza odmienną łatwość modyfikowania rozpoznawania ich allogeniczności

(139). Również u psów, DST była mniej wydajna w przypadku przeszczepów trzustki, niż w przypadku przeszczepów nerki (108). Wpływ DST na przeżycie przeszczepu trzustki nie jest, zwłaszcza w modelu szczurzym, tak wyraźny jak przy innych unaczynionych przeszczepach (137). Różnice te stwierdzono także przy zastosowaniu innych procedur wzmocnienia immunologicznego (114, 123).

W odniesieniu do alloprzeszczepów nerwów obwodowych, dawcospecyficzne przetoczenie krwi nie indukuje znaczącej immunosupresji w porównaniu z alloprzeszczepianiem niektórych tkanek i narządów (70).

Dawcospecyficzne przetoczenie krwi może zapobiec przewlekłemu odrzucaniu alloprzeszczepu serca oraz grubieniu błony wewnętrznej jego naczyń wieńcowych (175).

Czynne wzmocnienie immunologiczne uzyskuje się obecnie, podając różnego rodzaju, najczęściej żywe komórki dawcy: tymocyty, limfocyty z węzłów chłonnych, splenocyty, komórki szpiku kostnego lub mieszaniny tych komórek. Wcześniej stosowano również wyciągi śledzionowe lub wątrobowe (10), rozpuszczalny antygen lub kompleksy antygeny z przeciwciałem (89), jednakże sposoby te nie znalazły szerszego zastosowania. Zaobserwowano związek efektywności przedłużania czasu przeżycia przeszczepu serca przez podanie zawiesiny komórek z zawartością limfocytów B w tej zawieszynie (78) oraz korelację pomiędzy zdolnością komórek limfoidalnych do stymulowania jednostronnej MLR a ich zdolnością do wywoływania czynnego wzmocnienia immunologicznego przeszczepu nerki u szczura (142). Wykazano, że do wywołania

czynnego wzmocnienia immunologicznego niezbędne są komórki posiadające na swej powierzchni antygeny MHC klasy II, ewentualnie posiadające w/w antygeny fragmenty błon komórkowych. Interesujące spostrzeżenie stanowi to, iż podanie komórek szpiku kostnego biorcy, wyrażających jeden lub więcej antygenów MHC dawcy, jest niekiedy bardziej skuteczne w indukowaniu tolerancji in vivo od w pełni allogenicznych komórek szpiku kostnego dawcy (170).

Podanie dawcospecyficznych komórek śledzionowych, poddanych działaniu mitomycyny-C, indukuje antygenospecyficzne działanie immunosupresyjne w odniesieniu do odpowiedzi na alloprzeszczep serca. Zjawisko może wynikać po części z hamowania sygnałów kostymulatorowych w fazie rozpoznawania podanego antygeny, bowiem pod wpływem mitomycyny-C znacząco zmniejsza się wyrażanie ICAM-1 przez komórki śledzionowe (154).

Także narząd, z którego pochodzą podawane komórki, odgrywa znaczną rolę w efektywności wywoływania stanu wzmocnienia immunologicznego przeszczepu. Zwykle najskuteczniejsze w wywoływaniu wzmocnienia immunologicznego są, używane z tego powodu bardzo często w tym celu, komórki pochodzące ze szpiku kostnego (41, 99, 157, 176). Gozzo (39) rozdzielał zawiesinę komórek szpiku kostnego na gradiencie BSA i poszczególne frakcje stosował wraz z ALS do przedłużania czasu przeżycia przeszczepu skóry. Tylko komórki frakcji, zawierającej w 90 % małe limfocyty, przedłużały czas przeżycia przeszczepu skóry porównywalnie z efektem uzyskiwanym po zastosowaniu pełnej zawiesiny komórek szpiku kostnego. We frakcji tej, zarówno komórki adherentne, jak

i nieadherentne były odpowiedzialne za przedłużanie czasu przeżycia przeszczepu skóry (40). Przy wywoływaniu wzmocnienia immunologicznego przez podawanie populacji limfocytów izolowanych ze śledziony, najefektywniejsze są komórki o fenotypie T_h , podczas gdy komórki o fenotypie $T_{c/s}$ nie wywierają wpływu na czas przeżycia przeszczepu (19).

Przedłużenie czasu przeżycia przeszczepu serca uzyskuje się również, stosując allosurowicę, tzn. antysurowicę szczepu biorcy przeszczepu przeciw antygenom transplantacyjnym dawcy (5, 112, 176), albo ksenogeniczną surowicę specyficzną wobec antygenów dawcy (50). Zwykle wykorzystuje się surowice zawierające przeciwciała antylimfocytarne, które wskutek poliklonalności są wyjątkowo skuteczne w usuwaniu komórek docelowych, gdyż działają na wiele antygenów powierzchniowych. Poza tym zaś, dzięki swej niespecyficzności mogą niszczyć różne komórki immunogenne w przeszczepie (145).

Okazuje się, iż stosowane w celu wywołania wzmocnienia immunologicznego antygen dawcy i allosurowica działają synergistycznie (150). Najlepszy wynik daje podanie antygeny na 24 godziny przed allosurowicą (157).

W zależności od kombinacji szczepowej, za działanie ochronne na przeszczep odpowiadają przeciwciała przeciwko antygenom MHC klasy I (21, 96, 138) i/lub przeciwciała przeciwko antygenom MHC klasy II (3, 62, 97, 112). Efektywność obu tych rodzajów przeciwciał zależy zresztą nie tylko od kombinacji szczepowej (czynność limfocytów T_h jest różna w różnych kombinacjach), lecz także od rodzaju przeszczepu (5). Zdolność wywoływania

wzmocnienia immunologicznego przeszczepu posiadają przeciwciała IgG₁, IgG₂ oraz IgM (6, 55, 101, 161). Przeciwciała IgG₂ i IgM mają także zdolność wywoływania reakcji nadostrego odrzucania, stąd też stosowanie wysokich dawek allosurowic lub dodanie do nich heterologicznego dopełniacza może prowadzić do uszkodzenia przeszczepu u szczura (101). Zastąpienie przeciwciał fragmentami F(ab)₂ chroni przed nadostrym odrzuceniem, jednakże osłabia 100 razy efekt wzmocnienia immunologicznego (12, 169).

Surowica biorcy w stanie wzmocnienia immunologicznego nie reaguje z erytrocytami dawcy (miano hemaglutynin 1:4), podczas gdy w surowicy normalnego biorcy miano hemaglutynin wynosi 1:1024 (148). Przy wzmocnieniu immunologicznym surowica biorcy, podobnie jak w przypadku tolerancji wywołanej przeszczepieniem wątroby (47, 67, 68), zawiera przeciwciała przeciwko antygenom MHC klasy II, nie zawiera zaś przeciwciał przeciwko antygenom MHC klasy I (148). W obu modelach doświadczalnych, jednym z mechanizmów indukowania tolerancji może być delecja allospecyficznych limfocytów T_h.

Specyficzne mechanizmy odpowiedzialne za zjawisko wzmocnienia immunologicznego są ciągle nieznanne. Procedura wzmocnienia immunologicznego może uruchamiać liczne mechanizmy immunoregulacyjne, kilka z nich mogłoby uczestniczyć w efekcie wzmocnienia immunologicznego, polegającym prawdopodobnie na indukcji swoistej i/lub nieswoistej supresji odpowiedzi immunologicznej biorcy poprzez czynny proces ograniczonej reaktywności immunologicznej na antygeny dawcy. Swoisty mechanizm indukowanego procedurą wzmocnienia immunologicznego przeżycia

alloprzeszczepu jest nieznan, chociaż wysuwa się szereg hipotez, jak osłabienie czynności fagocytarnej biorcy (73), zwiększenie zdolności do produkcji regulatorowych przeciwciał antyidiotypowych (11, 105, 165), czynniki surowicy (110, 130), kompleksy immunologiczne składające się z antygenów dawcy i przeciwciał biorcy (22), eliminacja (54) lub delecja klonalna komórek odpowiadających na antygen (21, 156), usunięcie tzw. leukocytów pasażerowych (79, 135), alloprzeciwciała biorcy (34, 66, 171, 172) lub zmniejszenie zdolności do ich produkcji (165), zwiększona produkcja prostaglandyn (PGE) (59), blokowanie komórek efektorowych przez przeciwciała lub antygen, przede wszystkim zaś indukcja (najprawdopodobniej antygenowo-specyficznych) supresorowych limfocytów T u biorcy (82, 90, 94, 106). Indukowanie ograniczonej reaktywności immunologicznej wobec alloprzeszczepu narządowego zależy ściśle od: 1) rodzaju antygeny, 2) dawek antygeny, 3) czasu immunizacji, 4) drogi podania antygeny, 5) kombinacji dawca - biorca.

Generowane in vitro komórki cytotoksyczne lub przeciwciała nie uszkadzają trwale przeżywającego w procesie wzmocnienia immunologicznego przeszczepu (146). Taki trwale przeżywający przeszczep jest jednak immunogeny, gdyż jego retransplantacja do normalnego biorcy aktywuje komórki cytotoksyczne in vivo (46, 148).

Zarówno podczas odrzucania alloprzeszczepu, jak i w tzw. fazie indukcyjnej wzmocnienia immunologicznego, obserwuje się szybką eliminację komórek dendrytycznych ze śródmiąższu przeszczepionego narządu, naciekanie przeszczepu przez jednojądrowe komórki biorcy

oraz zwiększone i przyspieszone wyrażanie antygenów MHC klasy I i II na komórkach przeszczepu. Oznacza to, iż procedura wzmocnienia immunologicznego powoduje takie uczulenie biorcy, że w wyniku tegoż uczulenia jednocześnie występują przyspieszenie odpowiedzi odpornościowej na alloprzeszczep i tłumienie jej poprzez mechanizm immunoregulacyjny (2). Poziom niespecyficzną (względem NK-wrażliwych komórek docelowych) i dawco-specyficzną cytotoksyczność splenocytów oraz komórek naciekających przeszczep jest podobny podczas odrzucania alloprzeszczepu i w fazie indukcyjnej wzmocnienia immunologicznego. Nie zaskakuje to w wypadku cytotoksyczności niespecyficznej, bowiem niespecyficzne cytotoksyczne komórki efektorowe nie odgrywają znaczącej roli w odrzucaniu przeszczepu (2, 9, 95). Ze zbieżności natomiast poziomów cytotoksyczności dawco-specyficznej wynika albo to, że specyficzna cytotoksyczność również nie jest dominującym mechanizmem w reakcji odrzucania przeszczepu, albo to, że w obrębie przeszczepu cytotoksyczność ta jest specyficznie obniżona (2).

Prawdopodobnie DTH odpowiada za odrzucanie alloprzeszczepu narządowego (83, 84, 115). DTH można specyficznie zahamować podaniem allogenicznych komórek jednojądrowych do krążenia wrotnego (115), zbadano więc wpływ podawania dawco-specyficznej krwi p.v. na czas przeżycia alloprzeszczepu serca u szczurów. Zarówno podanie alloantygeny i.v., jak i podanie alloantygeny p.v. wywołuje odpowiedź humoralną oraz komórkową (obecność w śledzionie limfocytów T cytotoksycznych), jednakże przy podaniu p.v. efekt był o wiele większy (72, 84). Podawane p.v. komórki

są specyficznie wychwytywane w wątrobie (72, 84), co współgra z sugestią, iż za stłumienie DTH po podaniu antygeny doustnym i p.v. odpowiada zapoczątkowany w wątrobie proces odpornościowy (115). Najprawdopodobniej, wywoływanie tolerancji polega z jednej strony na wychwytywaniu alloantygeny przez wątrobę, z drugiej zaś na zapoczątkowaniu miejscowej odpowiedzi humoralnej, obniżającej odpowiedź komórkową w mechanizmie wzmocnienia immunologicznego (84). Za stan specyficznego tolerancji mógłby być odpowiedzialny nie mający charakteru specyficznego przeciwciał czynnik surowiczy (33). Być może, komórki reagujące z antygenem, będące obecne w krążeniu biorcy ulegają aktywacji w wątrobie, a ich migrację z tego narządu hamuje kontakt z podanymi p.v. komórkami allogenicznymi. W krążeniu obwodowym biorcy prowadziłyby to do zmniejszenia ilości komórek reagujących z antygenem (czynnościowa delecja klonalna) (72). Podawane zaś i.v. komórki allogeniczne migrują do miejsc (w tym do śledziony), gdzie mogą stymulować proliferację komórek gospodarza reagujących z antygenem dawcy, co indukuje reakcję odrzucania przeszczepu. Mechanizmy tolerancji indukowanej podaniem alloantygeny p.v. oraz tolerancji wywołanej przeszczepieniem allogenicznego wątroby (67) są prawdopodobnie identyczne. Warto jeszcze zaznaczyć, iż u szczurów, po zastosowaniu wyżej wspomnianych metod nie zidentyfikowano nigdy komórek supresorowych (67, 115). Znaczącą rolę w indukcji i/lub podtrzymywaniu obniżonej reaktywności odpornościowej po immunizacji p.v. mogą odgrywać komórki T_{H} (35, 36, 37, 38).

Wyróżniamy dwie fazy stanu wzmocnienia immunologicznego

alloprzeszczepu: indukcyjną i trwałego przeżycia przeszczepu (6, 43, 100). W fazie indukcyjnej główną rolę odgrywają zapewne przeciwciała (przewaga mechanizmu biernego), chroniące przeszczep poprzez: maskowanie antygenów przeszczepu (blokada aferentna), blokowanie - na powierzchni komórek efektorowych - receptorów dla antygenów (blokada eferentna), opsonizację komórek reagujących z antygenem. Faza trwałego przeżycia przeszczepu jest najprawdopodobniej procesem aktywnym. Charakteryzuje się ona niewystępowaniem w organizmie biorcy przeciwciał specyficznych wobec antygenów dawcy oraz obniżoną zdolnością limfocytów biorcy do reagowania w teście CMC wobec antygenów dawcy. Możliwe jest dzięki temu wykonanie kolejnego przeszczepienia bez stosowania dodatkowej immunosupresji. Limfocyty biorców, u których uzyskano trwałe przeżycie przeszczepu, wykazują normalną aktywność w testach MLR i GvH (17, 32, 50, 100).

Przy biernym wzmocnieniu immunologicznym przeszczep przeżywa dłużej, niż podane przeciwciała; przy czynnym wzmocnieniu immunologicznym miano alloprzeciwciał obniża się w ciągu pierwszego miesiąca od podania alloantygeny (13, 101). Surowica biorcy poddanego procedurze wzmocnienia immunologicznego nie wywiera wpływu na czas przeżycia przeszczepu u innego biorcy. Nie udało się zidentyfikować w takiej surowicy przeciwciał antyidiotypowych lub blokujących (30, 144, 147, 148). W fazie indukcyjnej wzmocnienia immunologicznego wyizolowano ze śledziony i grasicy specyficzne komórki supresorowe, ale działanie ich po transferze do innych biorców zmniejszało się z upływem czasu i nie było wykrywane w fazie trwałego przeżycia przeszczepu (49).

Przenieść stanu wzmocnienia immunologicznego poprzez transfer splenocytów także się nie udało (30). Z drugiej jednak strony, obecność komórek supresorowych u zwierząt w stanie wzmocnienia immunologicznego udowodniono adoptywnym transferem do poddanych napromieniowaniu biorców (44, 74).

Poddani procedurze biernego wzmocnienia immunologicznego biorcy posiadają wystarczającą do zapoczątkowania reakcji odrzucania przeszczepu ilość limfocytów T (42). Ponadto zaś, przy wzmocnieniu immunologicznym limfocyty biorcy reagują *in vitro* z antygenem dawcy w testach MLC i GvH (99, 149, 151, 168). Transfer limfocytów śledzionowych do napromieniowanego biorcy hamuje reakcję odrzucania przeszczepu, co świadczy o obecności w śledzionie supresorowych limfocytów T (42). Nie są one komórkami recyrkulującymi, czym różnią się od komórek, obecnych u szczurów z tolerancją indukowaną w okresie noworodkowym, powodujących klonalną delecję komórek reagujących z antygenem dawcy w testach MLC i GvH (25). Wyżej wspomniane śledzionowe limfocyty supresorowe specyficznie hamują regenerację komórek reagujących z antygenem dawcy, jednakże nie są w stanie zahamować alloreaktywności dojrzałych limfocytów obwodowych (17). Przy tym wszystkim, należy pamiętać jeszcze o następujących zagadnieniach. Po pierwsze, istnieją co najmniej 3 subpopulacje allospecyficznych limfocytów T supresorowych: T_{s1} (induktor), T_{s2} (transduktor), T_{s3} (efektor). Po drugie, antygenowo-specyficzne limfocyty T_s mogą również powodować niespecyficzną supresję w obecności specyficznego antygeny (56).

Tzw. komórki naturalnie regulatorowe, zlokalizowane w szpiku

kostnym, niespecyficznie supresjonują odpowiedź proliferacyjną i cytotoksyczną (18, 26, 86, 104). Komórki te nie należą ani do populacji limfocytów T, ani do populacji limfocytów B (27). Najprawdopodobniej, supresja dotyczy zapoczątkowywania odpowiedzi odpornościowej i nie wpływa na już rozpoczętą reakcję.

Przetoczenie dawco-specyficznej krwi zmniejsza produkcję tromboksanu TXB₂ w przeszczepie nerki (16, 17, 127), co jest o tyle istotne, że produkcja tromboksanu podczas odrzucania alloprzeszczepu nerki skorelowana jest z akumulacją komórek zapalnych w jego śródmiąższu (16, 17, 88). Być może, przetoczenie dawco-specyficznej krwi blokuje sygnały komórkowe, stymulujące produkcję tromboksanu i innych mediatorów reakcji zapalnej, w tkance nerkowej, płytkach krwi oraz komórkach naciekających przeszczep. Może również, przetoczenie takiej krwi hamuje specyficznie wydzielanie czynników naczynioruchowych przez uczulone komórki immunologicznie kompetentne.

MATERIAŁ I METODY

1. Zwierzęta doświadczalne.

Doświadczenia wykonywano na 2 wsobnych szczepach szczurów: August (AUG) oraz Wistar (Wis/WAG). Szczury AUG (RTI^c) różniły się od szczurów Wis/WAG (RTI^u) silnymi antygenami transplantacyjnymi. Do badań używano samców o masie ok. 200 g.

2. Schemat doświadczenia (Tab. I, Ryc. I, II, III).

Podanie szczurzym biorcom alloprzeszczepu serca antygeny dawcy 11 dni przed przeszczepieniem oraz allosurowicy 10 dni przed przeszczepieniem powoduje znamienne przedłużenie czasu przeżycia przeszczepu serca. W badanym modelu wzmocnienia immunologicznego, antygen komórkowy stanowiły komórki śledziony szczura szczepu August znakowane izotopem chromu ($\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$), podawane dożylnie, w stężeniu $1,5 \times 10^7$ komórek w 1 ml płynu Hanksa, szczurowi szczepu Wistar. Z allosurowicy Wistar anty-August izolowano globuliny i znakowane ^{125}J podawano dożylnie, w stężeniu 30 mg (średnia masa globulin zawartych w 1 ml surowicy) w 1 ml płynu Hanksa, szczurowi szczepu Wistar. Serce i/lub skórę szczura szczepu August przeszczepiano szczurowi szczepu Wistar. Po upływie określonego czasu (9 dni przed przeszczepieniem, 7 dni przed przeszczepieniem, 1 dzień przed przeszczepieniem, 1 dzień po przeszczepieniu, 5 dni po przeszczepieniu), biorców skrwawiano z żyły głównej tylnej i do oddzielnych probówek pobierano: elementy morfotyczne krwi (w dalszej części pracy określane jako krwinki), surowicę, płuca,

nerki, śledzionę, wątrobę, krezkowe węzły chłonne, obwodowe węzły chłonne (szyjne i piersiowe), kości łap tylnych, skórę grzbietu (fragment), przeszczep serca, przeszczep skóry. Narządy oraz tkanki ważono i mierzono ich radioaktywność w liczniku promieniowania BECKMAN Gamma 4000. Uzyskane wyniki przedstawiano jako % radioaktywności podanej na 1 g narządu lub tkanki (tzw. narządowa radioaktywność właściwa). Wyniki dla kości przedstawiano w przeliczeniu na masę szpiku.

W celu zbadania wpływu allosurowicy na migrację komórek biorcy, podawano dożylnie, 10 dni przed terminem przeszczepienia, znakowane ^{51}Cr komórki śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August szczurowi szczepu Wistar. Biorców skrwawiano z żyły głównej tylnej 9 dni przed terminem przeszczepienia, 7 dni przed terminem przeszczepienia i 1 dzień przed terminem przeszczepienia.

W celu zbadania, z komórkami jakich narządów dawcy łączą się przeciwciała allosurowicy, podawano dożylnie, 10 dni przed terminem przeszczepienia, znakowane ^{125}J globuliny allosurowicy Wistar anty-August szczurowi szczepu August. Biorców skrwawiano z żyły głównej tylnej 9 dni przed terminem przeszczepienia, 7 dni przed terminem przeszczepienia i 1 dzień przed terminem przeszczepienia.

Wszystkie doświadczenia wykonano w 3 - 6 powtórzeniach, w obecności kontroli, którą stanowiło zastąpienie allosurowicy Wistar anty-August lub jej globulin przez surowicę szczepu Wistar lub jej globuliny.

3. Grupy doświadczalne (Tab. I).

Grupa 1. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu -9 biorcę skrwawiono.

Grupa 2. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu -7 biorcę skrwawiono.

Grupa 3. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu -1 biorcę skrwawiono.

Grupa 4. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce szczura szczepu August, w dniu +1 biorcę skrwawiono.

Grupa 5. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$

znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce szczura szczepu August, w dniu +5 biorcę skrwawiono.

Grupa 6. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono skórę szczura szczepu August, w dniu +1 biorcę skrwawiono.

Grupa 7. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono skórę szczura szczepu August, w dniu +5 biorcę skrwawiono.

Grupa 8. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i skórę szczura szczepu August, w dniu +1 biorcę skrwawiono.

Grupa 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i skórę szczura szczepu August, w dniu +5 biorcę skrwawiono.

Grupa 10. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar), w dniu -9 biorcę skrwawiono.

Grupa 11. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar), w dniu -7 biorcę skrwawiono.

Grupa 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar), w dniu -1 biorcę skrwawiono.

Grupa 13. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu -9 biorcę skrwawiono.

Grupa 14. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg

znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu -7 biorcę skrwawiono.

Grupa 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu -1 biorcę skrwawiono.

4. Stosowane metody.

4.1. Izolacja komórek ze śledziona.

Śledzionę pobraną od szczura umieszczano w płynie Hanksa. Przy użyciu igły preparacyjnej wyczesywano z niej komórki. Zawiesinę komórek w płynie Hanksa nawarstwiano na gradient Lymphoprepu (Nyegaard & Co, Norway) o gęstości $1,077 \text{ g/cm}^3$ i wirowano przez 35 min. (1600 obr./min.). Po wirowaniu, komórki znajdujące się na granicy faz zbierano przy użyciu pipety pasteurowskiej. Wydzielone komórki płukano 4-krotnie w płynie Hanksa, wirując 10 min. przy kolejno: 1800, 1300, 1100 oraz 1000 obr./min.

4.2. Znakowanie komórek śledziona izotopem $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$.

Komórki zawieszano w 1 ml płynu Hanksa i dodawano $50 \mu\text{Ci } ^{51}\text{Cr}$. Po 45 min. inkubacji w temperaturze 36°C , zawiesinę komórek płukano trzykrotnie płynem Hanksa, wirując 10 min. przy 1000 obr./min. Sporządzano zawiesinę o stężeniu $1,5 \times 10^7$ komórek w 1 ml płynu Hanksa i przy pomocy licznika BECKMAN Gamma 4000 mierzono jej radioaktywność.

4.3. Technika podań dożylnych.

Szczurowi w narkozie eterowej podawano zawiesinę komórek, globuliny lub surowicę do żyły grzbietowej prąca.

4.4. Wytwarzanie surowicy odpornościowej (allosurowicy).

Szczura szczepu Wistar uczulano 2-krotnie, w odstępie 6-tygodniowym, komórkami ze śledzion szczurów szczepu August. Pierwszą dawkę antygeny, 8×10^7 komórek, dzielono na 2 równe części. 4×10^7 komórek zawieszonych w 1 ml 0,9 % NaCl podawano dootrzewnowo, drugą część, w postaci jednorodnej zawiesiny w kompletnym adiuwancie Freund'a, w objętości 0,2 ml (kompletny adiuwant Freund'a i 0,9 % NaCl mieszano w stosunku 1:1) podawano podskórnie do dwóch łap szczura. Po upływie 6 tygodni szczura uczulano w taki sam sposób, stosując taką samą ilość komórek, lecz bez kompletnego adiuwantu Freund'a. W 7 dni po ostatniej immunizacji szczura skrwawiano z żyły głównej tylnej. Surowicę przechowywano w temperaturze -20°C .

4.5. Izolacja globulin z allosurowicy Wistar anty-August oraz z surowicy szczura szczepu Wistar.

Surowicę mieszano z wodą destylowaną i siarczanem amonu w stosunku 1:1:2, przy pH 7,6, i odstawiano na noc. Następnie zawiesinę wirowano przez 20 min. przy 10 tys. obr./min., po czym płukano trzykrotnie 50 % roztworem wodnym siarczanu amonu. Osad zawieszano w 0,9 % NaCl i dializowano w ciągu nocy.

4.6. Znakowanie globulin z allosurowicy Wistar anty-August oraz z surowicy szczura szczepu Wistar.

Liofilizowane globuliny rozpuszczano w 0,1 M buforze fosforanowym sodowo-potasowym, o pH 7,5, do uzyskania stężenia 5 mg/ml. Roztwory takie używano do dalszych operacji. Jodowano metodą chloraminową, stosując ok. 0,4 mg globulin, w pH 7,5, 50 μ g chloraminy-T, mieszając 30 s, po czym dodając 50 μ g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$. Po jodowaniu mieszaninę наносzono na kolumnę chromatograficzną Sephadex G-75, h=22 cm, ϕ =1 cm (przez kolumnę uprzednio przepuszczano każdorazowo po 0,5 mg odpowiednich globulin w celu zablokowania miejsc mogących nieodwracalnie wiązać globuliny znakowane). Eluowano 0,05 M buforem fosforanowym o pH 7,5, 0,25 ml/min., zbierano frakcje 1 ml. Frakcje szczytowe piku białkowego globulin łączono i mieszano.

4.7. Przeszczepianie serca.

Pobierano serce od szczura szczepu August, podwiązując żyłę główną tylną, żyłę główną przednią i żyły płucne. Biorcy (szczur szczepu Wistar) w narkozie eterowej wykonywano nacięcie w linii pośrodkowej, otwierano jamę otrzewnej i łączono aortę pobranego serca "koniec do boku" z aortą brzuszną biorcy, a pień płucny pobranego serca "koniec do boku" z żyłą główną tylną biorcy.

4.8. Przeszczepianie skóry.

Pobierano skórę podbrzusza szczura szczepu August. Biorcy (szczur szczepu Wistar) w narkozie eterowej wykonywano nacięcie w linii pośrodkowej, otwierano jamę otrzewnej i umieszczano

pobraną skórę w jamie brzusznej.

4.9. Pomiary radioaktywności narządów i tkanek.

Krew szczura rozdzielano na krwinki i surowicę. Izolowano płuca, nerki, śledzionę, wątrobę, krezkowe węzły chłonne, obwodowe węzły chłonne, kości łap tylnych, skórę grzbietu (fragment), przeszczep serca, przeszczep skóry. Narządy oraz tkanki ważono i mierzono ich radioaktywność w liczniku promieniowania BECKMAN Gamma 4000. Ponieważ widmo energetyczne ^{125}J zawiera się w widmie energetycznym ^{51}Cr , przy pomiarze aktywności materiału biologicznego, zawierającego oba izotopy, właściwe wartości wyliczano z poniższego układu równań:

$$\text{aktywność } ^{51}\text{Cr} + \text{aktywność } ^{125}\text{J} = X$$

$$(\text{aktywność } ^{51}\text{Cr})Z + \text{aktywność } ^{125}\text{J} = Y$$

gdzie:

X - aktywność materiału biologicznego w kanale chromowym

Y - aktywność materiału biologicznego w kanale jodowym

Z - procent aktywności ^{51}Cr rejestrowany w kanale jodowym (wartość ta ulega zmianie w miarę starzenia się detektora)

Uzyskane wyniki przedstawiano jako % radioaktywności podanej na 1 g narządu lub tkanki (tzw. narządowa radioaktywność właściwa).

Wyniki dla kości przedstawiano w przeliczeniu na masę szpiku.

4.10. Testy *in vitro* określające własności immunosupresyjne stosowanych allosurowic.

4.10a. Ocena poziomu przeciwciał cytotoksycznych zależnych od dopełniacza.

Surowice, badane w teście, pozbawiano termicznie dopełniacza. Następnie w probówkach serologicznych przygotowywano szereg rozcieńczeń badanych surowic (1:1, 1:2, 1:4, ...). Surowice rozcieńczano w PBS. Do każdej próbki dodawano po 2×10^6 limfocytów szczura August w objętości 0,1 ml PBS. Inkubowano przez 45 min. w temperaturze 37°C, a następnie do każdej próby dodawano po 0,4 ml liofilizowanego dopełniacza świnki morskiej (Wytwórnia Surowic i Szczepionek, Lublin) rozcieńczonego 1:2 w PBS i ponownie inkubowano przez 1 h w temperaturze 37°C.

Obecność przeciwciał cytotoksycznych zależnych od dopełniacza określano pod mikroskopem świetlnym na podstawie ilości martwych limfocytów oglądanych w 0,25 % błękiecie trypanu. Procentową zawartość martwych komórek określano w stosunku do 200 ocenianych limfocytów. Za miano przeciwciał cytotoksycznych w surowicy przyjmowano takie jej rozcieńczenie, w którym liczba martwych limfocytów była o 50 % wyższa, niż w rozcieńczeniu poprzednim. W każdym doświadczeniu przeprowadzano kontrolę żywotności limfocytów w środowisku PBS oraz w środowisku PBS z dopełniaczem.

4.10b. Ocena miana aglutynacyjnego.

Surowice, badane w teście, pozbawiano termicznie dopełniacza. Następnie w probówkach serologicznych przygotowywano szereg

rozcieńczeń badanych surowic (1:1, 1:2, 1:4, ...). Surowice rozcieńczano w PBS. Do każdej probówki dodawano po 2×10^6 limfocytów szczura August w objętości 0,1 ml PBS. Inkubowano przez 45 min. w temperaturze 37°C, a następnie do każdej próby dodawano po 0,4 ml liofilizowanego dopełniacza świnki morskiej (Wytwórnia Surowic i Szczepionek, Lublin) rozcieńczonego 1:2 w PBS i ponownie inkubowano przez 1 h w temperaturze 37°C. Występowanie aglutynacji określano pod mikroskopem świetlnym. Za miano aglutynacyjne surowicy przyjmowano ostatnie rozcieńczenie, w którym jeszcze występowała aglutynacja. W każdym doświadczeniu przeprowadzano kontrolę żywotności limfocytów w środowisku PBS oraz w środowisku PBS z dopełniaczem.

4.10c. Ocena in vitro własności immunosupresyjnych stosowanych allosurowic.

W badaniach stosowano cztery pule allosurowic. Przeciętne miano przeciwciał cytotoksycznych zależnych od dopełniacza wynosiło 1:128. Przeciętne miano przeciwciał hemaglutynacyjnych wynosiło 1:256.

4.11. Ocena wpływu allosurowicy Wistar anty-August na leukocytozę szczura szczepu Wistar i szczura szczepu August.

W dniu -10 dwóm szczurom szczepu Wistar i dwóm szczurom szczepu August podano dożylnie po 1 ml allosurowicy, oznaczając leukocytozę przed podaniem oraz w dniach: -9, -7, -1.

W ciągu pierwszej doby, podana szczurowi szczepu August allosurowica Wistar anty-August obniża leukocytozę z $4,5 \times 10^6$

($\pm 5 \times 10^5$) w 1 ml krwi do $7,5 \times 10^5$ ($\pm 2,5 \times 10^5$) w 1 ml krwi. Między dniami -9 i -7 leukocytoza wzrasta do $4,5 \times 10^6$ ($\pm 2 \times 10^6$) w 1 ml krwi, aby w dniu -1 osiągnąć poziom $6,5 \times 10^6$ ($\pm 5 \times 10^5$) w 1 ml krwi. Leukocytoza szczura szczepu Wistar utrzymuje się po podaniu allosurowicy Wistar anty-August zasadniczo na poziomie wyjściowej wartości $3,5 \times 10^6$ ($\pm 5 \times 10^5$) w 1 ml krwi.

4.12. Metody statystyczne.

Z wyników kolejnych pomiarów w grupach doświadczalnych wyliczano medianę. Wyniki uzyskane w poszczególnych grupach doświadczalnych porównywano między sobą, posługując się testem nieparametrycznym Manna - Whitneya.

WYNIKI

1. Grupy 1, 2, 3. Rozmieszczenie znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August w narządach i tkankach szczura szczepu Wistar przed przeszczepieniem serca i/lub skóry szczura szczepu August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar) (Tab. II, III, IV, VII - XVII, Ryc. IV - X).

W obecności przeciwciał allosurowicy (alloprzeciwciał), w pierwszej dobie od podania jej globulin dochodzi do całkowitej eliminacji komórek śledziona szczura szczepu August w takich strukturach układu siateczkowo - śródbłonkowego, jak wątroba i szpik kostny. W dniu -9: wątroba $0,00 \pm 0,00$ (grupa kontrolna $1,26 \pm 1,00$), $p < 0,05$; szpik kości łap tylnych $0,00 \pm 0,00$ (grupa kontrolna $1,20 \pm 1,41$), $p < 0,05$. W dniu -7: wątroba $0,00 \pm 0,00$ (grupa kontrolna $2,23 \pm 0,15$), $p < 0,05$; szpik kości łap tylnych $0,00 \pm 0,00$ (grupa kontrolna $3,60 \pm 0,42$), $p < 0,05$. W dniu -1: wątroba $0,00 \pm 0,00$ (grupa kontrolna $1,90 \pm 0,23$), $p < 0,05$; szpik kości łap tylnych $0,00 \pm 0,00$ (grupa kontrolna $3,04 \pm 0,78$), $p < 0,05$. Natomiast, w dzień po podaniu alloglobulin ilość podanych komórek jest w śledzienie większa, niż w grupie kontrolnej ($40,30 \pm 1,46$; grupa kontrolna $34,31 \pm 4,67$; $p < 0,05$) (Tab. IX, Ryc. VI). W węzłach chłonnych wartość ta utrzymuje się na poziomie bądź poniżej grupy kontrolnej. MLN: w dniu - 9 ($1,25 \pm 1,98$, grupa kontrolna $1,70 \pm 1,01$), w dniu -7 ($0,72 \pm 1,25$, grupa kontrolna $2,80 \pm 1,07$), w dniu -1 ($0,20 \pm 0,35$, grupa kontrolna $2,24 \pm 0,79$, $p < 0,05$) (Tab. XI,

Ryc. VIII). PLN: w dniu -9 ($0,51 \pm 0,44$, grupa kontrolna $2,26 \pm 1,20$, $p < 0,05$), w dniu -7 ($0,57 \pm 0,34$, grupa kontrolna $2,46 \pm 0,66$, $p < 0,05$), w dniu -1 ($0,75 \pm 1,29$, grupa kontrolna $1,50 \pm 0,94$) (Tab. XII, Ryc. IX). Podobnie jak w prawie wszystkich doświadczeniach z grup kontrolnych, nie stwierdza się obecności ^{51}Cr w krwinkach, surowicy, płucach, nerkach oraz skórze grzbietu.

2. Grupy 1, 2, 3. Rozmieszczenie znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August w narządach i tkankach szczura szczepu Wistar przed przeszczepieniem serca i/lub skóry szczura szczepu August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar) (Tab. II, III, IV, VII - XVII, Ryc. XIII - XIX).

Przez co najmniej 3 doby od podania alloglobulin, we frakcji krwinek biorcy utrzymuje się wysoki poziom alloprzeciwciał; w dniu -9 ($0,386 \pm 0,079$, grupa kontrolna $0,266 \pm 0,027$, $p < 0,05$), w dniu -7 ($0,261 \pm 0,052$, grupa kontrolna $0,143 \pm 0,030$, $p < 0,05$), w dniu -1 ($0,074 \pm 0,007$, grupa kontrolna $0,047 \pm 0,023$) (Tab. VII, Ryc. XIII). Po 24 godzinach od podania alloglobulin obserwuje się ponadto wysoki poziom alloprzeciwciał w surowicy, co - w połączeniu z wysokim poziomem alloprzeciwciał we frakcji krwinek - zwiększa radioaktywność ^{125}J w dobrze ukrwionych płucach; krwinki ($0,386 \pm 0,079$, grupa kontrolna $0,266 \pm 0,027$, $p < 0,05$), surowica ($1,319 \pm 0,238$, grupa kontrolna $0,928 \pm 0,102$, $p < 0,05$), płuca ($0,658 \pm 0,130$, grupa kontrolna $0,381 \pm 0,077$, $p < 0,05$).

W wątrobie poziom alloprzeciwciał wzrasta pomiędzy dniami -9 i -7, po czym spada pomiędzy dniami -7 i -1; w dniu -9 ($0,223 \pm 0,050$, grupa kontrolna $0,186 \pm 0,057$), w dniu -7 ($0,221 \pm 0,035$, grupa kontrolna $0,137 \pm 0,016$, $p < 0,05$), w dniu -1 ($0,050 \pm 0,004$, grupa kontrolna $0,057 \pm 0,036$) (Tab. X, Ryc. XV). Śledziona: w dniu -9 ($0,225 \pm 0,025$, grupa kontrolna $0,277 \pm 0,045$), w dniu -7 ($0,141 \pm 0,007$, grupa kontrolna $0,107 \pm 0,005$, $p < 0,05$), w dniu -1 ($0,050 \pm 0,008$, grupa kontrolna $0,038 \pm 0,025$) (Tab. IX, Ryc. XIV). MLN: w dniu -9 ($0,252 \pm 0,050$, grupa kontrolna $0,248 \pm 0,032$), w dniu -7 ($0,172 \pm 0,036$, grupa kontrolna $0,121 \pm 0,025$), w dniu -1 ($0,058 \pm 0,007$, grupa kontrolna $0,049 \pm 0,030$) (Tab. XI, Ryc. XVI). PLN: w dniu -9 ($0,204 \pm 0,032$, grupa kontrolna $0,149 \pm 0,015$, $p < 0,05$), w dniu -7 ($0,128 \pm 0,029$, grupa kontrolna $0,100 \pm 0,015$), w dniu -1 ($0,056 \pm 0,010$, grupa kontrolna $0,052 \pm 0,028$) (Tab. XII, Ryc. XVII).

3. Grupy 4, 5, 6, 7, 8, 9. Rozmieszczenie znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August w narządach i tkankach szczura szczepu Wistar po przeszczepieniu serca i/lub skóry szczura szczepu August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar) (Tab. V - XVII, Ryc. IV - XII).

We wszystkich narządach i tkankach biorcy oraz przeszczepach, nie stwierdza się znamienych statystycznie różnic między grupami 4, 6 i 8 oraz między grupami 5, 7 i 9, a także między kontrolami grup 4, 6 i 8 oraz między kontrolami grup 5, 7 i 9. Pozwala to

na analizę statystyczną powyższych grup i kontroli po ich zestawieniu w grupy [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9], a także kontrole grup [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9].

W obrębie grup [4 + 6 + 8] oraz [5 + 7 + 9], nie stwierdza się także znamienych statystycznie różnic w porównaniu z kontrolami. Podane komórki śledziona szczura szczepu August pojawiają się w wątrobie i szpiku biorcy. W dniu +1: wątroba $1,56 \pm 0,93$ (grupa kontrolna $1,37 \pm 0,77$), szpik kości łap tylnych $1,77 \pm 1,24$ (grupa kontrolna $1,77 \pm 0,88$). W dniu +5: wątroba $1,95 \pm 1,23$ (grupa kontrolna $1,13 \pm 0,95$), szpik kości łap tylnych $1,77 \pm 0,78$ (grupa kontrolna $1,66 \pm 0,92$). Podane komórki pojawiają się również we krwi oraz skórze grzbietu. W dniu +1: krwinki $0,05 \pm 0,07$ (grupa kontrolna $0,02 \pm 0,04$), surowica $0,03 \pm 0,07$ (grupa kontrolna $0,08 \pm 0,25$), skóra grzbietu $0,06 \pm 0,15$ (grupa kontrolna $0,07 \pm 0,22$). W dniu +5: krwinki $0,03 \pm 0,07$ (grupa kontrolna $0,00 \pm 0,01$), surowica $0,02 \pm 0,05$ (grupa kontrolna $0,01 \pm 0,04$), skóra grzbietu $0,02 \pm 0,05$ (grupa kontrolna $0,05 \pm 0,12$). Przeszczep serca: w dniu +1 ($0,04 \pm 0,06$, grupa kontrolna $0,03 \pm 0,05$), w dniu +5 ($0,04 \pm 0,10$, grupa kontrolna $0,00 \pm 0,01$) (Tab. XVI, Ryc. XI). Przeszczep skóry: w dniu +1 ($0,00 \pm 0,01$, grupa kontrolna $0,02 \pm 0,05$), w dniu +5 ($0,04 \pm 0,06$, grupa kontrolna $0,01 \pm 0,02$) (Tab. XVII, Ryc. XII).

4. Grupy 4, 5, 6, 7, 8, 9. Rozmieszczenie znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August w narządach i tkankach szczura szczepu Wistar po przeszczepieniu serca i/lub skóry szczura szczepu August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar) (Tab. V - XVII, Ryc. XIII - XXI).

We wszystkich narządach i tkankach biorcy oraz przeszczepach, nie stwierdza się znamienych statystycznie różnic między grupami 4, 6 i 8 oraz między grupami 5, 7 i 9, a także między kontrolami grup 4, 6 i 8 oraz między kontrolami grup 5, 7 i 9. Pozwala to na analizę statystyczną powyższych grup i kontroli po ich zestawieniu w grupy [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9], a także kontrole grup [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9].

W obrębie grup [4 + 6 + 8] oraz [5 + 7 + 9], nie stwierdza się także znamienych statystycznie różnic w porównaniu z kontrolami. Poziom alloglobulin w różnych tkankach i surowicy szczura szczepu Wistar jest 11 i 15 dni po podaniu alloglobulin oraz 1 i 5 dni po przeszczepieniu serca i/lub skóry wciąż względnie wysoki; surowica: $0,073 \pm 0,059$ w dniu +1, $0,030 \pm 0,024$ w dniu +5 (Tab. VIII, Ryc. XIV); śledziona: $0,204 \pm 0,207$ w dniu +1, $0,065 \pm 0,060$ w dniu +5 (Tab. IX, Ryc. XV); wątroba: $0,052 \pm 0,027$ w dniu +1, $0,045 \pm 0,027$ w dniu +5 (Tab. X, Ryc. XVI); PLN: $0,067 \pm 0,036$ w dniu +1, $0,039 \pm 0,021$ (Tab. XI, Ryc. XVII).

Gromadzenie się alloglobulin w przeszczepach serca i skóry nie jest wyższe, niż we własnych sercach i skórkach. Przeszczep serca: w dniu +1 ($0,016 \pm 0,009$, serce własne $0,012 \pm 0,006$), w dniu +5

(0,010±0,004, serce własne 0,010±0,006). Przeszczep skóry: w dniu +1 (0,037±0,021, skóra grzbietu 0,090±0,038), w dniu +5 (0,018±0,006, skóra grzbietu 0,067±0,039).

5. Grupy 10, 11, 12. Wpływ allosurowicy Wistar anty-August na rozmieszczenie komórek szczura szczepu Wistar (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar) (Tab. XVIII, XIX, XX, Ryc. XXII - XXVIII).

Syngeniczna allosurowica obniża poziom komórek biorcy w narządach układu siateczkowo - śródbłonkowego: śledzionie, wątrobie oraz szpiku. W dniu -9: śledziona 44,80±5,29 (grupa kontrolna 44,87±20,75); wątroba 0,89±0,12 (grupa kontrolna 1,20±0,33); szpik kości łap tylnych 1,98±0,28 (grupa kontrolna 12,29±7,17), $p < 0,05$. W dniu -7: śledziona 32,29±2,92 (grupa kontrolna 63,62±5,75), $p < 0,05$; wątroba 0,88±0,29 (grupa kontrolna 1,74±0,12), $p < 0,05$; szpik kości łap tylnych 2,37±2,15 (grupa kontrolna 5,44±0,64), $p < 0,05$. W dniu -1: śledziona 26,76±2,67 (grupa kontrolna 21,49±17,48); wątroba 0,73±0,15 (grupa kontrolna 1,26±0,25), $p < 0,05$; szpik kości łap tylnych 1,84±0,88 (grupa kontrolna 18,47±10,91), $p < 0,05$. Poziom komórek biorcy zwiększa się we frakcji krwinek, płucach, krezkowych węzłach chłonnych i skórze grzbietu, co stanowi konsekwencję zjawiska zachodzącego w śledzionie, wątrobie oraz szpiku. W dniu -9: krwinki 0,25±0,03 (grupa kontrolna 0,04±0,02), $p < 0,05$; płuca 2,38±0,85 (grupa kontrolna 0,44±0,48), $p < 0,05$; krezkowe węzły chłonne 64,06±4,75 (grupa kontrolna 44,37±13,78); skóra grzbietu 0,12±0,04 (grupa

kontrolna $0,02 \pm 0,01$), $p < 0,05$. W dniu -7: krwinki $0,06 \pm 0,02$ (grupa kontrolna $0,02 \pm 0,00$), $p < 0,05$; płuca $1,00 \pm 0,75$ (grupa kontrolna $0,55 \pm 0,11$); krezkowe węzły chłonne $57,52 \pm 8,21$ (grupa kontrolna $31,94 \pm 3,82$), $p < 0,05$; skóra grzbietu $0,07 \pm 0,04$ (grupa kontrolna $0,01 \pm 0,00$), $p < 0,05$. W dniu -1: krwinki $0,06 \pm 0,02$ (grupa kontrolna $0,00 \pm 0,00$), $p < 0,05$; płuca $0,91 \pm 0,38$ (grupa kontrolna $0,15 \pm 0,23$), $p < 0,05$; krezkowe węzły chłonne $27,41 \pm 4,04$ (grupa kontrolna $9,54 \pm 5,56$), $p < 0,05$; skóra grzbietu $0,10 \pm 0,05$ (grupa kontrolna $0,00 \pm 0,00$), $p < 0,05$.

6. Grupy 13, 14, 15. Rozmieszczenie znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August w narządach i tkankach szczura szczepu August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar) (Tab. XXI, XXII, XXIII, Ryc. XXIX - XXXV).

Nie stwierdza się zwiększonej migracji alloprzeciwciał do któregoś z narządów lub tkanek. W większości narządów bądź tkanek obserwuje się proces eliminacji alloprzeciwciał pomiędzy trzecim a dziewiątym dniem od podania alloglobulin. W dniu -7: krwinki $0,030 \pm 0,003$ (grupa kontrolna $0,036 \pm 0,005$); surowica $0,110 \pm 0,017$ (grupa kontrolna $0,115 \pm 0,013$); płuca $0,045 \pm 0,002$ (grupa kontrolna $0,046 \pm 0,006$); MLN $0,039 \pm 0,008$ (grupa kontrolna $0,039 \pm 0,006$); szpik kości łap tylnych $0,042 \pm 0,007$ (grupa kontrolna $0,035 \pm 0,011$). W dniu -1: krwinki $0,008 \pm 0,004$ (grupa kontrolna $0,020 \pm 0,003$), $p < 0,05$; surowica $0,028 \pm 0,012$ (grupa kontrolna $0,094 \pm 0,018$), $p < 0,05$; płuca $0,015 \pm 0,008$ (grupa kontrolna $0,045 \pm 0,011$), $p < 0,05$; MLN $0,010 \pm 0,004$ (grupa kontrolna

0,042±0,018), $p < 0,05$; szpik kości łap tylnych 0,014±0,007 (grupa kontrolna 0,053±0,014), $p < 0,05$.

DYSKUSJA

Wzmocnieniem immunologicznym nazywamy przedłużenie czasu przeżycia allogenicznego przeszczepu w obecności przeciwciał przeciwko przeszczepowi (128). Próby doświadczalnego przedłużania przeżycia alloprzeszczepów nerki umożliwiły wyodrębnienie różnego rodzaju skutecznych, tzw. biologicznych metod osłabiania reaktywności biorcy na alloantygeny dawcy, m.in. poprzez: podawanie biorcy antygeny dawcy - limfocytów (czynne wzmocnienie immunologiczne), allosurowicy - antysurowicy szczepu biorcy przeszczepu przeciw antygenom transplantacyjnym dawcy (bierne wzmocnienie immunologiczne) lub kombinacji obu tych czynników. Mechanizmy indukcji i podtrzymywania ograniczonej reaktywności immunologicznej wobec alloprzeszczepów narządowych, po podaniu antygeny dawcy, są słabo poznane. W klasycznym protokole wzmocnienia immunologicznego, podanie biorcy alloprzeszczepu narządowego w dniu -11 dawcospecyficznych limfocytów i w dniu -10 allosurowicy biorcy skierowanej przeciw limfocytom dawcy przedłuża czas przeżycia przeszczepu serca powyżej 100 dni (109).

Celem pracy doktorskiej było badanie dystrybucji w narządach i tkankach oraz kinetyki eliminacji antygeny dawcy i allosurowicy u biorcy przeszczepu narządowego przed i po wykonaniu przeszczepu, dla uzyskania informacji, w których narządach limfatycznych może rozwijać się proces regulacji odpowiedzi gospodarza. W związku z tym:

1) Zbadano rozmieszczenie podanych dożylnie splenocytów dawcy oraz podanych dożylnie globulin allosurowicy biorca anty-dawca

w organizmie biorcy przed oraz po przeszczepieniu serca i/lub skóry dawcy. Zamierzano uzyskać informacje, w którym narządzie lub narządach limfatycznych będzie wychwytywany i eliminowany antygen dawcy (podane splenocyty dawcy) oraz w których narządach limfatycznych będą gromadziły się przeciwciała przeciwko tym komórkom, ponadto, czy kompleksy antygen-przeciwciało będą tworzyły się w narządach limfatycznych, a jeśli tak, to w jakich. Gdyby miało to miejsce, wówczas stwierdzalibyśmy w narządach limfatycznych wysokie radioaktywności, zarówno ^{51}Cr związanego z antygenem, jak i ^{125}J związanego z przeciwciałem, które połączyło się z antygenem. Mogłaby też zaistnieć sytuacja, w której poziom ^{51}Cr w narządzie limfatycznym byłby niski z powodu lizy antygeny po połączeniu się z przeciwciałem, natomiast poziom ^{125}J pozostawałby wysoki z powodu jego nadmiaru. Chodziło wreszcie o obserwację, czy przeciwciała przeciwko antygenom dawcy będą gromadziły się w alloprzeszczepie, gdyby bowiem tak było, to mogłyby one odgrywać rolę blokującą rozpoznanie alloantygeny przez komórki biorcy.

2) Zbadano wpływ allosurowicy biorca anty-dawca na rozmieszczenie limfocytów biorcy, po to, aby sprawdzić, czy będzie miało miejsce zjawisko krzyżowej reaktywności przeciwciał przeciw dawcy w stosunku do antygenów splenocytów biorcy. Gdyby bowiem tak było, wówczas allosurowica miałaby efekt dwukierunkowy, przeciw splenocytom dawcy i splenocytom biorcy. Przedłużone przeżycie przeszczepu mogłoby być więc również efektem blokowania limfocytów biorcy.

3) Zbadano rozmieszczenie podanych dożylnie globulin allosurowicy

biorca anty-dawca w organizmie dawcy, co było niezbędne dla określenia in vivo biologicznej aktywności przeciwciał przeciw antygenom dawcy. Oczekiwano początkowego gromadzenia się przeciwciał w narządach limfatycznych, a następnie szybkiego spadku poziomu tych przeciwciał w wyniku cytotoksycznego działania na docelowe komórki dawcy, a więc zużycia się podanych przeciwciał.

Uzyskano następujące dane:

- 1) Wysokie gromadzenie się antygeny (splenocytów) dawcy (August) w śledzionie biorcy (Wistar), zaś niskie w wątrobie, węzłach chłonnych i szpiku kostnym.
- 2) Wysoki poziom przeciwciał przeciw dawcy (Wistar anty-August) we frakcji komórkowej krwi, a także początkowo w surowicy, płucach, śledzionie i węzłach chłonnych biorcy (Wistar)
- 3) Brak gromadzenia się przeciwciał przeciw dawcy (Wistar anty-August) w przeszczepach serca i skóry (August).
- 4) Po przeszczepieniu serca lub skóry występowało zwiększone gromadzenie się antygeny, podanego w dniu -11, w wątrobie i szpiku oraz jednoczesne obniżenie się w surowicy i frakcji komórkowej krwi poziomu podanych w dniu -10 alloglobulin. W śledzionie i wątrobie poziom alloglobulin w dniach +1 i +5 utrzymał się na niezmiennym poziomie.
- 5) Surowica przeciw dawcy (Wistar anty-August) nie wykazywała in vivo krzyżowego działania cytotoksycznego w stosunku do splenocytów biorcy (Wistar), ale ograniczała "homing" podanych splenocytów biorcy (Wistar) w śledzionie, wątrobie i szpiku i utrzymywała ich wysoki poziom w krwi, płucach i węzłach

chłonnych.

6) Przeciwciała przeciw dawcy (Wistar anti-August) gromadziły się w narządach limfatycznych dawcy (August). W pierwszym okresie po podaniu, ich poziom był wysoki, a następnie szybko się obniżał.

Na podstawie uzyskanych danych można wnioskować, iż w opisanym modelu doświadczalnym miała miejsce szybka, początkowa eliminacja antygeny dawcy w wątrobie, węzłach chłonnych i szpiku kostnym biorcy, a być może również tworzenie się kompleksów antygen-przeciwciała w śledzionie biorcy. Zapoczątkowanie w śledzionie, w następstwie podania antygeny, procesu wytwarzania przeciwciał przeciw dawcy pozwalało, aby stała się ona miejscem permanentnego tworzenia kompleksów z antygenem dawcy i eliminacji tych kompleksów jeszcze zanim został dokonany przeszczep narządowy. Wytwarzanie przeciwciał przeciw dawcy zwiększało się w ciągu kilku dni od chwili podania antygeny, ale ich poziom był zapewne niski. W tym okresie kluczową rolę odgrywały więc krążące we krwi i obecne w narządach limfatycznych przeciwciała z podanej dożylnie allosurowicy, które łączyły się ze "złuszczonym" z właśnie dokonanego przeszczepu antygenem dawcy. Tak zapoczątkowany zostawał proces stałej eliminacji antygeny dawcy. Tworzenie kompleksów rozpoczynało się zapewne już w surowicy krwi przepływającej przez przeszczep, ale proces wychwytywania kompleksów miał miejsce w śledzionie, a eliminacji w wątrobie. Przeszczep serca i/lub skóry dawcy powodował u biorcy, któremu podano limfocyty dawcy w dniu -11 i w dniu -10 globuliny przeciw tym limfocytom, mobilizację limfocytów dawcy i ich gromadzenie się w wątrobie oraz obniżenie poziomu krążących alloprzeciwciał.

Mechanizm mobilizacji limfocytów dawcy nie jest jasny, ale wydaje się, iż mógł być spowodowany urazem operacyjnym, który zawsze prowadzi do redystrybucji krążących leukocytów. Natomiast nagły spadek poziomu alloprzeciwciał w surowicy był zapewne następstwem ich absorpcji przez przeszczep. Obserwowany w tym czasie brak spadku poziomu alloprzeciwciał w śledzionie i wątrobie można tłumaczyć gromadzeniem się w tych narządach kompleksów alloprzeciwciała - komórki "pasażerowe", wypływające z przeszczepu. Całkowicie oryginalne okazały się obserwacje zwiększenia, w wyniku podania allosurowicy przeciw antygenom dawcy, poziomu krążących limfocytów biorcy w krwi i węzłach chłonnych oraz równoczesnego zmniejszenia gromadzenia się tych limfocytów w śledzionie, szpiku i wątrobie. Był to pewnie dodatkowy mechanizm ograniczający aktywność odpowiedzi biorcy alloprzeszczepu, mogący wynikać z blokujących właściwości zmiennej części przeciwciała, specyficznej dla dawcy, ale "obcej" dla biorcy.

W grupach 1, 2, 3, w obecności alloprzeciwciał, podczas pierwszej doby od podania globulin allosurowicy, dochodziło do całkowitej eliminacji splenocytów dawcy w wątrobie i szpiku kostnym biorcy. Proces niszczenia musiał być bardzo szybki, gdyż w surowicy i nerkach nie stwierdzano podwyższenia poziomu ^{51}Cr pochodzącego z rozpadających się komórek. Znaczna część splenocytów ulegała zatrzymaniu w śledzionie. W dzień po podaniu alloglobulin ilość komórek dawcy była w śledzionie nawet większa, niż w grupie kontrolnej, co może świadczyć o powstawaniu tam kompleksów antygen-przeciwciała. Stopniowo, być może w

następstwie eliminacji kompleksów, poziom podanych komórek ulegał spadkowi.

W układzie allogenicznym, część przeszczepionych dożylnie komórek limfoidalnych jest eliminowana w ciągu kilku godzin, w procesie tzw. allogenicznej cytotoksyczności limfocytarnej. Tym też można tłumaczyć niskie wartości radioaktywności splenocytów w grupie kontrolnej. Dawcospecyficzne przetoczenie (DST) również prowadzi do szybkiego niszczenia przeszczepionych dożylnie allogenicznych limfocytów (61). U szczura poddanego procedurze dawcospecyficznego przetoczenia krwi, komórki, wyrażające antygeny MHC klasy I dawcy, gromadzą się głównie w miazdze białej śledziony oraz węzłach chłonnych 12 i 24 h po przetoczeniu, podczas gdy bardzo mało komórek spostrzega się w grasicy, wątrobie, płucach i nerkach. Ilość komórek zaczyna zmniejszać się w miazdze białej śledziony oraz węzłach chłonnych 24 h po przetoczeniu. Może to wskazywać na niszczenie komórek dawcy przez komórki biorcy. W ciągu 48 h od przetoczenia, większość komórek znika z tkanek biorcy (179). Mechanizm zmian po DST w śledzionie biorcy jest złożony. Splenocyty wykazują znaczną, niespecyficzną aktywność supresyjną w hodowli ze stymulowanymi PHA, normalnymi splenocytami syngenicznymi, w przeciwieństwie do limfocytów krwi, które nie wykazują niespecyficznej aktywności supresyjnej. Udział procentowy komórek cytotoksycznych wśród komórek krwi obwodowej spada, a wśród komórek śledziony wzrasta (162). Stwierdza się obecność limfocytów T_8 w śledzionie (110), do generacji dawcospecyficznych komórek supresorowych dochodzi nie tylko w niej (118), ale również w węzłach chłonnych (117). Śledzionowe

limfocyty T_s działają supresyjnie zarówno na dośrodkową, jak i na odśrodkową fazę reakcji późnej nadwrażliwości na allogeniczne antygeny zgodności tkankowej (76). Obniżeniu ulega odpowiedź proliferacyjna limfocytów węzłów chłonnych na dawcospecyficzne w obrębie MHC komórki stymulujące (119). Indukowane przez DST śledzionowe limfocyty T_s odgrywają rolę w podtrzymywaniu długotrwałej tolerancji alloprzeszczepu serca (102). Reakcja cytolityczna zależna od limfocytów jest po kilku dniach od DST większa w limfocytach krwi obwodowej, po kolejnych kilku dniach zaś mniejsza w splenocytach (164). Opisane procesy, rozwijające się w śledzionie, są zapewne następstwem reakcji splenocytów na antygen dawcy.

Poziom alloprzeciwciał we krwi był w opisanych doświadczeniach początkowo wysoki. Znaczna część alloprzeciwciał wiązała się z leukocytami krwi. Tłumaczyłoby to osłabienie efektu wzmocnienia immunologicznego przy zastąpieniu przeciwciał fragmentami $F(ab)_2$ (12, 169). Leukocyty krwi, z zaabsorbowanymi alloprzeciwciałami, oraz surowica krwi stanowiły źródło alloprzeciwciał, dzięki któremu ilość ich mogła wzrosnąć w wątrobie pomiędzy dniami -9 i -7. Późniejszy, znaczny spadek poziomu alloprzeciwciał w wątrobie można tłumaczyć jedynie eliminacją kompleksów immunologicznych, utworzonych przez alloprzeciwciała oraz migrujące ze śledziony do wątroby komórki dawcy. Najprawdopodobniej rozpoczynał się w wątrobie proces ciągłej eliminacji antygeny dawcy (miejsce zachodzenia tej reakcji wskazywałoby na fagocytarny charakter zjawiska, tym bardziej że u szczura rola układu dopełniacza w usuwaniu kompleksów

immunologicznych jest względnie niewielka). Złożone z w/w struktur kompleksy immunologiczne mogą powstawać również w śledzionie. Byłyby one wtedy transportowane naczyniami układu wrotnego do wątroby, tam zaś degradowane wraz z kompleksami powstającymi na miejscu. Kompleksy immunologiczne mogłyby się zresztą tworzyć także w innych narządach limfatycznych, bowiem po splenektomii proces wzmocnienia immunologicznego, aczkolwiek osłabiony, stwierdzany jest jednak nadal. Podanie alloglobulin stwarza sytuację istnienia w surowicy nadmiaru przeciwciał przeciwko dawcy, w narządach zaś również nadmiaru przeciwciał związanych z antygenami dawcy. Nadmiar ten jest istotny w okresie po przeszczepieniu narządu, dopóki w śledzionie i szpiku nie zaczną być wytwarzane takie same przeciwciała w odpowiedzi na antygeny dawcy. Wskutek podania antygenów dawcy, które rozmieszczają się w narządach limfatycznych biorcy, reakcja gospodarza przeciw przeszczepowi rozwija się głównie w narządach limfatycznych. Kiedy przeszczepiony zostaje narząd dawcy, w śledzionie, węzłach chłonnych i szpiku "złuszczone" antygeny są natychmiast usuwane po połączeniu z przeciwciałami. Długotrwałe przestrojenie układu odpornościowego biorcy w kierunku eliminacji alloantygenów krążących we krwi, najpierw w postaci podanych komórek, później zaś w postaci "złuszczonych" antygenów przeszczepu narządowego i "złuszczonych" komórek przeszczepu narządowego, chroni zapewne ów przeszczep przed odrzuceniem. Proces ów wyjaśniałby też, na czym polega synergizm antygeny dawcy i allosurowicy stosowanych w celu wywołania wzmocnienia immunologicznego (150). Dawałby również jedną z odpowiedzi na

pytanie, dlaczego generowane in vitro komórki cytotoksyczne lub przeciwciała nie uszkadzają trwale przeżywającego, w procesie wzmocnienia immunologicznego, przeszczepu (146). Podanie komórek dawcy, równocześnie z wykonaniem przeszczepienia wątroby, nasila chimeryzm indukowany przez przeszczep tego narządu (24). U biorców poddanych procedurze DST, alloprzeciwciała, których poziom w surowicy biorcy skądinąd podnosi się, mogą albo "osłaniać" alloantygeny na komórkach śródbłonkowych unaczynionego przeszczepu narządowego, albo też wiązać alloantygeny na izolowanych, przeszczepionych komórkach i ułatwiać ich eliminację w narządach limfatycznych. Skutki kliniczne są w obu sytuacjach odmienne - albo przedłużone przeżycie alloprzeszczepu narządowego, albo szybka eliminacja alloprzeszczepu w postaci izolowanych komórek (60).

DST indukuje pojawianie się niespecyficznego, niecytotoksycznego przeciwciała, które mogą brać udział w procesie zależnej od komórek supresji alloreaktywności (51). Indukowane przez DST alloprzeciwciała mogą chronić późniejszy, dawcospecyficzny przeszczep nerki (1). DST indukuje produkcję cytotoksycznych alloprzeciwciała, po czym dochodzi do wzrostu produkcji przeciwciała antyidiotypowych, co powoduje spadek ilości alloprzeciwciała krążących, a wykonany w okresie tego spadku alloprzeszczep nerki nie zostaje odrzucony (28). DST zmniejsza produkcję IgM i IgG w śledzionie oraz ich odkładanie się w przeszczepie nerki, może to być jeden z istotnych elementów mechanizmu wzmocnienia immunologicznego po DST (4). Poziom alloprzeciwciała IgG i IgM obniża się w surowicy oraz

alloprzeszczepie, obniżeniu ulega także produkcja tych alloprzeciwciał przez hodowane splenocyty (165). Zdolność DST do przedłużenia czasu przeżycia alloprzeszczepu nerki koreluje z obniżeniem produkcji wszystkich podklas alloprzeciwciał IgG, w odpowiedzi na antygen klasy I dawcy, przez mechanizm związany z MHC gospodarza (163). Aktywność receptorów dla fragmentu Fc blokowana jest przez alloprzeciwciała IgG skierowane przeciwko antygenom klasy II MHC dawcy (93).

W grupach 4, 5, 6, 7, 8, 9 poziom alloglobulin w różnych tkankach i surowicy był 11 i 15 dni po podaniu alloglobulin oraz 1 i 5 dni po przeszczepieniu serca i/lub skóry wciąż względnie wysoki. Alloglobuliny odłączały się z upływem czasu od leukocytów krwi, co tłumaczyłoby utrzymywanie się względnie dużego poziomu alloglobulin w surowicy. Mogłyby one blokować antygeny dawcy i wiązać w surowicy złuszczone antygeny.

Gromadzenie się alloglobulin w przeszczepach serca i skóry nie było wyższe, niż we własnych sercach i skórkach, co może być interpretowane jako brak powinowactwa alloprzeciwciał do antygenów alloprzeszczepu. Są jednak pewne zastrzeżenia do tego typu interpretacji. Ilość specyficznych przeciwciał, potrzebna do zablokowania antygenów MHC przeszczepu, może być bardzo niewielka. Ponadto, alloprzeciwciało może natychmiast "złuszczać się" jako składowa kompleksu immunologicznego, po połączeniu się z antygenem przeszczepu. Tym niemniej, niestwierdzenie gromadzenia się w przeszczepach przeciwciał biorcy, skierowanych przeciw antygenom dawcy, podważa hipotezę blokowania cząsteczek MHC przeszczepu jako wyjaśnienie mechanizmu przedłużania czasu

przeżycia alloprzeszczepu.

Syngeniczna allosurowica obniżała poziom komórek biorcy w śledzionie, wątrobie oraz szpiku. Zmniejszało to kontakt komórek biorcy z podanymi komórkami dawcy, tym samym zaś ograniczało ich rozpoznawanie jako alloantygeny. Może to stanowić jedną z przyczyn zespołu zjawisk charakteryzujących ograniczoną reaktywność immunologiczną (zahamowanie produkcji przeciwciał IgM oraz limfocytów cytotoksycznych przy zachowanej reaktywności biorcy wobec antygenów dawcy w testach limfocytów *in vitro*: MLR, GvH) (6, 50, 99, 100).

W grupach 13, 14, 15 stwierdzono proces eliminacji alloprzeciwciał pomiędzy trzecim a dziewiątym dniem od podania alloglobulin. Zapewne następowało to wskutek lizy komórek limfoidalnych, do których przyłączało się przeciwciało.

Podczas analizy wyników we wszystkich grupach doświadczalnych, należy pamiętać o tym, że różnica w stężeniu alloprzeciwciał, między allosurowicą a surowicą z grupy kontrolnej, była niewielka, ponieważ ilość specyficznych przeciwciał zawiera się zwykle w przedziale 0,5 - 1 % ogółu przeciwciał, a globuliny były wyznakowane w całości, zarówno te specyficzne, jak i niespecyficzne. Poza tym, nawet gdy w reakcji antygen-przeciwciało bierze udział znikoma część przeciwciał, efekt biologiczny jest już w pełni wyrażony.

Przedstawione obserwacje upoważniają do zaproponowania koncepcji "ciągłej eliminacji alloantygeny" (CEA) (Ryc XXXVI). CEA byłaby odpowiedzialna za przedłużenie przeżycia alloprzeszczepu narządowego poprzez eliminację w narządach

limfatycznych i wątrobie gospodarza "złuszczonego" z przeszczepionego narządu antygeny, zarówno rozpuszczonego lub zawieszonego w osoczu, jak też związanego z krążącymi limfocytami biorcy. Mechanizm CEA wyglądałby następująco. Podane dożylnie w dniu -11 splenocyty (antygen dawcy, AD) rozmieszczają się w narządach limfatycznych biorcy, w tym w śledzionie i węzłach chłonnych. Są one częściowo eliminowane w procesie ALC, część ich pozostaje i wiąże przeciwciała skierowane przeciw nim, podane biorcy w dniu -10. Powstają kompleksy AD + alloprzeciwciała, które po dodatkowym połączeniu się z naturalnymi przeciwciałami opsonizującymi eliminowane są w wątrobie i, być może, w śledzionie. Jednocześnie, w narządach limfatycznych rozpoczyna się synteza przeciwciał przeciw AD. W krążeniu znajdują się przeciwciała przeciw AD pochodzące z dwóch źródeł: podane dożylnie i własne, wytworzone u biorcy.

Proces reakcji gospodarza przeciw dawcy, zapoczątkowany przez podanie antygeny komórkowej, rozwija się, przy zastosowaniu omówionego w pracy doktorskiej schematu doświadczeń, w narządach limfatycznych, a nie w przeszczepie, jak to ma miejsce po przeszczepieniu całego narządu. To umiejscowienie reakcji na antygeny transplantacyjne dawcy oraz jej kinetyka mają charakter naturalny, są wykształcone ewolucyjnie w stosunku do bakterii, wirusów i.t.p., wnikających do ustroju i natychmiast przenoszonych do tkanki limfatycznej. W odróżnieniu od tego procesu, przy przeszczepieniu całego narządu - co jest zjawiskiem niespotykanym w naturze, nie podlegającym procesom ewolucyjnym - reakcja rozpoczyna się pierwotnie w samym przeszczepie, a dopiero

wtórnie w narządach limfatycznych. Od pierwszej chwili po przeszczepieniu, alloprzeszczep narządowy atakowany jest przez komórki gospodarza dopływające do przeszczepu z prądem krwi, na początku przez granulocyty i makrofagi, następnie przez limfocyty i ich produkty biologiczne.

Tak więc, przy zastosowaniu omówionego w pracy doktorskiej schematu doświadczeń, narząd przeszczepiony w dniu 0, po uprzednim podaniu AD (dzień -11) i przeciwciał przeciw AD (dzień -10), znajduje się w sytuacji, w której w ustroju biorcy jest już w pełni rozwinięty proces eliminacji AD w narządach limfatycznych. Krążące przeciwciała anty-AD wiążą "złuszczony" antygen i opuszczające przeszczep komórki "pasażerowe", powstałe kompleksy transportowane są do narządów limfatycznych oraz wątroby, w których to narządach po opsonizacji kompleksy ulegają eliminacji. Nie oznacza to, iż limfocyty biorcy nie atakują komórek przeszczepu. Taki proces ma miejsce, ale dotyczy bardzo ograniczonej ilości limfocytów biorcy. Być może, część przeciwciał blokuje powierzchniowe AD na komórkach śródbłonkowych przeszczepu, ale jest to zapewne zjawisko o natężeniu niewystarczającym do zapobieżenia atakowi komórek biorcy.

Dodatkowym dowodem na aktywną eliminację AD, przy przeżywającym alloprzeszczepie serca, jest to, że jego biorca eliminuje w ciągu 6 godzin podane dożylnie limfocyty od tego samego dawcy (111).

Przedstawiona koncepcja nie obejmuje ewentualnej roli komórek supresorowych biorcy oraz przeciwciał antyidiotypowych. Komórki dawcy, wykazujące właściwości supresorowe in vitro, mogą

uczestniczyć w procesie eliminacji AD. Pośrednim dowodem na to jest fakt, iż komórki dawcy wykazują właściwości supresorowe w następstwie kontaktu z AD. Przeciwciała antyidiotypowe, będące "kopią" antygeny w swej specyficznej części, mogą intensyfikować proces eliminacji, wiążąc się z alloprzeciwciałami i tworząc kompleksy.

STRESZCZENIE

Wzmocnieniem immunologicznym nazywamy przedłużenie czasu przeżycia allogenicznego przeszczepu w obecności przeciwciał przeciwko przeszczepowi. Próby doświadczalnego przedłużania przeżycia alloprzeszczepów nerki umożliwiły wyodrębnienie różnego rodzaju skutecznych, tzw. biologicznych metod osłabiania reaktywności biorcy na alloantygeny dawcy, m.in. poprzez: podawanie biorcy antygeny dawcy - limfocytów (czynne wzmocnienie immunologiczne), allosurowicy - antysurowicy szczepu biorcy przeszczepu przeciw antygenom transplantacyjnym dawcy (bierne wzmocnienie immunologiczne) lub kombinacji obu tych czynników. Mechanizmy indukcji i podtrzymywania ograniczonej reaktywności immunologicznej wobec alloprzeszczepów narządowych, po podaniu antygeny dawcy, są słabo poznane. W klasycznym protokole wzmocnienia immunologicznego, podanie biorcy alloprzeszczepu narządowego w dniu -11 dawcospecyficznych limfocytów i w dniu -10 allosurowicy biorcy skierowanej przeciw limfocytom dawcy przedłuża czas przeżycia przeszczepu serca powyżej 100 dni.

Celem pracy doktorskiej było badanie dystrybucji w narządach i tkankach oraz kinetyki eliminacji antygeny dawcy i allosurowicy u biorcy przeszczepu narządowego przed i po wykonaniu przeszczepu, dla uzyskania informacji, w których narządach limfatycznych może rozwijać się proces regulacji odpowiedzi gospodarza. Chodziło głównie o uzyskanie odpowiedzi na pytania: 1) jakie jest rozmieszczenie podanych alloprzeciwciał (przeciwciał gospodarza przeciw antygenom limfocytów dawcy) w

- narządach limfatycznych biorcy i jak długo tam pozostają,
- 2) jakie jest rozmieszczenie podanego alloantygeny (dawcy), w postaci allogenicznych limfocytów, w narządach limfatycznych biorcy,
 - 3) jak przebiega proces eliminacji podanego alloantygeny u biorcy, który otrzymał alloprzeciwciała przeciw temu alloantygenowi i gdzie gromadzą się ewentualne kompleksy antygen-przeciwciała,
 - 4) czy podane alloprzeciwciała gromadzą się w alloprzeszczepie serca i skóry.

W badanym modelu wzmocnienia immunologicznego, antygen komórkowy stanowiły komórki śledziony szczura szczepu August znakowane izotopem chromu ($\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$), podawane dożylnie, w stężeniu $1,5 \times 10^7$ komórek w 1 ml płynu Hanksa, szczurowi szczepu Wistar. Z allosurowicy Wistar anty-August izolowano globuliny i znakowane ^{125}J podawano dożylnie, w stężeniu 30 mg (średnia masa globulin zawartych w 1 ml surowicy) w 1 ml płynu Hanksa, szczurowi szczepu Wistar. Serce i/lub skórę szczura szczepu August przeszczepiano szczurowi szczepu Wistar. Po upływie określonego czasu (9 dni przed przeszczepieniem, 7 dni przed przeszczepieniem, 1 dzień przed przeszczepieniem, 1 dzień po przeszczepieniu, 5 dni po przeszczepieniu), biorców skrwawiano z żyły głównej tylnej i do oddzielnych probówek pobierano: elementy morfotyczne krwi (w dalszej części pracy określane jako krwinki), surowicę, płuca, nerki, śledzionę, wątrobę, krezkowe węzły chłonne, obwodowe węzły chłonne (szyjne i piersiowe), kości łap tylnych, skórę grzbietu (fragment), przeszczep serca,

przeszczep skóry. Narządy oraz tkanki ważono i mierzono ich radioaktywność w liczniku promieniowania BECKMAN Gamma 4000. Uzyskane wyniki przedstawiano jako % radioaktywności podanej na 1 g narządu lub tkanki (tzw. narządowa radioaktywność właściwa). Wyniki dla kości przedstawiano w przeliczeniu na masę szpiku.

W celu zbadania wpływu allosurowicy na migrację komórek biorcy, podawano dożylnie, 10 dni przed terminem przeszczepienia, znakowane ^{51}Cr komórki śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August szczurowi szczepu Wistar. Biorców skrwawiano z żyły głównej tylnej 9 dni przed terminem przeszczepienia, 7 dni przed terminem przeszczepienia i 1 dzień przed terminem przeszczepienia.

W celu zbadania, z komórkami jakich narządów dawcy łączą się przeciwciała allosurowicy, podawano dożylnie, 10 dni przed terminem przeszczepienia, znakowane ^{125}J globuliny allosurowicy Wistar anty-August szczurowi szczepu August. Biorców skrwawiano z żyły głównej tylnej 9 dni przed terminem przeszczepienia, 7 dni przed terminem przeszczepienia i 1 dzień przed terminem przeszczepienia.

Wszystkie doświadczenia wykonano w 3 - 6 powtórzeniach, w obecności kontroli, którą stanowiło zastąpienie globulin allosurowicy Wistar anty-August przez globuliny surowicy szczepu Wistar.

Uzyskano następujące dane:

1) Wysokie gromadzenie się antygenu (splenocytów) dawcy (August) w śledzionie biorcy (Wistar), zaś niskie w wątrobie, węzłach chłonnych i szpiku kostnym.

- 2) Wysoki poziom przeciwciał przeciw dawcy (Wistar anty-August) we frakcji komórkowej krwi, a także początkowo w surowicy, płucach, śledzionie i węzłach chłonnych biorcy (Wistar)
 - 3) Brak gromadzenia się przeciwciał przeciw dawcy (Wistar anty-August) w przeszczepach serca i skóry (August).
 - 4) Po przeszczepieniu serca lub skóry nastąpiło zwiększone gromadzenie się antygenu, podanego w dniu -11, w wątrobie i szpiku oraz jednoczesne obniżenie się w surowicy i frakcji komórkowej krwi poziomu podanych w dniu -10 alloglobulin. W śledzionie i wątrobie poziom alloglobulin w dniach +1 i +5 utrzymał się na niezmiennym poziomie.
 - 5) Surowica przeciw dawcy (Wistar anty-August) nie wykazywała *in vivo* krzyżowego działania cytotoksycznego w stosunku do splenocytów biorcy (Wistar), ale ograniczała "homing" podanych splenocytów biorcy (Wistar) w śledzionie, wątrobie i szpiku i utrzymywała ich wysoki poziom w krwi, płucach i węzłach chłonnych.
 - 6) Przeciwciała przeciw dawcy (Wistar anty-August) gromadziły się w narządach limfatycznych dawcy (August). W pierwszym okresie po podaniu, ich poziom był wysoki, a następnie szybko się obniżał.
- Przedstawione obserwacje upoważniają do zaproponowania koncepcji "ciągłej eliminacji alloantygeny" (CEA). CEA byłaby odpowiedzialna za przedłużenie przeżycia alloprzeszczepu narządowego poprzez eliminację w narządach limfatycznych i wątrobie gospodarza, "złuszczonego" z przeszczepionego narządu antygenu, zarówno rozpuszczonego lub zawieszzonego w osoczu, jak też związanego z krążącymi limfocytami biorcy. Mechanizm CEA

wyglądałby następująco. Podane dożylnie, w dniu -11, splenocyty (antygen dawcy, AD) rozmieszczają się w narządach limfatycznych biorcy, w tym w śledzionie i węzłach chłonnych. Są one częściowo eliminowane w procesie ALC, część ich pozostaje i wiąże przeciwciała skierowane przeciw nim, podane biorcy w dniu -10. Powstają kompleksy AD + alloprzeciwciała, które po dodatkowym połączeniu się z naturalnymi przeciwciałami opsonizującymi eliminowane są w wątrobie i, być może, w śledzionie. Jednocześnie, w narządach limfatycznych rozpoczyna się synteza przeciwciał przeciw AD. W krążeniu znajdują się przeciwciała przeciw AD, pochodzące z dwóch źródeł: podane dożylnie i własne, wytworzone u biorcy.

Proces reakcji gospodarza przeciw dawcy, zapoczątkowany przez podanie antygeny komórkowego, rozwija się, przy zastosowaniu omówionego w pracy doktorskiej schematu doświadczeń, w narządach limfatycznych, a nie w przeszczepie, jak to ma miejsce po przeszczepieniu całego narządu. To umiejscowienie reakcji na antygeny transplantacyjne dawcy oraz jej kinetyka mają charakter naturalny, są wykształcone ewolucyjnie w stosunku do bakterii, wirusów i.t.p., wnikających do ustroju i natychmiast przenoszonych do tkanki limfatycznej. W odróżnieniu od tego procesu, przy przeszczepieniu całego narządu - co jest zjawiskiem niespotykanym w naturze, nie podlegającym procesom ewolucyjnym - reakcja rozpoczyna się pierwotnie w samym przeszczepie, a dopiero wtórnie w narządach limfatycznych. Od pierwszej chwili po przeszczepieniu, alloprzeszczep narządowy atakowany jest przez komórki gospodarza, dopływające do przeszczepu z prądem krwi, na

początku przez granulocyty i makrofagi, następnie przez limfocyty i ich produkty biologiczne.

Tak więc, przy zastosowaniu omówionego w pracy doktorskiej schematu doświadczeń, narząd przeszczepiony w dniu 0, po uprzednim podaniu AD (dzień -11) i przeciwciał przeciw AD (dzień -10), znajduje się w sytuacji, w której w ustroju biorcy jest już w pełni rozwinięty proces eliminacji AD w narządach limfatycznych. Krążące przeciwciała anty-AD wiążą "złuszczony" antygen i opuszczające przeszczep komórki "pasażerowe", powstałe kompleksy transportowane są do narządów limfatycznych oraz wątroby, w których to narządach, po opsonizacji, kompleksy ulegają eliminacji. Nie oznacza to, iż limfocyty biorcy nie atakują komórek przeszczepu. Taki proces ma miejsce, ale dotyczy bardzo ograniczonej ilości limfocytów biorcy. Być może, część przeciwciał blokuje powierzchniowe AD na komórkach śródbłonkowych przeszczepu, ale jest to zapewne zjawisko o natężeniu niewystarczającym do zapobieżenia atakowi komórek biorcy.

Dodatkowym dowodem na aktywną eliminację AD, przy przeżywającym alloprzeszczepie serca, jest to, że jego biorca eliminuje, w ciągu 6 godzin, podane dożylnie limfocyty od tego samego dawcy.

Przedstawiona koncepcja nie obejmuje ewentualnej roli komórek supresorowych biorcy oraz przeciwciał antyidiotypowych. Komórki dawcy, wykazujące właściwości supresorowe in vitro, mogą uczestniczyć w procesie eliminacji AD. Pośrednim dowodem na to jest fakt, iż komórki dawcy wykazują właściwości supresorowe w następstwie kontaktu z AD. Przeciwciała antyidiotypowe, będące

"kopia" antygeny w swej specyficznej części, mogą intensyfikować proces eliminacji, wiążąc się z alloprzeciwciałami i tworząc kompleksy.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Podany antygen dawcy (splenocyty szczura szczepu August) gromadził się w znacznej ilości w śledzionie biorcy (szczur szczepu Wistar), w niewielkim zaś stopniu w wątrobie, węzłach chłonnych i szpiku kostnym.

W pierwszych dniach po podaniu allosurowicy, wysoki poziom przeciwciał przeciw dawcy (Wistar anty-August) utrzymywał się we frakcji komórkowej krwi, surowicy, śledzionie i węzłach chłonnych biorcy.

Podane alloprzeciwciała nie gromadziły się w alloprzeszczepie serca i skóry, co podważa hipotezę blokowania cząsteczek MHC przeszczepu jako wyjaśnienie mechanizmu przedłużania czasu przeżycia alloprzeszczepu w omówionym w pracy doktorskiej modelu doświadczalnym.

Za przedłużenie czasu przeżycia alloprzeszczepu narządowego odpowiada najprawdopodobniej zjawisko "ciągłej eliminacji antygeny" (CEA), polegające na eliminacji w narządach limfatycznych i wątrobie gospodarza, "złuszczonego" z przeszczepionego narządu antygeny, zarówno występującego

oddzielnie, jak też związanego z krążącymi limfocytami biorcy.

PIŚMIENNICTWO

1. al Muzairai, Innes A, Hillis A, Stewart KN, Bone JM, Catto GR, Macleod AM. Renal transplantation: cyclosporin A and antibody development after donor-specific transfusion. *Kidney Int.* 1989, 35, 1057.
2. Armstrong HE, Bolton EM, Mc Millan I, Bradley JA. Prolonged survival of actively enhanced rat renal allografts despite accelerated cellular infiltration and rapid induction of both class I and II MHC antigens. *J. Exp. Med.* 1987, 164, 891.
3. Baldwin WM III, Null WL, Notix-McConarty J, Tilney NL. Enhancement of allograft survival by combined active and passive immunization. *Transplantation* 1978, 25, 121.
4. Baldwin WM III, Rhoton K, Sanfilippo F. IgM and IgG alloantibody production by splenocytes and deposition in rat renal allografts are decreased by donor-specific blood transfusion. *Transplantation* 1991, 51, 481.
5. Batchelor JR, Welsh KJ, Burgos H. Immunologic enhancement. *Transpl. Proc.* 1977, 9, 931.
6. Batchelor JR. Immune mechanisms responsible for the prolonged kidney allograft survival in immunologic enhancement. *Transpl. Proc.* 1981, 13, 562.
7. Batchelor JR, Phillips, Grennan D. Suppressor cells and their role in the survival of immunologically enhanced rat kidney allografts. *Transplantation* 1984, 37, 43.
8. Bektas H, Jorns A, Klempnauer J. Differential effect of donor-specific blood transfusions after kidney, heart,

- pancreas, and skin transplantation in major histocompatibility complex-incompatible rats. *Transfusion* 1997, 37, 226.
9. Bradley J, Mason DW, Morris PJ. Evidence that rat renal allografts are rejected by cytotoxic T cells and not by nonspecific effectors. *Transplantation* 1985, 39, 169.
 10. Brent L, Opara SC. Synergy between antigen, ALS and procarbazine hydrochloride in murine skin allotransplantation. *Transpl. Proc.* 1979, 11, 1019.
 11. Burlingham WJ, Sparks-Mackety EMF, Wendel T. Beneficial effect of pretransplant donor-specific transfusions: Evidence for an idiotype network mechanism. *Transpl. Proc.* 1985, 17, 2376.
 12. Capel PJA, Tamboer WPM. Passive enhancement of mouse skin allografts by alloantibodies is Fc dependent. *J. Immunol.* 1979, 122, 56.
 13. Carpenter CB, d'Apice AJF, Abbas AK. The role of antibody in the rejection and enhancement of organ allografts. *Adv. Immunol.* 1976, 22, 1.
 14. Chen RH, Bushell A, Fuggle SV, Wood KJ, Morris PJ. Expression of granzyme A and perforin in mouse heart transplants immunosuppressed with donor-specific transfusion and anti-CD4 monoclonal antibody. *Transplantation* 1996, 61, 625.
 15. Chow KN, Battisto JR. Prevention of cytotoxic T lymphocyte generation by an induced suppressor T cell that cooperates with I-A macrophages. In: Battisto JR, Plate J, Shearer G,

- eds. Cytotoxic cells: biology and relevance to disease. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1988, 532, 419.
16. Coffman TM, Yarger WE, Klotman PE. Functional role of thromboxane production by acutely rejecting renal allografts in rats. J. Clin. Invest. 1985, 75, 1242.
 17. Coffman TM, Sanfilippo FP, Klotman PE. Renal allograft function, arachnoid acid metabolism and systemic cellular immunity after kidney transplantation in the rat. Transpl. Proc. 1987, 19, 3116.
 18. Corvese JS, Levy EM, Bennett M, Cooperband SR. Inhibition of an in vitro antibody response by suppressor cell in natural bone marrow. Cellular Immunol. 1980, 49, 293.
 19. Cranston D, Wood KJ, Carter NP, Morris PJ. Suppression of allograft rejection in the rat by pretreatment with cells of the T_h but not $T_{c/s}$ phenotype. Transpl. Proc. 1987, 19, 505.
 20. Dallman MJ, Wood KJ, Morris PJ. Specific cytotoxic T cells are found in the nonrejected kidneys of blood transfused rats. J. Exp. Med. 1987, 165, 566.
 21. Davies DAL, Alkins BJ. What abrogates heart transplant rejection in immunological enhancement? Nature 1974, 247, 294.
 22. Debray-Sachs M, Liegeois A, Arnould A. Allograft enhancement by treatment with donor antigens extracted from alloantisera immune complexes. Transpl. Proc. 1979, 9, 953.
 23. de Waal LP, van Twuyver E. Blood transfusion and allograft survival. Crit. Rev. Immunol. 1991, 10, 417.

24. Donckier V, van de Stadt J, Goldman M, Gelin M. Tolerance in liver transplantation: facts and perspectives. Acta Chir. Belg. 1997, 97, 273.
25. Dorsch S, Roser B. Recirculating suppressor T cells in transplantation tolerance. J. Exp. Med. 1977, 154, 1144.
26. Dorshkind K, Klimpel GR, Rosse C. Natural regulatory cells in murine bone marrow: Inhibition of in vitro proliferation and cytotoxic responses to alloantigens. J. Immunol. 1980, 124, 2584.
27. Dorshkind K, Rosse C. Nonspecific inhibition of alloantigen induced proliferation by bone marrow natural regulatory cells. Transpl. Proc. 1981, 13, 1182.
28. Downey WE III, Baldwin WM III, Sanfilippo F. Association of donor-specific blood transfusion enhancement of rat renal allografts with accelerated development of antiidiotypic antibodies and reduced alloantibody responses. Transplantation 1990, 49, 160.
29. Fabre JW, Bishop M, Sent T, et al. A study of three protocols of blood transfusion before renal transplantation in the dog. Transplantation 1978, 26, 94.
30. Fabre JW, Morris PJ. The mechanism of specific immunosuppression of renal allograft rejection by donor strain blood. Transplantation 1972, 14, 634.
31. Flexner S, Jobling JW. On the promoting influence of heated tumor emulsion on tumor growth. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1907, 4, 156.
32. French ME, Batchelor JR, Watts HG. The capacity of

- lymphocytes from rats bearing enhanced kidney allografts to mount gvh reactions. *Transplantation* 1971, 12, 45.
33. Fujiwara H, Qian Ja-hua Satoh S, Kokudo S, Hamaoka T. Studies on the induction of tolerance to alloantigens. II. The generation of serum factors able to transfer alloantigen-specific tolerance for DTH by portal venous inoculation with allogeneic cells. *J. Immunol.* 1986, 136, 2763.
34. Fukumoto T, Kimura H, Miyamoto M. The catabolism of alloantibody IgG2a in normal and homograft tolerant rats. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1980, 58, 41.
35. Gorczynski RM, Chen Z, Hoang Y, RossiBergman B. A subset of $\gamma\delta$ T-cell receptor-positive cells produce T-helper type-2 cytokines and regulate mouse skin graft rejection following portal venous pretransplant preimmunization. *Immunology* 1996, 87, 381.
36. Gorczynski RM, Chen Z, Zeng H, Fu XM. Specificity for in vivo graft prolongation in gamma delta T cell receptor⁺ hybridomas derived from mice given portal vein donor-specific preimmunization and skin allografts. *J. Immunol.* 1997, 159, 3698.
37. Gorczynski RM, Cohen Z, Leung Y, Chen Z. $\gamma\delta$ TCR⁺ hybridomas derived from mice preimmunized via the portal vein adoptively transfer increased skin allograft survival in vivo. *J. Immunol.* 1996, 157, 574.
38. Gorczynski RM, Cohen Z, Levy G, Fu XM. A role for $\gamma\delta$ TCR⁺ cells in regulation of rejection of small intestinal

- allografts in rats. *Transplantation* 1996, 62, 844.
39. Gozzo JJ, Litvin DA, Bhatnagar YM, Monaco AP. Fractionated bone marrow: Use of a lymphocyte containing fraction for skin allograft prolongation in ALS treated mice. *Transpl. Proc.* 1981, 13, 592.
 40. Gozzo JJ, Crowley M, Maki T, Monaco AP. Functional characteristics of a Ficoll-separated mouse bone marrow cell population involved in skin allograft prolongation. *J. Immunol.* 1982, 142, 1584.
 41. Guttman RD. In vitro correlates of rejection. II. Rat mixed lymphocyte reactivity in vitro and cardiac allograft acute rejection, hyperacute or accelerated rejection, and prolongation by active immunization. *Transplantation* 1977, 23, 153.
 42. Hall BM. Mechanisms maintaining enhancement of allografts. I. Demonstration of a specific suppressor cell. *J. Exp. Med.* 1985, 161, 123.
 43. Hall BM. The cellular basis of the maintenance of passive enhancement. *Transpl. Proc.* 1981, 13, 640.
 44. Hall BM, Jelbart MM, Dorsch SE. Suppressor T cells in rats with prolonged cardiac allograft survival after treatment with CyA. *Transplantation* 1984, 37, 585.
 45. Hamano K, Ohmi M, Esato K. Effect of donor specific transfusion (DST) is restricted to the rat combination used and closely related with alloantibody in heart transplantation. *Immunol. Cell Biol.* 1989, 67, 297.
 46. Hart DNJ, Winearls CG, Fabre JW. Graft adaptation: studies

- on possible mechanisms in long-term surviving rat renal allografts. *Transplantation* 1980, 30, 73.
47. Hasuike Y, Monden M, Valdivia LA, Kubota N, Kanai T, Gotoh M, Okamura J, Mori T. Three phases of immunologic unresponsiveness following liver grafting in rats. *Transpl. Proc.* 1987, 19, 457.
 48. Heeg K, Wagner H. Induction of peripheral tolerance to class I major histocompatibility (MHC) alloantigens in adult mice: transfused class I MHC incompatible splenocytes veto clonal responses of antigenreactive Lyt-2+ T cells. *J. Exp. Med.* 1990, 172, 719.
 49. Hendry WSN, Tilney NL, Baldwin WM III, Graves MJ, Milford E, Strom TB, Carpenter CB. Transfer of specific unresponsiveness to organ allografts by thymocytes. *J. Exp. Med.* 1979, 149, 1042.
 50. Horikawa SI, Monden M, Mori T, Okamura J, Kosaki G. Passive enhancement of rat allografts by xenogeneic antidonor sera raised in rabbits. *Transplantation* 1982, 33, 138.
 51. Horuzsko A, Gyodi E, Reti M, Onody K, Perner F, Kassay M, Petranyi GG. Non-cytotoxic blocking antibodies and suppressor cells induced by donor-specific transfusions in healthy volunteers and potential kidney transplant recipients. *Immunol. Lett.* 1990, 26, 127.
 52. Hutchinson IV. Suppressor T cells in allogeneic models. *Transplantation* 1986, 41, 547.
 53. Hutchinson IV, Morris PJ. The role of major and minor histocompatibility antigens in active enhancement of rat

kidney allograft survival by blood transfusion.

Transplantation 1986, 41, 166.

54. Hutchinson IV, Zola H. Antigen-reactive cell opsonisation: A mechanism of antibody-mediated immune suppression. Cellular Immunol. 1978, 36, 161.
55. Hutchinson IV. Regulation of the immune response by antibodies against the immunogen. Immunological Rev. 1980, 49, 167.
56. Hutchinson IV, Morris PJ. Alloreactive suppressor T cells. Transpl. Proc. 1987, 19, 528.
57. Ichiguchi O, Yamaguchi Y, Akizuki E, Matsumura F, Matsuda T, Yamada S, Liang J, Mori K, Ogawa M. Prolonged survival of rat hepatic allografts treated with a pretransplant donor-specific blood transfusion is associated with reduced cytokine-induced neutrophil chemoattractant expression. Transplantation 1998, 65, 465.
58. Ichiguchi O, Yamaguchi Y, Goto M, Matsumura F, Miyanari N, Akizuki E, Matsuda T, Okabe K, Liang J, Ohshiro H, Mori K, Ogawa M. A significant reduction of macrophages expressing inducible nitric oxide synthase in rat hepatic allografts pretreated with donor-specific blood. Transplantation 1998, 65, 776.
59. Jane Shelby M, Maruschack M, Nelson EW. Prostaglandin production and suppressor cell induction in transfusion-induced immune suppression. Transplantation 1987, 43, 113.
60. Jaskłowska-Englisz M, Olszewski WL, Maksymowicz M, Poreda E, Ziółkowska A. Humoral mechanism of split tolerance to

- lymphocyte and heart allografts after donor-specific transfusion. *Transpl. Proc.* 1997, 29, 2185.
61. Jaskłowska-Englisz M, Podgórska D, Adamczyk G, Olszewski WL. Donor-specific transfusion does not mitigate but accelerates rejection of intravenously transplanted lymphocytes. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 1993, 41, 365.
 62. Jeekel J. Enhancement of rat renal allograft with antibodies directed against erythrocytes associated antigens. *Transpl. Proc.* 1977, 9, 969.
 63. Jenkins A McL, Woodruff MFA. The effect of prior administration of donor strain blood or blood constituents on the survival of cardiac allografts in rats. *Transplantation* 1971, 12, 57.
 64. Josien R, Cuturi MC, Douillard P, Heslan JM, Souillou JP. Mechanisms of recombinant IFN gamma-induced acute heart allograft rejection in recipient rats made tolerant to donors by pre-graft donor-specific blood transfusion. *Transpl. Proc.* 1997, 29, 1055.
 65. Kalechman Y, Gafter U, Sobelman D. The effect of single whole-blood transfusion on cytokine secretion. *J. Clin. Immunol.* 1990, 10, 99.
 66. Kamada K, Shinomiya T. Serology of liver transplantation in the rat. I. Alloantibody responses and evidence for tolerance in a nonrejector combination. *Transplantation* 1986, 42, 7.
 67. Kamada N. Transplantation tolerance and immunosuppression following liver grafting in rats. *Immunol. Today* 1985, 6,

68. Kamada N, Shinomya T, Tamaki T. Specific inhibition of heart allograft rejection by serum from liver grafted rats. *Transpl. Proc.* 1987, 19, 570.
69. Kaplan J, Sarnaik S, Gitlin J. Diminished helper/suppressor lymphocyte ratios and natural killer activity in recipients of repeated blood transfusion. *Blood* 1984, 64, 308.
70. Katsube K, Doi K, Fukumoto T, Fujikura Y, Shigetomi M, Kawai S. Nerve regeneration and origin of Schwann cells in peripheral nerve allografts in immunologically pretreated rats. *Transplantation* 1996, 62, 1643.
71. Katsumori T, Yamaguchi Y, Mori K, Makino Y, Misumi M, Takata N, Goto M, Kikuchi N, Ogawa M. The time course of cell-mediated lympholysis in rat hepatic allograft recipients pretreated with a single donor-specific blood transfusion. *Transplantation* 1992, 54, 531.
72. Kenick S, Lisbona R, Marghesco D, Lowry RP. Prolonged cardiac allograft survival following portal venous inoculation of allogeneic cells: immunologically specific entrapment of allogeneic cells within the liver. *Transpl. Proc.* 1987, 19, 3057.
73. Keown DA, Descamps B. Improved renal allograft survival after blood transfusion: a nonspecific, erythrocyte-mediated immunoregulatory process? *Lancet* 1979, 1, 20.
74. Kilshaw PJ, Brent L, Pinto M. Suppressor T cells in mice made unresponsive to skin allografts. *Nature* 1975, 255, 489.
75. Knechtle SJ, Kolbeck PC, Tsuchimoto S. Hepatic

- transplantation into sensitized recipients: demonstration of hyperacute rejection. *Transplantation* 1987, 43, 8.
76. Knulst AC, Bazuin C, Benner R. Blood transfusion-induced suppression of delayed-type hypersensitivity to allogeneic histocompatibility antigens. *Transplantation* 1989, 48, 829.
 77. Lau H, Reemstma K, Hardy M. Pancreatic islet allograft prolongation by donor specific blood transfusions treated with ultraviolet irradiation. *Science* 1983, 221, 754.
 78. Lauchart W, Alkins BJ, Davies DAL. Only B lymphocytes induce active enhancement of rat cardiac allografts. *Transpl. Proc.* 1980, 29, 259.
 79. Lechler RI, Batchelor JR. Restoration of immunogenicity to passenger cell depleted kidney allografts by the addition of donor strain dendritic cells. *J. Exp. Med.* 1982, 155, 31.
 80. Leivestad T, Thorsby E. Effects of HLA-haploidentical blood transfusions on donor-specific immune responsiveness. *Transplantation* 1984, 37, 175.
 81. Lenhard V, Gemsa D, Opelz G. Transfusion-induced release of prostaglandin F₂ and its role in the activation of T suppressor cells. *Transpl. Proc.* 1985, 17, 2380.
 82. Lenhard V, Massen G, Seifert P. Characterization of transfusion-induced suppressor cells in prospective kidney allograft recipients. *Transpl. Proc.* 1982, 14, 329.
 83. Loveland BE, Hagarth PM, Cereding RH, Mc Kenzie IFC. Cells mediating graft rejection in mice. I. Lyt-1 cells mediate skin allograft rejection. *J. Exp. Med.* 1981, 153, 1044.
 84. Lowry RP, Kenick S, Lisbona R. Speculation on the

- pathogenesis of prolonged cardiac allograft survival following portal venous inoculation of allogeneic cells. *Transpl. Proc.* 1987, 19, 3451.
85. Ludwin D, Stray S, Singal DP. Suppressor cell generation in mice after blood transfusion from different H-2 donors. *Transpl. Proc.* 1987, 19, 3402.
86. Maki T, Gottschalk R, Wood ML, Monaco AP. Specific unresponsiveness to skin allografts in ALS treated, marrow injected mice: Participation of donor marrow-derived suppressor T cells. *J. Immunol.* 1981, 127, 1433.
87. Makino Y, Yamaguchi Y, Goto M, Matsuno K, Takata N, Kikuchi N, Hamaguchi H, Hisama N, Mori K, Ogawa M. Characterization of hepatic allograft infiltrates in rats pretreated with donor-specific blood transfusion (DST). *J. Surg. Res.* 1995, 58, 460.
88. Mangino MJ, Anderson CB, De Schryver K, Tyler JD, Sicard FA, Turk JW. Arachidonic acid metabolism and renal allograft rejection. *Transpl. Proc.* 1987, 19, 444.
89. Marquet RL. Induction of specific unresponsiveness to organ allografts. Radiobiological Institute of the Organization for Health Research TNO, Rijswijk. Netherlands. 1978.
90. Marquet RL, Heystek GA. Induction of suppressor cells by donor-specific blood transfusions and heart transplantation in rats. *Transplantation* 1981, 31, 272.
91. Marquet RL, Heystek GA, Neissen GJC. Induction of suppressor cells by a single blood transfusions in rats. *Transpl. Proc.* 1982, 14, 397.

92. Marquet RL, Weimar W, Heineman E. Inhibition of chronic rejection by cyclosporine. *Transpl. Proc.* 1983, 15, 2953.
93. Marshall HE, Bolton EM, Gracie JA, Cocker JE, Sandilands GP, Bradley JA. FcR blocking activity in serum of actively enhanced rat renal allograft recipients due to IgG anti-class II MHC alloantibody. *Immunology* 1990, 69, 379.
94. Martin DC, Hewitt CW, Dowdy S. Transfer of the beneficial blood transfusion effect on rat renal allograft survival by spleen isografts. *Transplantation* 1984, 37, 319.
95. Mason DW, Dallman MJ, Arthur RP, Morris PJ. Mechanism of allograft rejection: the role of cytotoxic T cells and DTH. *Immunological Rev.* 1984, 77, 167.
96. Mc Kenzie IFC, Henning MM. Studies of immunogenicity and enhancement of alloantigens of the various regions of the H-2 complex. *Transpl. Proc.* 1977, 9, 609.
97. Mc Kenzie JL, Fabre JW, Morris PJ. Studies on the content of anti Ia and SD antibodies in rat allosera raised across MHC differences. *Transpl. Proc.* 1980, 29, 337.
98. Mendez R, Iwaki Y, Mendez RG. Antibody response and allograft outcome with deliberate donor-specific blood transfusions. *Transpl. Proc.* 1982, 14, 378.
99. Monaco AP, Wood ML. Models of specific unresponsiveness in adult animals. *Transpl. Proc.* 1981, 13, 547.
100. Morris PJ. Specific suppression by alloantibodies: passive enhancement. *Transpl. Proc.* 1979, 11, 936.
101. Morris PJ. Suppression of rejection of allografts by alloantibodies. *Immunological Rev.* 1980, 49, 93.

102. Mottram PL, Mirisklavos A, Dumble LJ, Clunie GJ. T suppressor cells induced by transfusions and cyclosporine. Studies in the murine cardiac allograft model. *Transplantation* 1990, 50, 1033.
103. Munson JL, van Twuyver E, Mooijaart RJD, Roux E, ten Berge RJM, de Waal LP. Missing T-cell receptor V beta families following blood transfusion. The role of HLA in development of immunization and tolerance. *Hum. Immunol.* 1995, 42, 43.
104. Muraoka S, Miller RG. Cells in bone marrow and T cell colonies grown from bone marrow can suppress generation of cytotoxic T lymphocytes directed against their self antigens. *J. Exp. Med.* 1980, 152, 54.
105. Nagarkatti PS, Joseph S, Singal DP. Blood transfusion induce antibodies capable of inhibiting responses in MLC. *Transplantation* 1983, 36, 695.
106. Nagata M, Ochiai T, Asano T, et al. Role of IA-positive cells in the beneficial effect of donor blood transfusion and reduction of suppressor cells in cardiac allotransplantation of rats. *Transplantation* 1984, 38, 522.
107. Niessen GJCM, Marquet RL, Bijnen AB, Obertop H, Jeekel J. The effect of cyclosporin A and blood transfusions on cardiac allograft survival in rats. *Surgery* 1982, 91, 339.
108. Niessen GJCM, Obertop H, Bijnen AB. Absence of the beneficial effect of blood transfusions in canine renal allograft recipients treated with low-dose cyclosporine A. *Transplantation* 1981, 31, 480.
109. Olszewski WL, Orlewska E, Ryffa T. Allogeneic lymphocytes

are rejected in hyperacute fashion by enhanced rats bearing a heart allograft from the same donor. *Transpl. Proc.* 1989, 21, 244.

110. Oluwole SF, Ng AK, Reemtsma K, Hardy MA. The mechanism of the induction of immunologic unresponsiveness to rat cardiac allografts by recipient pretreatment with donor lymphocyte subsets. *Transplantation* 1989, 48, 281.
111. Orlewska E. Analiza zjawiska wzmocnienia immunologicznego u biorcy przeszczepu na podstawie rozmieszczenia uprzednio podanego antygenu i allosurowicy. Praca doktorska. Instytut Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej, Polska Akademia Nauk. Warszawa 1989.
112. Park MM, Mac Donald TL. Effect of enhancing antibodies on the generation of cytotoxic T cells in vivo and in vitro. *Transplantation* 1980, 30, 314.
113. Perloff LJ, Barker CF. Variable response to donor-specific blood transfusion in the rat. *Transplantation* 1984, 38, 178.
114. Perloff LJ, Naji A, Silvers WK. Vascularized pancreas versus isolated islet allografts: an immunological comparison. *Surgery* 1980, 88, 222.
115. Qian Ja-hua, Hashimoto T, Fujiwara H, Hamaoka T. Studies on the induction of tolerance to alloantigens. I. The abrogation of potentials for DTH responses to alloantigens by portal venous inoculation with allogeneic cells. *J. Immunol.* 1985, 134, 3656.
116. Quigley RL, Wood KJ, Morris PJ. Investigation of the mechanism of active enhancement of renal allograft survival

by blood transfusion. Immunology 1988, 63, 373.

117. Quigley RL, Wood KJ, Morris PJ. Mediation of antigen-induced suppression of renal allograft rejection by a CD4 (W3/25+) T cell. Transplantation 1989, 47, 684.
118. Quigley RL, Wood KJ, Morris PJ. Mediation of the induction of immunologic unresponsiveness following antigen pretreatment by a CD4 (W3/25+) T cell appearing transiently in the splenic compartment and subsequently in the TDL. Transplantation 1989, 47, 689.
119. Quigley RL, Wood KJ, Morris PJ. The relative roles of major and minor histocompatibility antigens in the induction of immunologic unresponsiveness by blood transfusion. Transfusion 1989, 29, 789.
120. Rabie NS, Kisala JM, Dean RE. Effect of blood transfusion on antigen presentation function and on IL-2 generation. Arch. Surg. 1988, 123, 235.
121. Rammensee HG, Bevan MJ. Mutual tolerization of histoincompatible lymphocytes. Eur. J. Immunol. 1985, 17, 893.
122. Rammensee HG, Fink PJ, Bevan MJ. Functional clonal deletion of class-I-specific cytotoxic T lymphocytes by veto cells that express antigen. J. Immunol. 1984, 133, 2390.
123. Reckard CR, Stuart FP, Clayman JL. Differential susceptibility of segmental and isolated islet allografts of rat pancreas to rejection and enhancement. Transpl. Proc. 1981, 13, 819.
124. Robbins RC, Sadeghi AM, Kurlansky P. Failure of donor-

specific pretransplant blood transfusion to prolong heterotopic cardiac allograft survival in rats.

Transplantation 1987, 43, 757.

125. Roelen DL, Dover EL, Niimi M, Young NT, Morris PJ, Wood KJ. Semi-allogeneic (F1) versus fully allogeneic blood transfusions: differences in their ability to induce specific immunological unresponsiveness. Eur. J. Immunol. 1996, 26, 1468.
126. Roy R, Lachance JG, Beaudoin JH. Prostaglandin-dependent suppressor factor induced following 1 - 5 blood transfusions: role in kidney graft outcome. Transpl. Proc. 1985, 17, 2383.
127. Ruiz P, Coffman T, Sanfilippo F. Evidence that pretransplant donor blood transfusion prevents rat renal allograft dysfunction but not the in situ cellular autoimmune or morphologic manifestation of rejection. Transplantation 1988, 1, 1.
128. Sachs DH. Specific immunosuppression. Transpl. Proc. 1987, 19, 123.
129. Salvatierra O Jr., Iwaki Y, Vincenti F. Update of the University of California at San Francisco experience with donor-specific blood transfusions. Transpl. Proc. 1982, 14, 363.
130. Sasportes M, Wollman E, Cohen D. Suppression of the human allogeneic response in vitro with primed lymphocytes and suppressive supernates. J. Exp. Med. 1980, 152, 270.
131. Schot JDL, Schurrman RKB. Blood transfusion suppresses

cutaneous cell-mediated immunity. Clin. Exp. Immunol. 1986, 65, 336.

132. Schweizer R, Bow L, Generas D. Serologic considerations in donor-specific transfusion therapy for kidney transplantation. Transpl. Proc. 1982, 14, 374.
133. Shelby J, Wakely E, Corry RJ. Splenectomy abrogates the improved graft survival achieved by donor specific transfusion. Transpl. Proc. 1985, 17, 1083.
134. Sheng-Tanner X, Miller RG. Correlation between lymphocyte induced donor specific tolerance and donor cell recirculation. J. Exp. Med. 1992, 176, 407.
135. Silvers WK, Kimura H, Dasqueme-Clark L, Miyamoto M. Some new perspectives on transplantation immunity and tolerance. Immunol. Today 1987, 8, 185.
136. Smith MD, Williams JD, Coles CA. Blood transfusion, suppressor T cells, and renal transplant survival. Transplantation 1983, 36, 647.
137. Spillenaar-Bilgen EJ, de Bruin RWF, Baumgartner D. Moderate effect of preoperative blood transfusions on pancreas allograft survival in rats and dogs. Transplantation 1990, 50, 21.
138. Staines NA, Guy K, Davies DAL. Passive enhancement of mouse skin allografts specificity of the antiserum for MHC antigens. Transplantation 1974, 18, 192.
139. Stegall MD, Tezuka K, Oluwole SF. Interstitial class II-positive cell depletion by donor pretreatment with gamma irradiation: evidence of differential immunogenicity between

vascularized cardiac allografts and islets. Transplantation 1990, 49, 246.

140. Steilein JW. Neonatal tolerance: towards an immunogenetic definition of self. Immunology Rev. 1979, 46, 123.
141. Steinmuller D. Which T cells mediate allograft rejection? Transplantation 1985, 40, 229.
142. Strom TB. On the identity of lymphoid cells that stimulate rat MLC and produce active enhancement. Transpl. Proc. 1977, 9, 965.
143. Strom TB, Carpenter CB. Prostaglandin as an effective antirejection therapy in rat renal allograft recipient. Transplantation 1983, 35, 279.
144. Strom TB, Carpenter CB, Garaway M, Abbas AK, Carson JM, Sovilliou JP. Modification of rat alloimmune response by enhancing antibodies and the role of blocking factors in the survival of renal grafts. Transplantation 1975, 20, 368.
145. Strom TB, Hayry P, Simmons R, Strober S. Summation of immunobiology poster discussions. Transpl. Proc. 1987, 19, 635.
146. Stuart FP, Fitch FW, Rowley DA. Specific suppression of renal allograft rejection by treatment with antigen and antibody. Transpl. Proc. 1970, 21, 483.
147. Stuart FP, Fitch FW, Rowley DA, Biesecker JL, Hellstrom KE, Hellstrom I. Presence of cell mediated immunity and serum blocking factors in rat renal allografts enhanced by passive immunization. Transplantation 1971, 12, 331.
148. Stuart FP, Mc Kearn TJ, Weiss A, Fitch FW. Suppression of

rat renal allograft rejection by antigen and antibody.

Immunological Rev. 1980, 49, 127.

149. Stuart FP, Saitoh R, Fitch FW. Immunological enhancement of renal allografts in the rat. *Surgery* 1976, 64, 17.
150. Stuart FP, Saitoh R, Fitch FW. Rejection of renal allografts: specific immunologic suppression. *Science* 1968, 160, 463.
151. Stuart FP, Scollard DM, McKearn TJ, Fitch FW. Cellular and humoral immunity after allogeneic renal transplantation in the rat. V. Appearance of anti-idiotypic antibody and its relationship to cellular immunity after treatment with donor spleen cells and alloantibody. *Transplantation* 1976, 2, 455.
152. Stuart FP, Weiss A, Fitch FW. Immunological tolerance and enhancement. Lancaster U.K. MTP press 1979, p. 29.
153. Takahashi I, Otsubo O, Nishimura M. Prolonged graft survival by donor-specific blood transfusion (DSBT). *Transpl. Proc.* 1982, 14, 367.
154. Tanigawa T, Gotoh M, Nagano H, Ota H, Hasuike Y, Yoshida T, Sakon M, Monden M. Donor-specific transfusion using mitomycin-C treated spleen cells induces significant prolongation of cardiac allograft in rats. *Transpl. Proc.* 1997, 29, 1149.
155. Tchervenkov JI, Epstein MD, Alexander JW. The effect of donor-specific blood transfusion, cyclosporine, and dietary prostaglandin precursors on rat cardiac allograft survival. II. Effectiveness of a 24-hour induction period with DST and CsA in inducing long-term graft survival. *Transplantation*

1989, 47, 177.

156. Terasaki PI. The beneficial transfusion effect on kidney graft survival attributed to clonal deletion. *Transplantation* 1984, 37, 119.
157. Tilney NL, Bancewicz J, Rowiński W, Notis-Mc Conarty J. Enhancement of cardiac allografts in rats. Comparison of host responses to different treatment protocols. *Transplantation* 1978, 1, 1.
158. Tilney NL, Graves MJ, Strom TB. Prolongation of organ allograft survival by syngeneic lymphoid cells. *J. Immunol.* 1978, 121, 1480.
159. van Twuyver E, Kast WM, Mooijaart RJD. Allograft tolerance induction in adult mice associated with functional deletion of specific CTL precursors. *Transplantation* 1989, 48, 844.
160. van Twuyver E, Mooijaart RJD, ten Berge RJM, van der Horst AR, Wilmink JM, Kast WM, Melief CJM, de Waal LP. Pretransplantation blood transfusion revisited. *N. Engl. J. Med.* 1991, 325, 1210.
161. Voisin GA. Role of antibody classes in the regulatory facilitation reaction. *Immunological Rev.* 1980, 49, 19.
162. Wąsowska B, Adamczyk G, Ryffa T, Ziólkowska A, Olszewski WL. Prolongation of heart graft survival and spleen suppressor cell activity after donor specific blood transfusions in rats differing across the MHC. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 1989, 37, 1.
163. Wąsowska B, Baldwin WM III, Howell DN, Sanfilippo F. The association of enhancement of renal allograft survival by

donor-specific blood transfusion with host MHC-linked inhibition of IgG anti-donor class I alloantibody responses.

Transplantation 1993, 56, 672.

164. Wąsowska B, Baldwin WM III, Howell DN, Sanfilippo F. The effects of donor-specific blood transfusion enhancement of rat renal allografts on cytotoxic activity and phenotypes of peripheral blood lymphocytes, splenocytes, and graft-infiltrating cells. Transplantation 1991, 51, 451.
165. Wąsowska B, Baldwin WM III, Sanfilippo F. IgG alloantibody responses to donor-specific blood transfusion in different rat strain combinations as a predictor of renal allograft survival. J. Immunol. 1992, 53, 175.
166. Waymack JP, Gallon L, Barcelli U. Effect of blood transfusions on immune function. III. Alterations in macrophage arachidonic acid metabolism. Arch. Surg. 1987, 122, 56.
167. Webb DR, Osheroff PL. Antigen stimulation of prostaglandin synthesis and control of immune responses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1976, 73, 1300.
168. Weiss A, Stuart FP, Fitch FW. Immune reactivity of cells from long term rat renal allograft survivors. Transplantation 1978, 26, 346.
169. Winearls CG, Fabre JW, Millard PR, Morris PJ. A quantitative comparison of whole antibody and F(ab)₂ in kidney allograft enhancement. Transplantation 1979, 28, 36.
170. Wong W, Morris PJ, Wood KJ. Syngeneic bone marrow expressing a single donor class I MHC molecule permits acceptance of

a fully allogeneic cardiac allograft. *Transplantation* 1996, 62, 1462.

171. Wood KJ, Evins J, Morris PJ. Suppression of renal allograft in the rat by class I antigens on purified erythrocytes. *Transplantation* 1985, 39, 56.
172. Wood KJ, Morris PJ. Antigen-induced suppression: The role of class I major histocompatibility antigens. *Biosci. Rep.* 1985, 5, 1007.
173. Wood ML, Gottschalk R, Monaco AP. Effect of blood transfusion on IL-1 production. *Transplantation* 1988, 45, 930.
174. Wood ML, Monaco AP. Induction of unresponsiveness to skin allografts in adult mice disparate at defined regions of the H-2 complex. II. Effect of pre-graft donor specific blood transfusions in ALS-treated mice. *Transplantation* 1984, 37, 39.
175. Wood PJ, Roberts IS, Yang CP, Cossens IA, Bell EB. Prevention of chronic rejection by donor-specific blood transfusion in a new model of chronic cardiac allograft rejection. *Transplantation* 1996, 61, 1440.
176. Wood RFM, Everson NW, Bell PR. The reversal of established enhancement in rat cardiac allografts. *Transplantation* 1977, 24, 416.
177. Yamaguchi Y, Bollinger RR. Survival of rat hepatic allografts after treatment with donor splenocytes. *Surg. Forum* 1987, 38, 380.
178. Yamaguchi Y, Goto M, Hamaguchi H, Hisama N, Miyanari N,

Ichiguchi O, Mori K, Ogawa M. Effects of class I major histocompatibility complex antigens on hepatic allograft survival in rats: distribution of donor cells which express class I major histocompatibility complex antigens in the recipient. *Transpl. Proc.* 1995, 27, 540.

179. Yamaguchi Y, Goto M, Makino Y, Kikuchi N, Hamaguchi H, Hisama N, Miyanari N, Mori K, Ogawa M. Prolonged survival of rat hepatic allografts pretreated with a single donor-specific blood transfusion: the distribution of donor cells expressing class I major histocompatibility complex antigens in the recipient. *J. Surg. Res.* 1996, 61, 23.

180. Yamaguchi Y, Harland RC, Wyble C. The role of class I major histocompatibility complex antigens in prolonging the survival of hepatic allografts in the rat. *Transplantation* 1989, 47, 171.

181. Yang L, du Temple B, Khan Q, Zhang L. Mechanisms of long-term donor-specific allograft survival induced by pretransplant infusion of lymphocytes. *Blood* 1998, 91, 324.

GRUPY DOŚWIADCZALNE

Grupa	Dawca	Biorca	Antygen ⁵¹ Cr	Allosuro- wica	Alloglo- buliny ¹²⁵ J	Czas ob- serwacji	Przesz- czep	Czas ob- serwacji
1	August	Wistar	dzień -11		dzień -10	dzień -9		
2	August	Wistar	dzień -11		dzień -10	dzień -7		
3	August	Wistar	dzień -11		dzień -10	dzień -1		
4	August	Wistar	dzień -11		dzień -10		serce	dzień +1
5	August	Wistar	dzień -11		dzień -10		serce	dzień +5
6	August	Wistar	dzień -11		dzień -10		skóra	dzień +1
7	August	Wistar	dzień -11		dzień -10		skóra	dzień +5
8	August	Wistar	dzień -11		dzień -10		serce i skóra	dzień +1
9	August	Wistar	dzień -11		dzień -10		serce i skóra	dzień +5
10	Wistar	Wistar	dzień -10	dzień -10		dzień -9		

11	Wistar	Wistar	dzień -10	dzień -10		dzień -7		
12	Wistar	Wistar	dzień -10	dzień -10		dzień -1		
13		August			dzień -10	dzień -9		
14		August			dzień -10	dzień -7		
15		August			dzień -10	dzień -1		

Tab. II

Grupa 1. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar, $n = 4$), w dniu -9 biorcę skrwawiono, $n = 4$.

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
krwinki	0,00 \pm 0,00	0,386 \pm 0,079	0,00 \pm 0,00	0,266 \pm 0,027
surowica	0,00 \pm 0,00	1,319 \pm 0,238	0,00 \pm 0,00	0,928 \pm 0,102
płuca	0,00 \pm 0,00	0,658 \pm 0,130	0,00 \pm 0,00	0,381 \pm 0,077
nerki	0,00 \pm 0,00	0,301 \pm 0,039	0,00 \pm 0,00	0,288 \pm 0,011
śledziona	40,30 \pm 1,46	0,225 \pm 0,025	34,31 \pm 4,67	0,277 \pm 0,045
wątroba	0,00 \pm 0,00	0,223 \pm 0,050	1,26 \pm 1,00	0,186 \pm 0,057
MLN	1,25 \pm 1,98	0,252 \pm 0,050	1,70 \pm 1,01	0,248 \pm 0,032
PLN	0,51 \pm 0,44	0,204 \pm 0,032	2,26 \pm 1,20	0,149 \pm 0,015
szpik kości łap tylnych	0,00 \pm 0,00	0,328 \pm 0,039	1,20 \pm 1,41	0,346 \pm 0,067
skóra grzbietu	0,00 \pm 0,00	0,186 \pm 0,080	0,00 \pm 0,00	0,228 \pm 0,025

Tab. III

Grupa 2. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar, $n = 4$), w dniu -7 biorcę skrwawiono, $n = 4$.

Średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
krwinki	0,00 \pm 0,00	0,261 \pm 0,052	0,00 \pm 0,00	0,143 \pm 0,030
surowica	0,00 \pm 0,00	0,601 \pm 0,424	0,00 \pm 0,00	0,666 \pm 0,095
płuca	0,00 \pm 0,00	0,338 \pm 0,047	0,00 \pm 0,00	0,334 \pm 0,079
nerki	0,00 \pm 0,00	0,181 \pm 0,009	0,09 \pm 0,15	0,163 \pm 0,017
śledziona	37,33 \pm 8,40	0,141 \pm 0,007	38,46 \pm 8,05	0,107 \pm 0,005
wątroba	0,00 \pm 0,00	0,221 \pm 0,035	2,23 \pm 0,15	0,137 \pm 0,016
MLN	0,72 \pm 1,25	0,172 \pm 0,036	2,80 \pm 1,07	0,121 \pm 0,025
PLN	0,57 \pm 0,34	0,128 \pm 0,029	2,46 \pm 0,66	0,100 \pm 0,015
szpik kości łap tylnych	0,00 \pm 0,00	0,244 \pm 0,025	3,60 \pm 0,42	0,215 \pm 0,018
skóra grzbietu	0,00 \pm 0,00	0,215 \pm 0,037	0,00 \pm 0,00	0,223 \pm 0,049

Tab. IV

Grupa 3. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar, $n = 4$), w dniu -1 biorcę skrwawiono, $n = 4$.

Średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
krwinki	0,00 \pm 0,00	0,074 \pm 0,007	0,02 \pm 0,03	0,047 \pm 0,023
surowica	0,00 \pm 0,00	0,354 \pm 0,102	0,00 \pm 0,00	0,232 \pm 0,139
płuca	0,00 \pm 0,00	0,139 \pm 0,033	0,00 \pm 0,00	0,073 \pm 0,044
nerki	0,00 \pm 0,00	0,080 \pm 0,015	1,25 \pm 0,06	0,089 \pm 0,046
śledziona	28,12 \pm 3,09	0,050 \pm 0,008	37,50 \pm 7,47	0,038 \pm 0,025
wątroba	0,00 \pm 0,00	0,050 \pm 0,004	1,90 \pm 0,23	0,057 \pm 0,036
MLN	0,20 \pm 0,35	0,058 \pm 0,007	2,24 \pm 0,79	0,049 \pm 0,030
PLN	0,75 \pm 1,29	0,056 \pm 0,010	1,50 \pm 0,94	0,052 \pm 0,028
szpik kości łap tylnych	0,00 \pm 0,00	0,099 \pm 0,028	3,04 \pm 0,78	0,092 \pm 0,071
skóra grzbietu	0,00 \pm 0,00	0,152 \pm 0,012	0,00 \pm 0,00	0,174 \pm 0,140

Tab. V

Grupa [4 + 6 + 8]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar, $n = 6 + 6 + 6$), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August, w dniu +1 biorcę skrwawiono, $n = 18 (6 + 6 + 6)$.

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
krwinki	0,05 \pm 0,07	0,020 \pm 0,014	0,02 \pm 0,04	0,027 \pm 0,027
surowica	0,03 \pm 0,07	0,073 \pm 0,059	0,08 \pm 0,25	0,095 \pm 0,088
śledziona	32,56 \pm 16,51	0,204 \pm 0,207	25,04 \pm 13,46	0,161 \pm 0,156
wątroba	1,56 \pm 0,93	0,052 \pm 0,027	1,37 \pm 0,77	0,055 \pm 0,033
MLN	1,76 \pm 1,33	0,039 \pm 0,020	0,91 \pm 0,84	0,035 \pm 0,016
PLN	2,61 \pm 1,96	0,067 \pm 0,036	1,51 \pm 1,72	0,041 \pm 0,022
szpik kości łap tylnych	1,77 \pm 1,24	0,056 \pm 0,021	1,77 \pm 0,88	0,060 \pm 0,028
skóra grzbietu	0,06 \pm 0,15	0,090 \pm 0,038	0,07 \pm 0,22	0,088 \pm 0,038
serce	0,04 \pm 0,05	0,012 \pm 0,006	0,01 \pm 0,02	0,013 \pm 0,007
przeszczep serca	0,04 \pm 0,06	0,016 \pm 0,009	0,03 \pm 0,05	0,025 \pm 0,018
przeszczep skóry	0,00 \pm 0,01	0,037 \pm 0,021	0,02 \pm 0,05	0,025 \pm 0,015

Tab. VI

Grupa [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledzioty szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar, $n = 6 + 6 + 6$), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August, w dniu +5 biorcę skrwawiono, $n = 18 (6 + 6 + 6)$.

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
krwinki	0,03 \pm 0,07	0,011 \pm 0,006	0,00 \pm 0,01	0,012 \pm 0,008
surowica	0,02 \pm 0,05	0,030 \pm 0,024	0,01 \pm 0,04	0,043 \pm 0,037
śledzioty	18,12 \pm 10,18	0,065 \pm 0,060	16,17 \pm 10,85	0,092 \pm 0,081
wątroba	1,95 \pm 1,23	0,045 \pm 0,027	1,13 \pm 0,95	0,042 \pm 0,021
MLN	1,44 \pm 1,56	0,022 \pm 0,014	1,08 \pm 0,91	0,026 \pm 0,028
PLN	1,85 \pm 1,32	0,039 \pm 0,021	1,94 \pm 1,57	0,040 \pm 0,026
szpik kości łap tylnych	1,77 \pm 0,78	0,028 \pm 0,014	1,66 \pm 0,92	0,035 \pm 0,011
skóra grzbietu	0,02 \pm 0,05	0,067 \pm 0,039	0,05 \pm 0,12	0,082 \pm 0,048
serce	0,03 \pm 0,05	0,010 \pm 0,006	0,11 \pm 0,38	0,009 \pm 0,004
przeszczep serca	0,04 \pm 0,10	0,010 \pm 0,004	0,00 \pm 0,01	0,010 \pm 0,004
przeszczep skóry	0,04 \pm 0,06	0,018 \pm 0,006	0,01 \pm 0,02	0,017 \pm 0,006

Tab. VII

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

KRWINKI

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu -9	0,00 \pm 0,00	0,386 \pm 0,079	0,00 \pm 0,00	0,266 \pm 0,027
w dniu -7	0,00 \pm 0,00	0,261 \pm 0,052	0,00 \pm 0,00	0,143 \pm 0,030
w dniu -1	0,00 \pm 0,00	0,074 \pm 0,007	0,02 \pm 0,03	0,047 \pm 0,023
w dniu +1	0,05 \pm 0,07	0,020 \pm 0,014	0,02 \pm 0,04	0,027 \pm 0,027
w dniu +5	0,03 \pm 0,07	0,011 \pm 0,06	0,00 \pm 0,01	0,012 \pm 0,008

Tab. VIII

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

SUROWICA

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu -9	0,00 \pm 0,00	1,319 \pm 0,238	0,00 \pm 0,00	0,928 \pm 0,102
w dniu -7	0,00 \pm 0,00	0,601 \pm 0,424	0,00 \pm 0,00	0,666 \pm 0,095
w dniu -1	0,00 \pm 0,00	0,354 \pm 0,102	0,00 \pm 0,00	0,232 \pm 0,139
w dniu +1	0,03 \pm 0,07	0,073 \pm 0,059	0,08 \pm 0,25	0,095 \pm 0,088
w dniu +5	0,02 \pm 0,05	0,030 \pm 0,024	0,01 \pm 0,04	0,043 \pm 0,037

Tab. IX

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

ŚLEDZIONA

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu -9	40,30 \pm 1,46	0,225 \pm 0,025	34,31 \pm 4,67	0,277 \pm 0,045
w dniu -7	37,33 \pm 8,40	0,141 \pm 0,007	38,46 \pm 8,05	0,107 \pm 0,005
w dniu -1	28,12 \pm 3,09	0,050 \pm 0,008	37,50 \pm 7,47	0,038 \pm 0,025
w dniu +1	32,56 \pm 16,51	0,204 \pm 0,207	25,04 \pm 13,46	0,161 \pm 0,156
w dniu +5	18,12 \pm 10,18	0,065 \pm 0,060	16,17 \pm 10,85	0,092 \pm 0,081

Tab. X

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

WĄTROBA

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu -9	0,00 \pm 0,00	0,223 \pm 0,050	1,26 \pm 1,00	0,186 \pm 0,057
w dniu -7	0,00 \pm 0,00	0,221 \pm 0,035	2,23 \pm 0,15	0,137 \pm 0,016
w dniu -1	0,00 \pm 0,00	0,050 \pm 0,004	1,90 \pm 0,23	0,057 \pm 0,036
w dniu +1	1,56 \pm 0,93	0,052 \pm 0,027	1,37 \pm 0,77	0,055 \pm 0,033
w dniu +5	1,95 \pm 1,23	0,045 \pm 0,027	1,13 \pm 0,95	0,042 \pm 0,021

Tab. XI

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

MLN

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu -9	1,25 \pm 1,98	0,252 \pm 0,050	1,70 \pm 1,01	0,248 \pm 0,032
w dniu -7	0,72 \pm 1,25	0,172 \pm 0,036	2,80 \pm 1,07	0,121 \pm 0,025
w dniu -1	0,20 \pm 0,35	0,058 \pm 0,007	2,24 \pm 0,79	0,049 \pm 0,030
w dniu +1	1,76 \pm 1,33	0,039 \pm 0,020	0,91 \pm 0,84	0,035 \pm 0,016
w dniu +5	1,44 \pm 1,56	0,022 \pm 0,014	1,08 \pm 0,91	0,026 \pm 0,028

Tab. XII

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

PLN

Średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu -9	0,51 \pm 0,44	0,204 \pm 0,032	2,26 \pm 1,20	0,149 \pm 0,015
w dniu -7	0,57 \pm 0,34	0,128 \pm 0,029	2,46 \pm 0,66	0,100 \pm 0,015
w dniu -1	0,75 \pm 1,29	0,056 \pm 0,010	1,50 \pm 0,94	0,052 \pm 0,028
w dniu +1	2,61 \pm 1,96	0,067 \pm 0,036	1,51 \pm 1,72	0,041 \pm 0,022
w dniu +5	1,85 \pm 1,32	0,039 \pm 0,021	1,94 \pm 1,57	0,040 \pm 0,026

Tab. XIII

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledzioty szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

SZPIK KOŚCI ŁAP TYLNYCH

Średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu -9	0,00 \pm 0,00	0,328 \pm 0,039	1,20 \pm 1,41	0,346 \pm 0,067
w dniu -7	0,00 \pm 0,00	0,244 \pm 0,025	3,60 \pm 0,42	0,215 \pm 0,018
w dniu -1	0,00 \pm 0,00	0,099 \pm 0,028	3,04 \pm 0,78	0,092 \pm 0,071
w dniu +1	1,77 \pm 1,24	0,056 \pm 0,021	1,77 \pm 0,88	0,060 \pm 0,028
w dniu +5	1,77 \pm 0,78	0,028 \pm 0,014	1,66 \pm 0,92	0,035 \pm 0,011

Tab. XIV

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

SKÓRA GRZBIETU

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu -9	0,00 \pm 0,00	0,186 \pm 0,080	0,00 \pm 0,00	0,228 \pm 0,025
w dniu -7	0,00 \pm 0,00	0,215 \pm 0,037	0,00 \pm 0,00	0,223 \pm 0,049
w dniu -1	0,00 \pm 0,00	0,152 \pm 0,012	0,00 \pm 0,00	0,174 \pm 0,140
w dniu +1	0,06 \pm 0,15	0,090 \pm 0,038	0,07 \pm 0,22	0,088 \pm 0,038
w dniu +5	0,02 \pm 0,05	0,067 \pm 0,039	0,05 \pm 0,12	0,082 \pm 0,048

Tab. XV

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziowy szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

SERCE

Średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu +1	0,04 \pm 0,05	0,012 \pm 0,006	0,01 \pm 0,02	0,013 \pm 0,007
w dniu +5	0,03 \pm 0,05	0,010 \pm 0,006	0,11 \pm 0,38	0,009 \pm 0,004

Tab. XVI

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziomy szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

PRZESZCZEP SERCA

Średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu +1	0,04 \pm 0,06	0,016 \pm 0,009	0,03 \pm 0,05	0,025 \pm 0,018
w dniu +5	0,04 \pm 0,10	0,010 \pm 0,004	0,00 \pm 0,01	0,010 \pm 0,004

Tab. XVII

Grupy 1, 2, 3, [4 + 6 + 8], [5 + 7 + 9]. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledzioty szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August.

PRZESZCZEP SKÓRY

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
w dniu +1	0,00 \pm 0,01	0,037 \pm 0,021	0,02 \pm 0,05	0,025 \pm 0,015
w dniu +5	0,04 \pm 0,06	0,018 \pm 0,006	0,01 \pm 0,02	0,017 \pm 0,006

Tab. XVIII

Grupa 10. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - surowica szczura szczepu Wistar, $n = 3$), w dniu -9 biorcę skrwawiono, $n = 3$.

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)
krwinki	0,25 \pm 0,03	0,04 \pm 0,02
surowica	0,11 \pm 0,02	0,08 \pm 0,05
płuca	2,38 \pm 0,85	0,44 \pm 0,48
nerki	0,52 \pm 0,11	0,81 \pm 0,32
śledziona	44,80 \pm 5,29	44,87 \pm 20,75
wątroba	0,89 \pm 0,12	1,20 \pm 0,33
MLN	64,06 \pm 4,75	44,37 \pm 13,78
PLN	56,76 \pm 8,65	42,16 \pm 15,90
szpik kości łap tylnych	1,98 \pm 0,28	12,29 \pm 7,17
skóra grzbietu	0,12 \pm 0,04	0,02 \pm 0,01

Tab. XIX

Grupa 11. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziona szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - surowica szczura szczepu Wistar, $n = 3$), w dniu -7 biorcę skrwawiono, $n = 3$.

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)
krwinki	0,06 \pm 0,02	0,02 \pm 0,00
surowica	0,03 \pm 0,04	0,02 \pm 0,00
płuca	1,00 \pm 0,75	0,55 \pm 0,11
nerki	0,55 \pm 0,32	0,95 \pm 0,04
śledziona	32,29 \pm 2,92	63,62 \pm 5,75
wątroba	0,88 \pm 0,29	1,74 \pm 0,12
MLN	57,52 \pm 8,21	31,94 \pm 3,82
PLN	50,79 \pm 6,53	30,92 \pm 10,25
szpik kości łap tylnych	2,37 \pm 2,15	5,44 \pm 0,64
skóra grzbietu	0,07 \pm 0,04	0,01 \pm 0,00

Tab. XX

Grupa 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - surowica szczura szczepu Wistar, $n = 3$), w dniu -1 biorcę skrwawiono, $n = 3$.

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr	narządowa aktywność właściwa ^{51}Cr (kontrola)
krwinki	0,06 \pm 0,02	0,00 \pm 0,00
surowica	0,06 \pm 0,05	0,01 \pm 0,00
płuca	0,91 \pm 0,38	0,15 \pm 0,23
nerki	0,79 \pm 0,12	1,11 \pm 0,16
śledziona	26,76 \pm 2,67	21,49 \pm 17,48
wątroba	0,73 \pm 0,15	1,26 \pm 0,25
MLN	27,41 \pm 4,04	9,54 \pm 5,56
PLN	33,05 \pm 6,82	15,83 \pm 7,38
szpik kości łap tylnych	1,84 \pm 0,88	18,47 \pm 10,91
skóra grzbietu	0,10 \pm 0,05	0,00 \pm 0,00

Tab. XXI

Grupa 13. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar, $n = 3$), w dniu -9 biorcę skrwawiono, $n = 3$.

Średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
krwinki	0,159 \pm 0,066	0,114 \pm 0,009
surowica	0,371 \pm 0,104	0,303 \pm 0,023
płuca	0,189 \pm 0,081	0,133 \pm 0,043
nerki	0,408 \pm 0,128	0,383 \pm 0,054
śledziona	0,168 \pm 0,066	0,118 \pm 0,041
wątroba	0,168 \pm 0,087	0,220 \pm 0,121
MLN	0,192 \pm 0,060	0,134 \pm 0,007
PLN	0,131 \pm 0,055	0,107 \pm 0,023
szpik kości łap tylnych	0,162 \pm 0,106	0,092 \pm 0,018
skóra grzbietu	0,197 \pm 0,047	0,192 \pm 0,032

Tab. XXII

Grupa 14. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar, $n = 3$), w dniu -7 biorcę skrwawiono, $n = 3$.

Średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
krwinki	0,030 \pm 0,003	0,036 \pm 0,005
surowica	0,110 \pm 0,017	0,115 \pm 0,013
płuca	0,045 \pm 0,002	0,046 \pm 0,006
nerki	0,121 \pm 0,100	0,259 \pm 0,005
śledziona	0,042 \pm 0,025	0,024 \pm 0,002
wątroba	0,030 \pm 0,003	0,035 \pm 0,003
MLN	0,039 \pm 0,008	0,039 \pm 0,006
PLN	0,064 \pm 0,019	0,090 \pm 0,047
szpik kości łap tylnych	0,042 \pm 0,007	0,035 \pm 0,011
skóra grzbietu	0,177 \pm 0,015	0,146 \pm 0,119

Tab. XXIII

Grupa 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar, $n = 3$), w dniu -1 biorcę skrwawiono, $n = 3$.

średnia \pm odchylenie standardowe

	narządowa aktywność właściwa ^{125}J	narządowa aktywność właściwa ^{125}J (kontrola)
krwinki	0,008 \pm 0,004	0,020 \pm 0,003
surowica	0,028 \pm 0,012	0,094 \pm 0,018
płuca	0,015 \pm 0,008	0,045 \pm 0,011
nerki	0,097 \pm 0,029	0,293 \pm 0,108
śledziona	0,008 \pm 0,003	0,047 \pm 0,047
wątroba	0,012 \pm 0,007	0,074 \pm 0,074
MLN	0,010 \pm 0,004	0,042 \pm 0,018
PLN	0,025 \pm 0,009	0,071 \pm 0,050
szpik kości łap tylnych	0,014 \pm 0,007	0,053 \pm 0,014
skóra grzbietu	0,065 \pm 0,028	0,068 \pm 0,025

Rycina I. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9

antygen ^{51}Cr								
alloglobuliny ^{125}J								
		pobieranie narządów i tkanek		pobieranie narządów i tkanek		pobieranie narządów i tkanek		przeszczepienie serca i/lub skóry
						pobieranie narządów i tkanek		pobieranie narządów i tkanek
- 1 1	- 1 0	- 9	- 7	- 1	0	+ 1		+ 5

Rycina II. Grupy 10, 11, 12

antygen ^{51}Cr
allosurowica

pobieranie narządów i tkanek

pobieranie narządów i tkanek

pobieranie narządów i tkanek

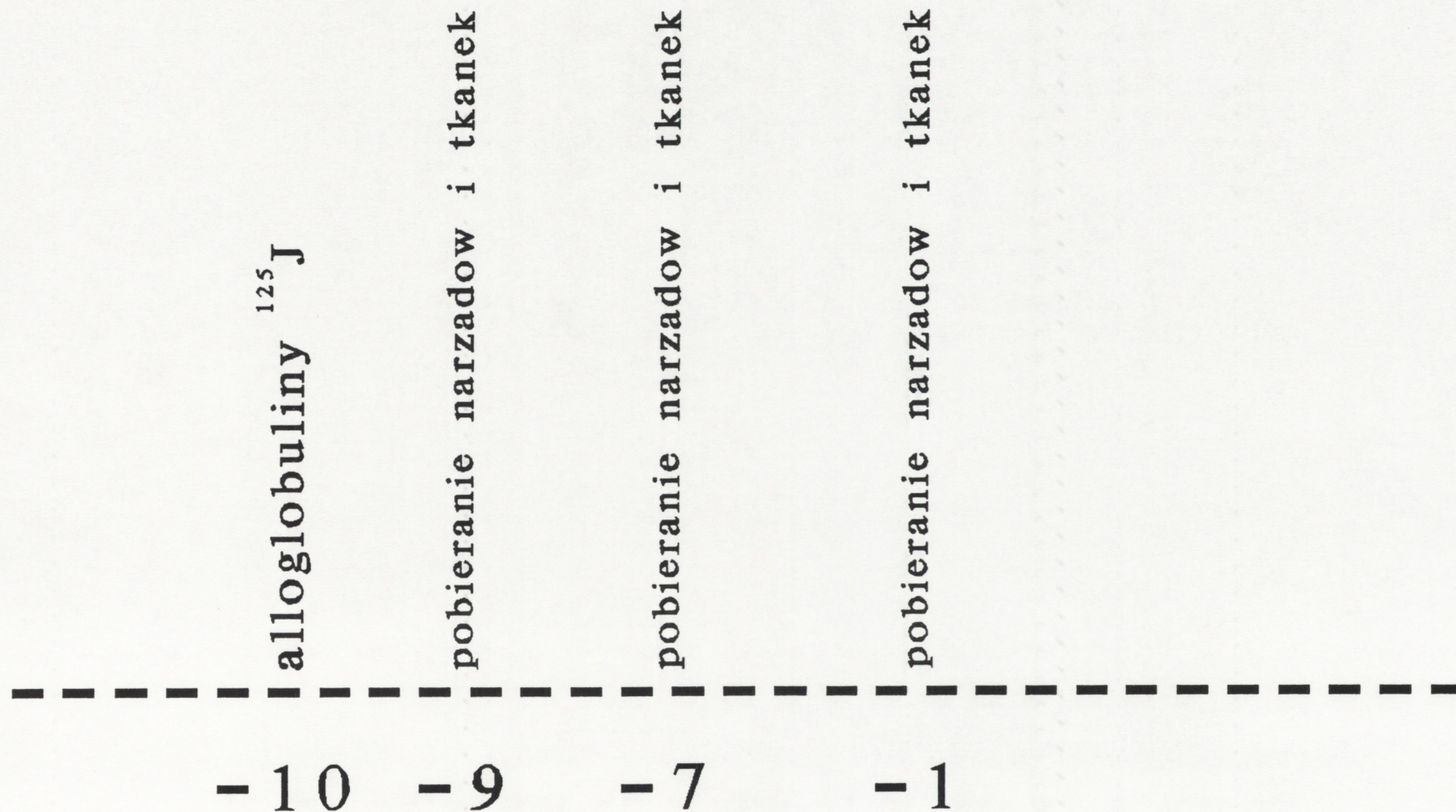
- 10

- 9

- 7

- 1

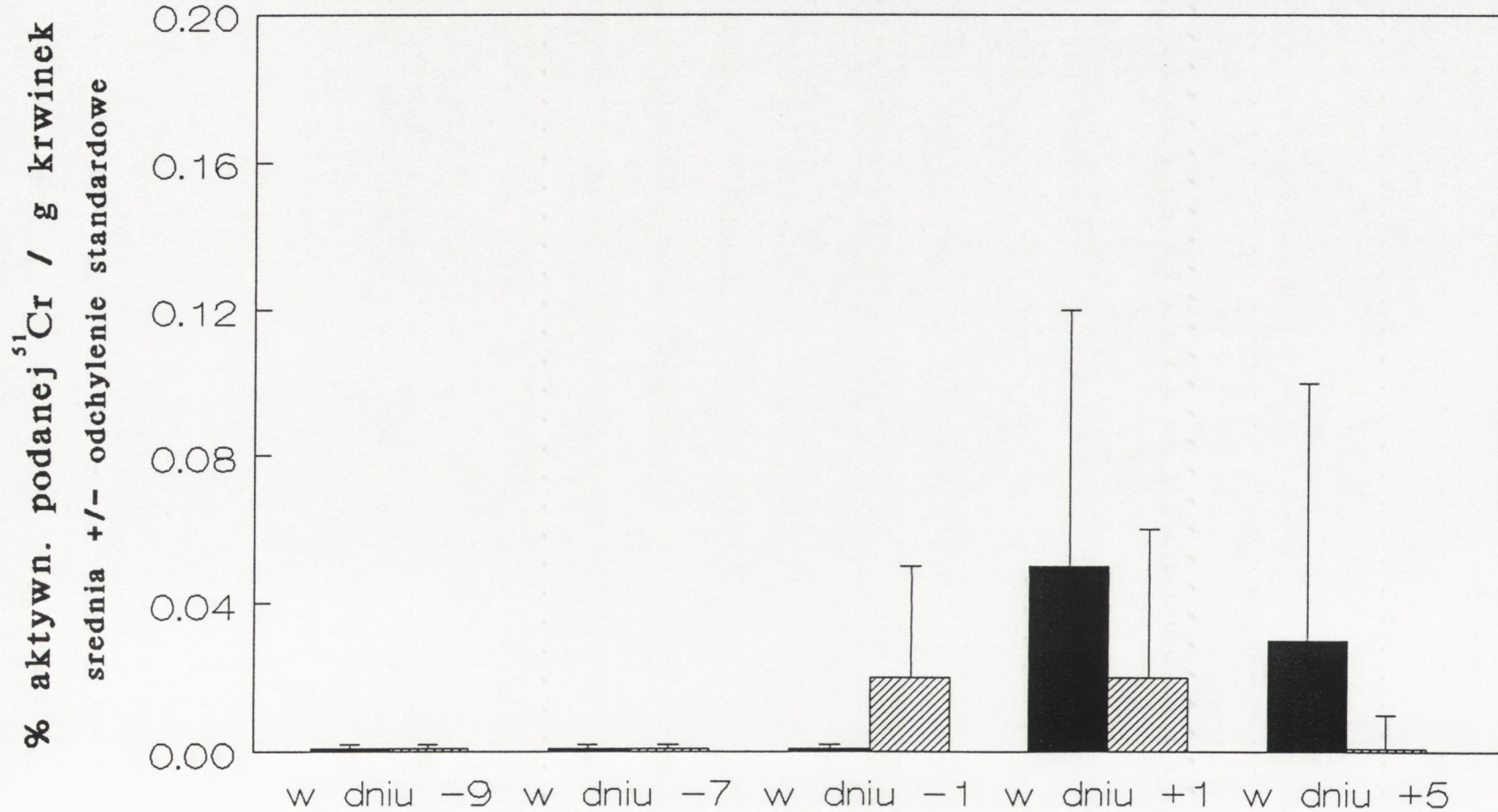
Rycina III. Grupy 13, 14, 15



Rycina IV. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin albosurowicy Wistar anti-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

■ grupa doświadcz. ▨ grupa kontrolna

Rozmieszczenie antygenu (splenocyty szczura szczepu August)



- 117 -

Rycina V. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

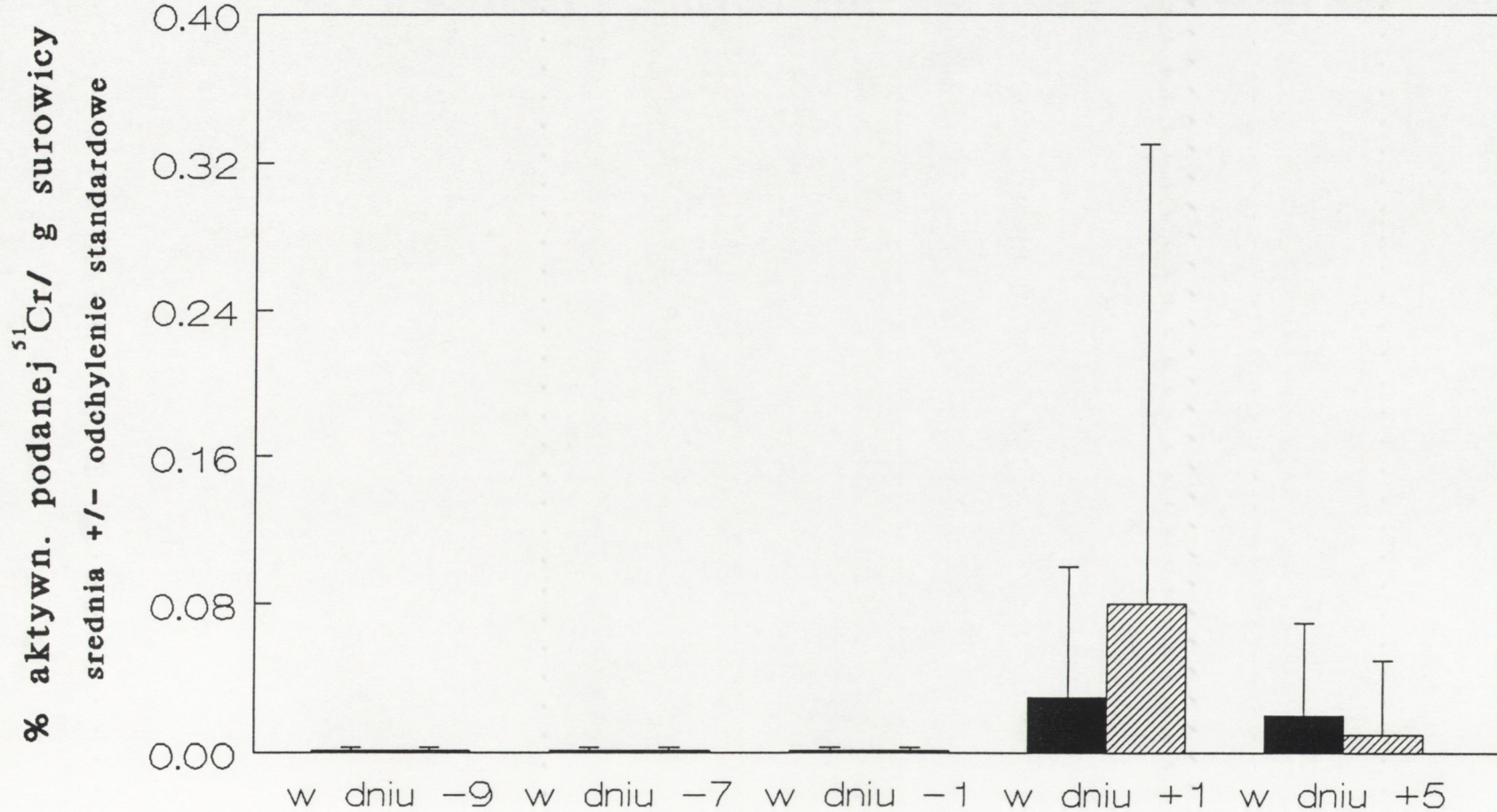
■ grupa

▨ grupa

doswiadcz.

kontrolna

Rozmieszczenie antygeny (splenocyty szczura szczepu August)

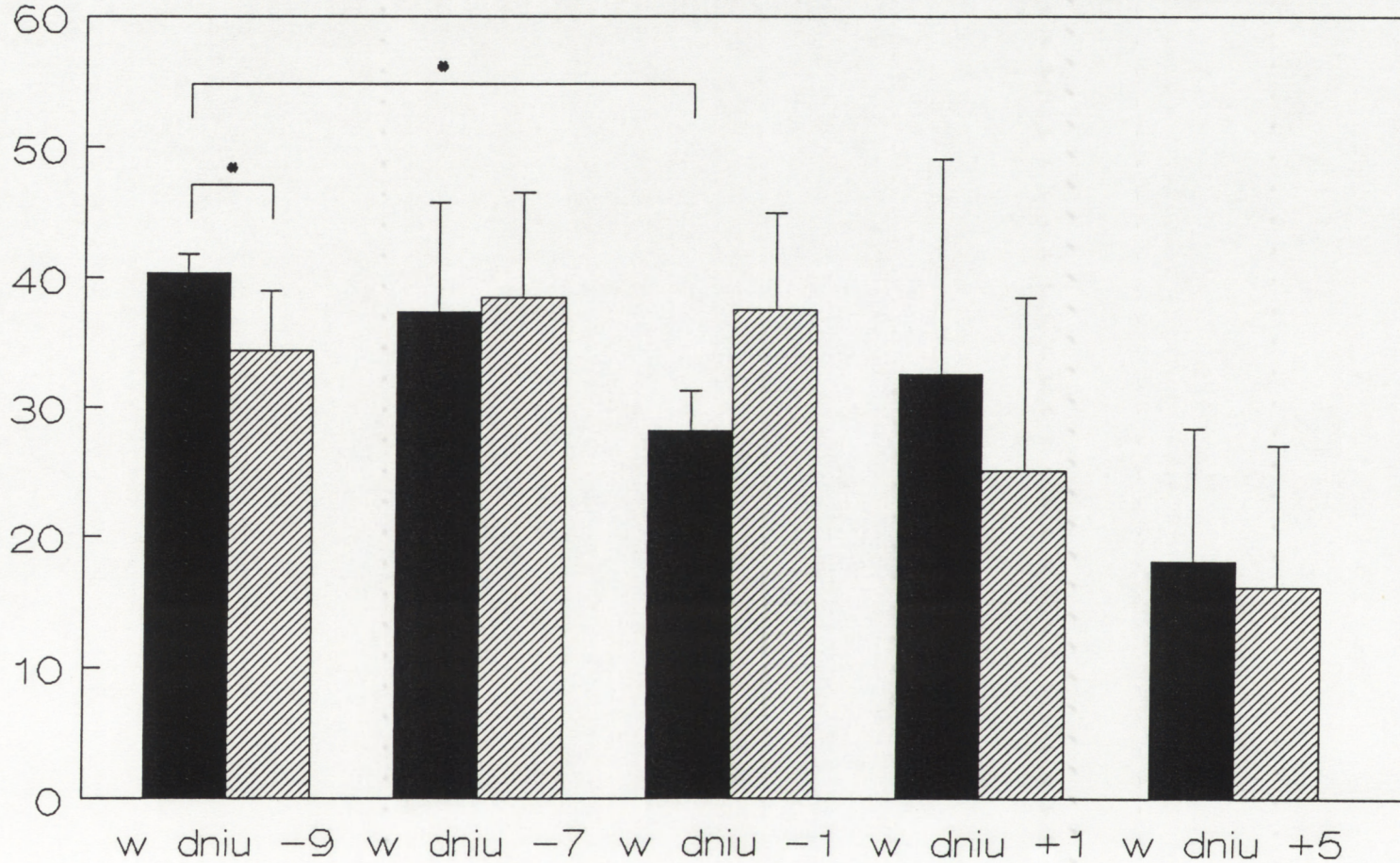


Rycina VI. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anti-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna
 * $p < 0,05$

Rozmieszczenie antygeny (splenocyty szczura szczepu August)

% aktywn. podanej ^{51}Cr / g narzadu
srednia +/- odchylenie standardowe



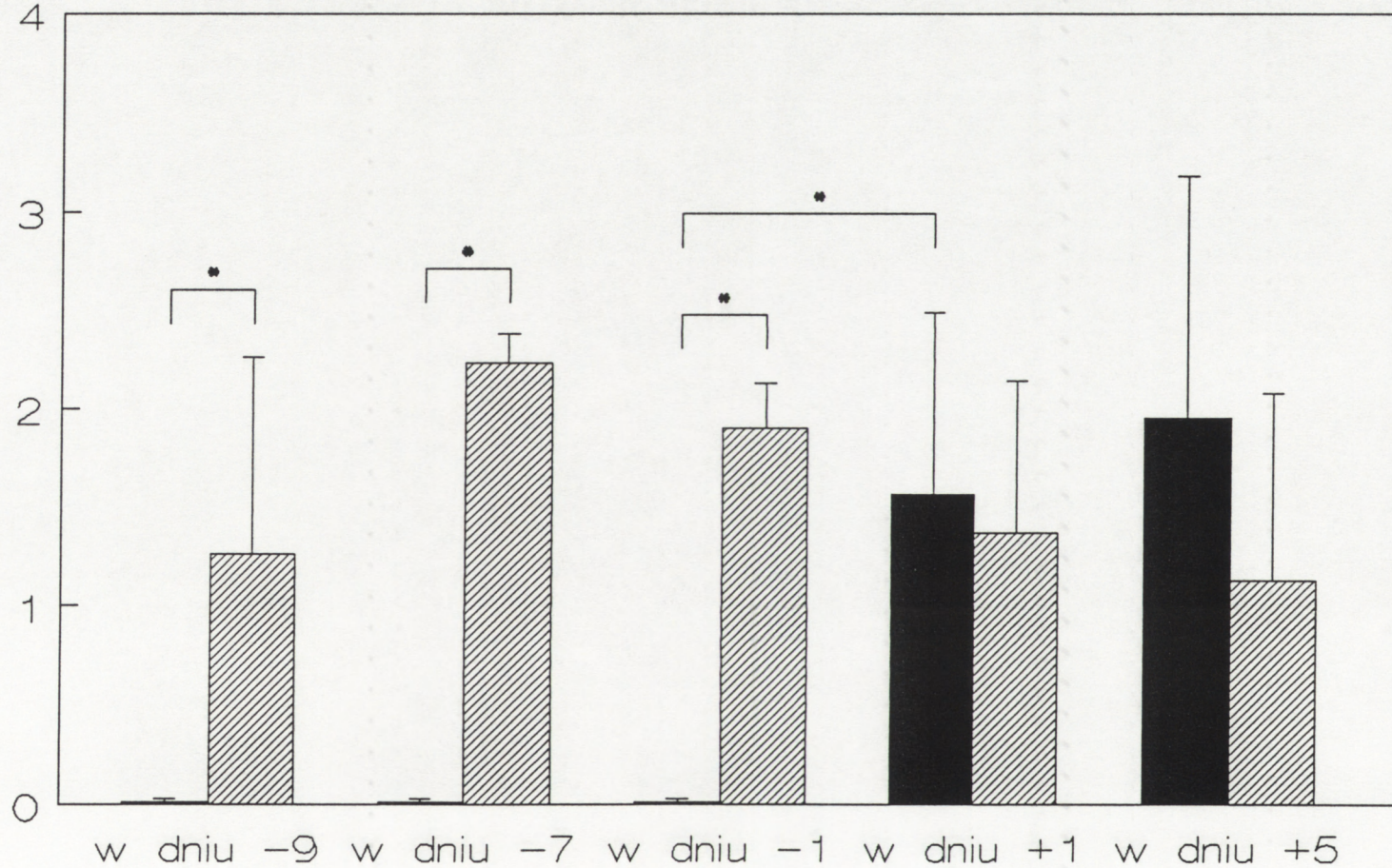
Rycina VII. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komerek śledziona szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anti-August (kontrola - komórki śledziona szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna

* $p < 0,05$

Rozmieszczenie antygeny (splenocyty szczura szczepu August)

% aktywn. podanej ^{51}Cr / g narzadu
 srednia +/- odchylenie standardowe

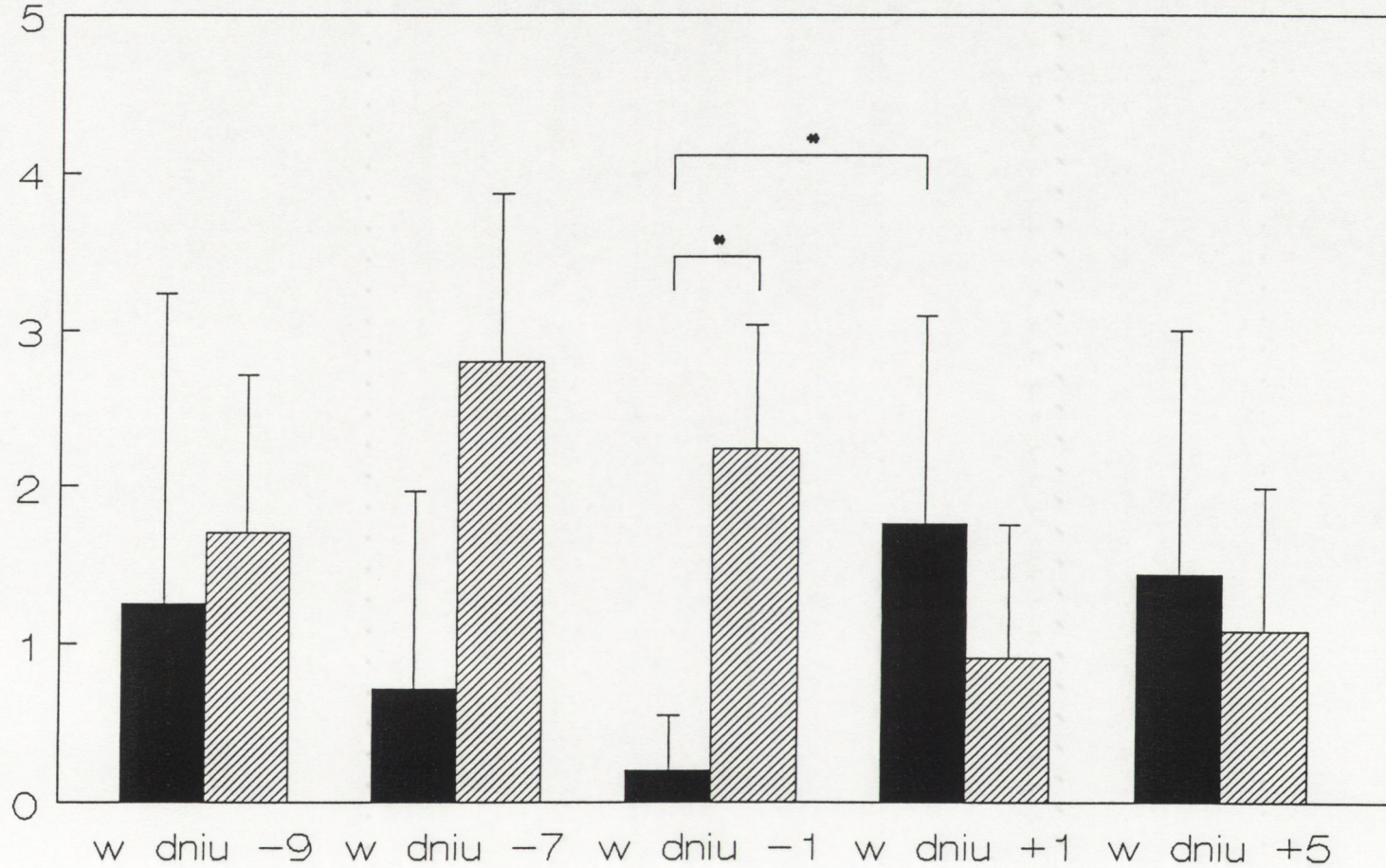


Rycina VIII. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komerek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna * $p < 0,05$

Rozmieszczenie antygeny (splenocyty szczura szczepu August)

% aktywn. podanej ^{51}Cr / g narzadu
 srednia +/- odchylenie standardowe



- 121 -

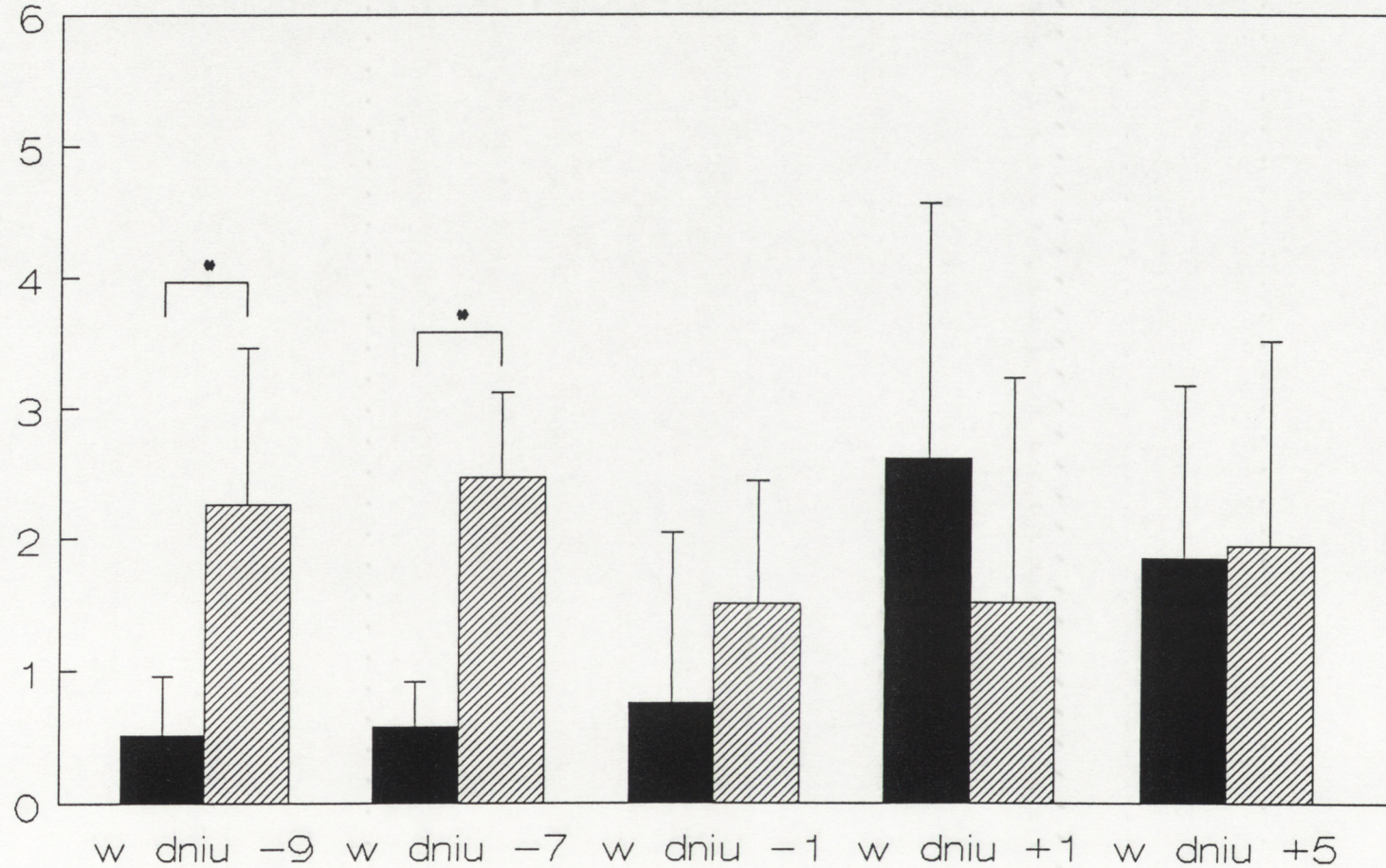
Rycina IX. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna

* $p < 0,05$

Rozmieszczenie antygeny (splenocyty szczura szczepu August)

% aktywn. podanej ^{51}Cr / g narzadu
 srednia +/- odchylenie standardowe



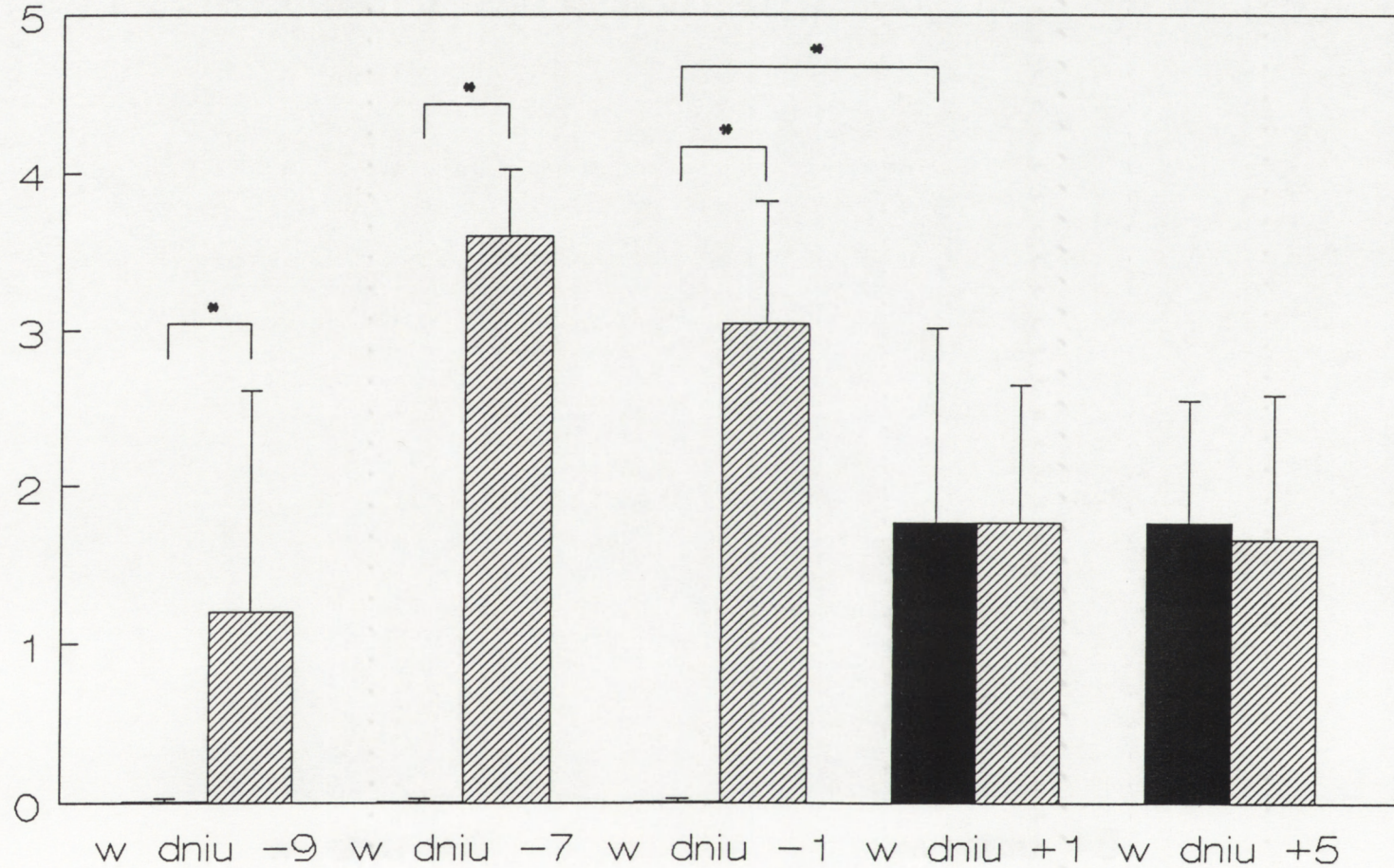
Rycina X. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna

* $p < 0,05$

Rozmieszczenie antygeny (splenocyty szczura szczepu August)

% aktywn. podanej ^{51}Cr / g narzadu
srednia +/- odchylenie standardowe



Rycina XI. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}I globulin allosurowicy Wistar anti-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

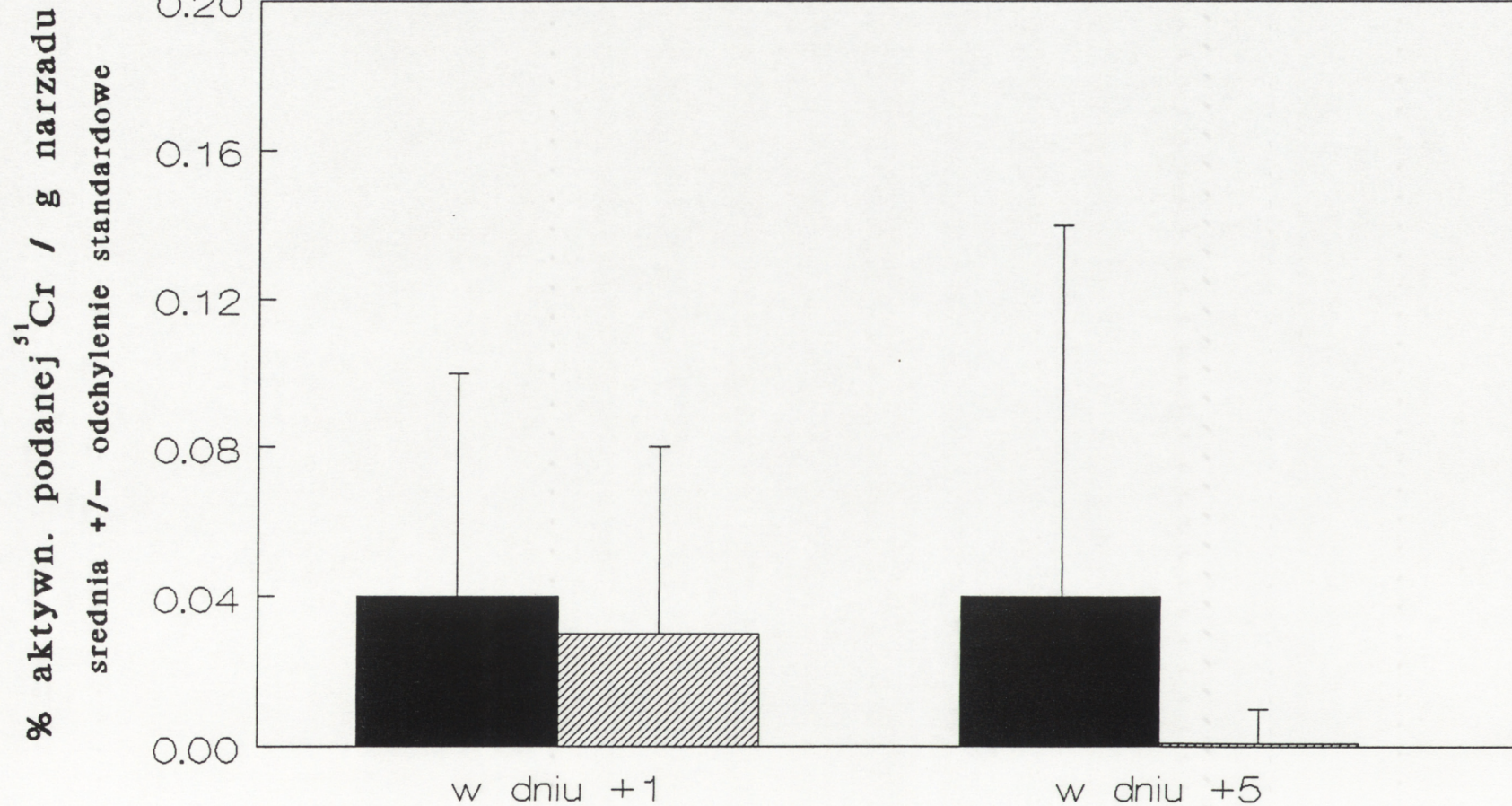
■ grupa

▨ grupa

doswiadcz.

kontrolna

Rozmieszczenie antygenu (splenocyty szczura szczepu August)



Rycina XII. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anti-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

■ grupa

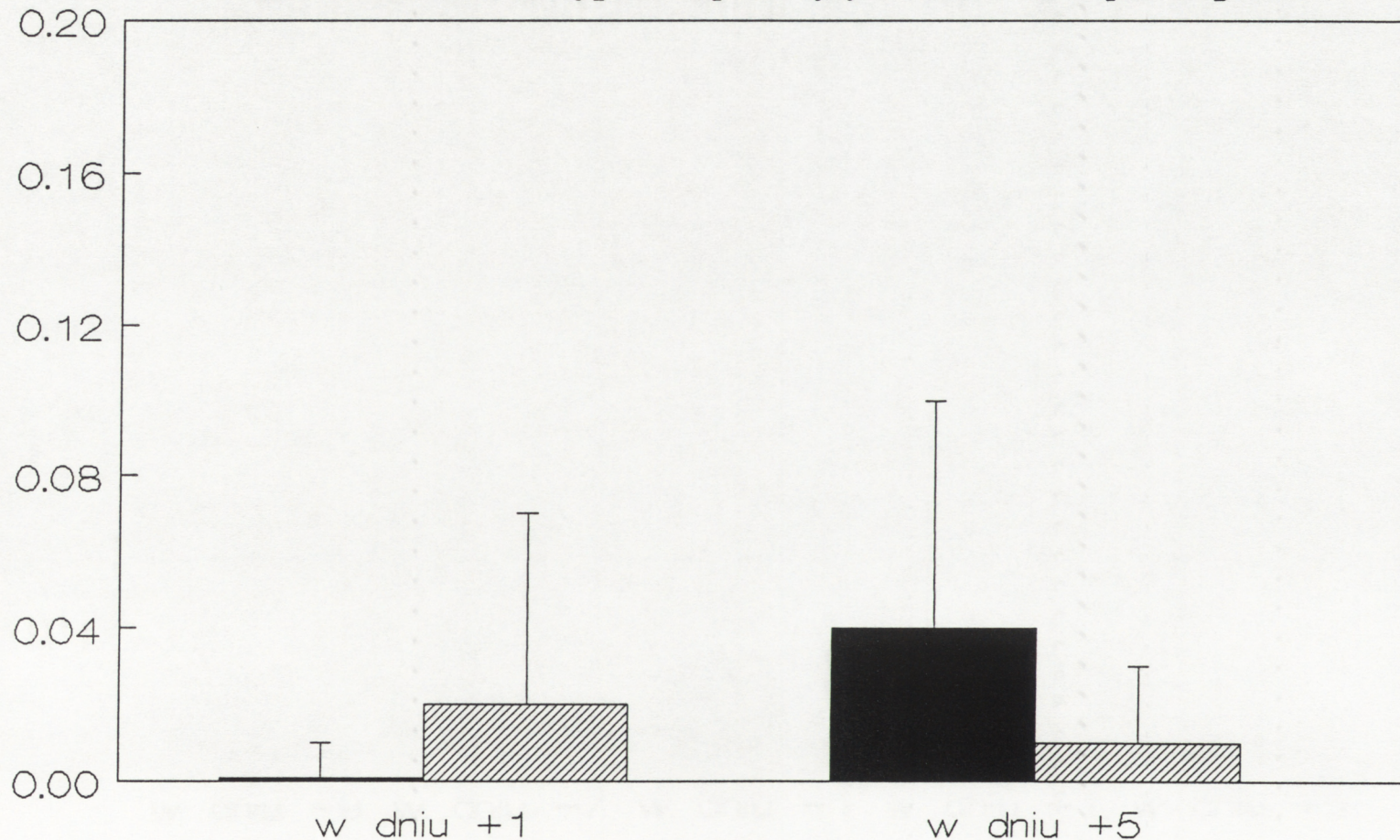
▨ grupa

doswiadcz.

kontrolna

Rozmieszczenie antygenu (splenocyty szczura szczepu August)

% aktywn. podanej ^{51}Cr / g narządu
średnia +/- odchylenie standardowe

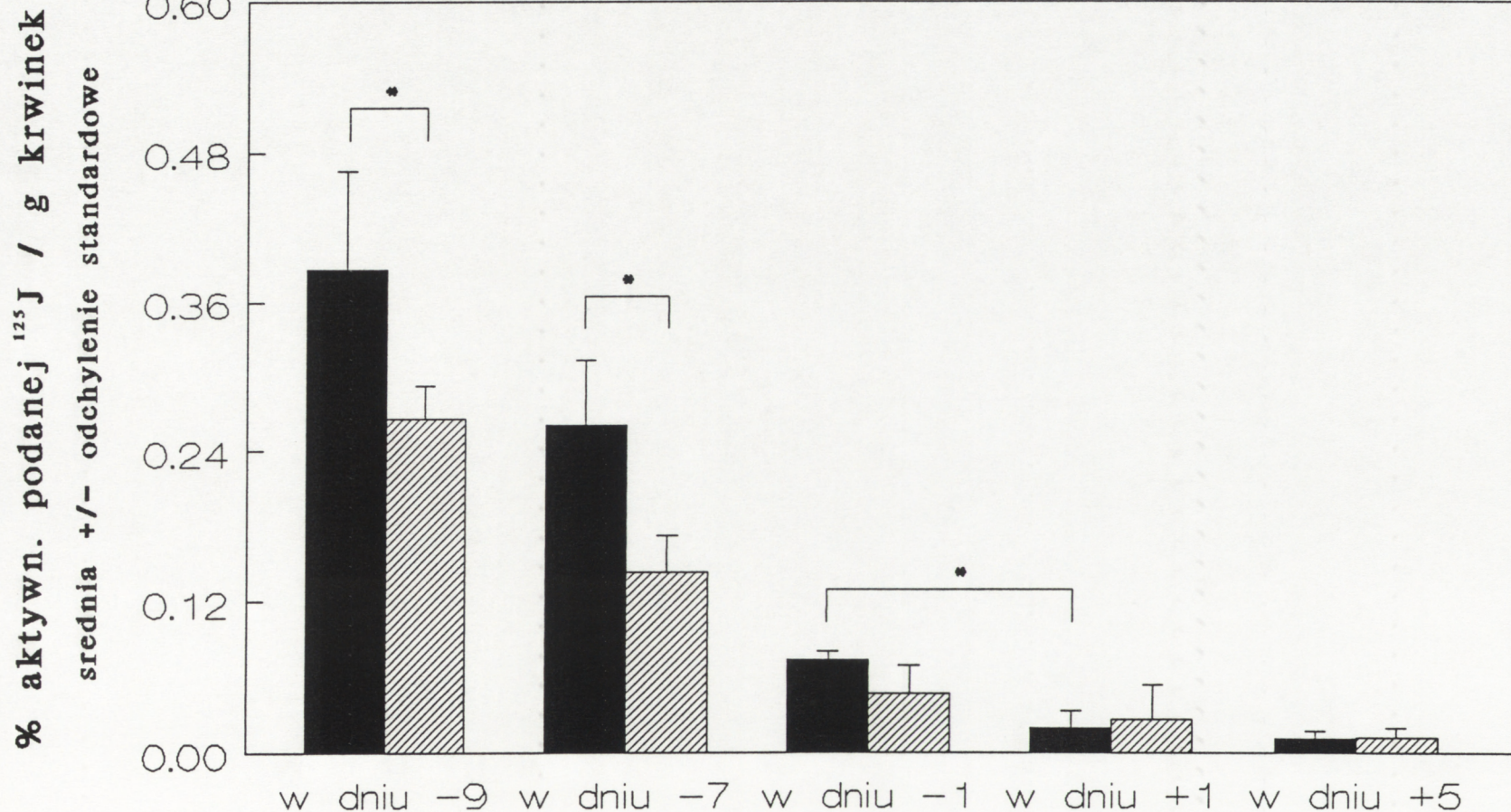


- 125 -

Rycina XIII. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}I globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skórę szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna * $p < 0,05$

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)



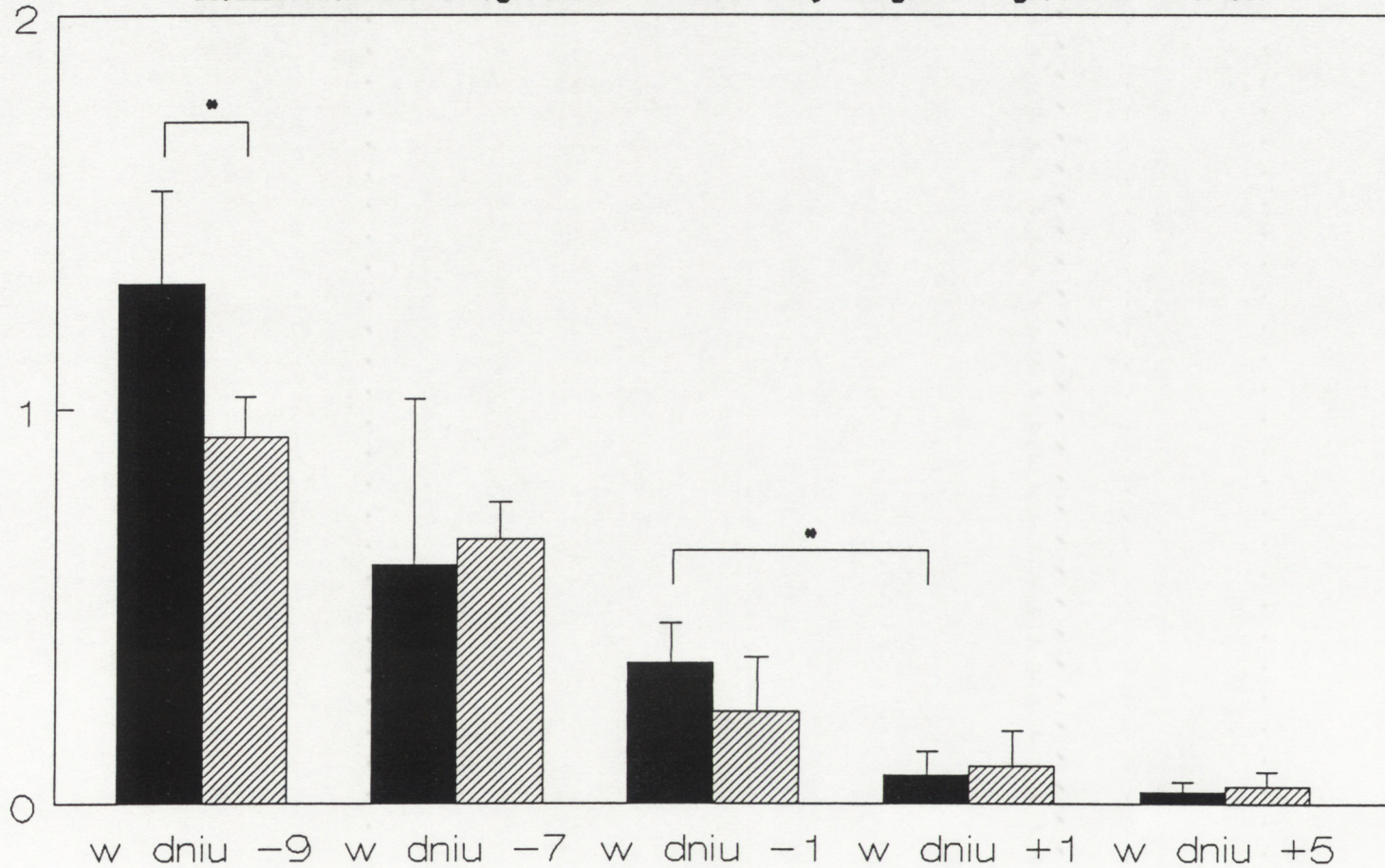
Rycina XIV. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna

* $p < 0,05$

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)

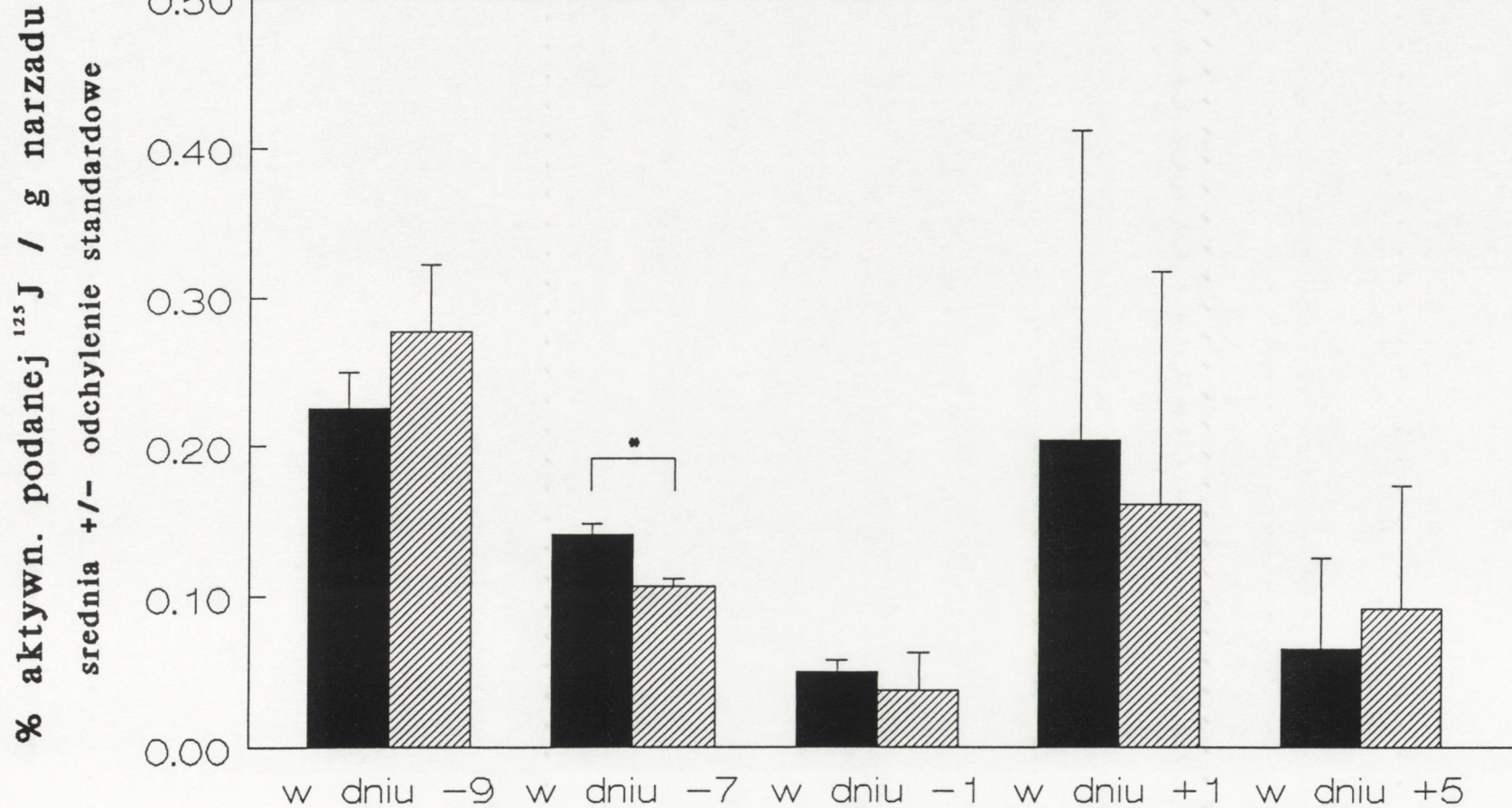
% aktywn. podanej ^{125}J / g surowicy
 srednia +/- odchylenie standardowe



Rycina XV. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}I globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna * $p < 0,05$

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)

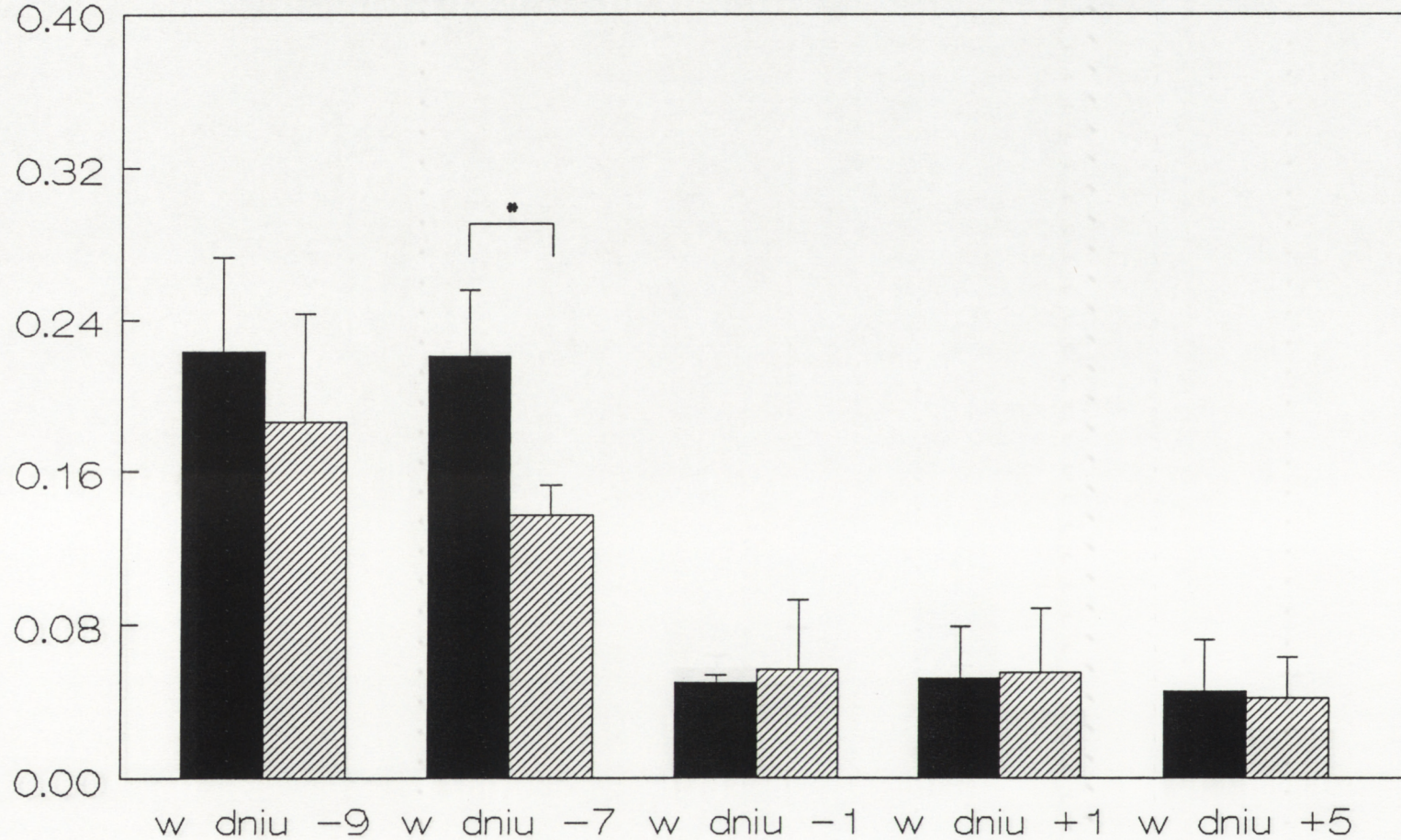


Rycina XVI. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August. w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August. globuliny surowicy szczura szczepu Wistar). w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

■ grupa doświadcz. ▨ grupa kontrolna * $p < 0,05$

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)

% aktywn. podanej ^{125}J / g narządu
średnia +/- odchylenie standardowe

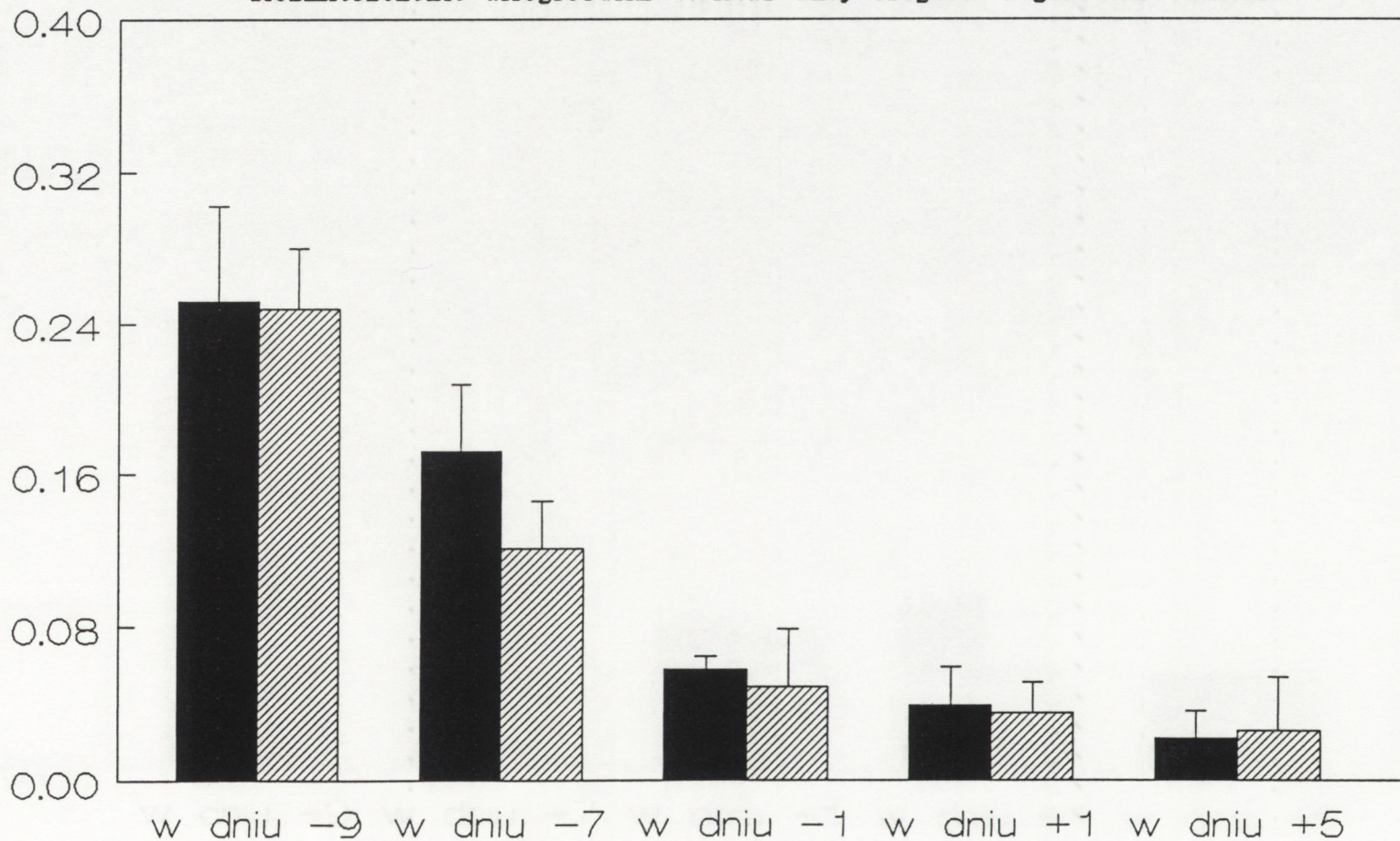


Rycina XVII. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

■ grupa doswiadcz. ▨ grupa kontrolna

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)

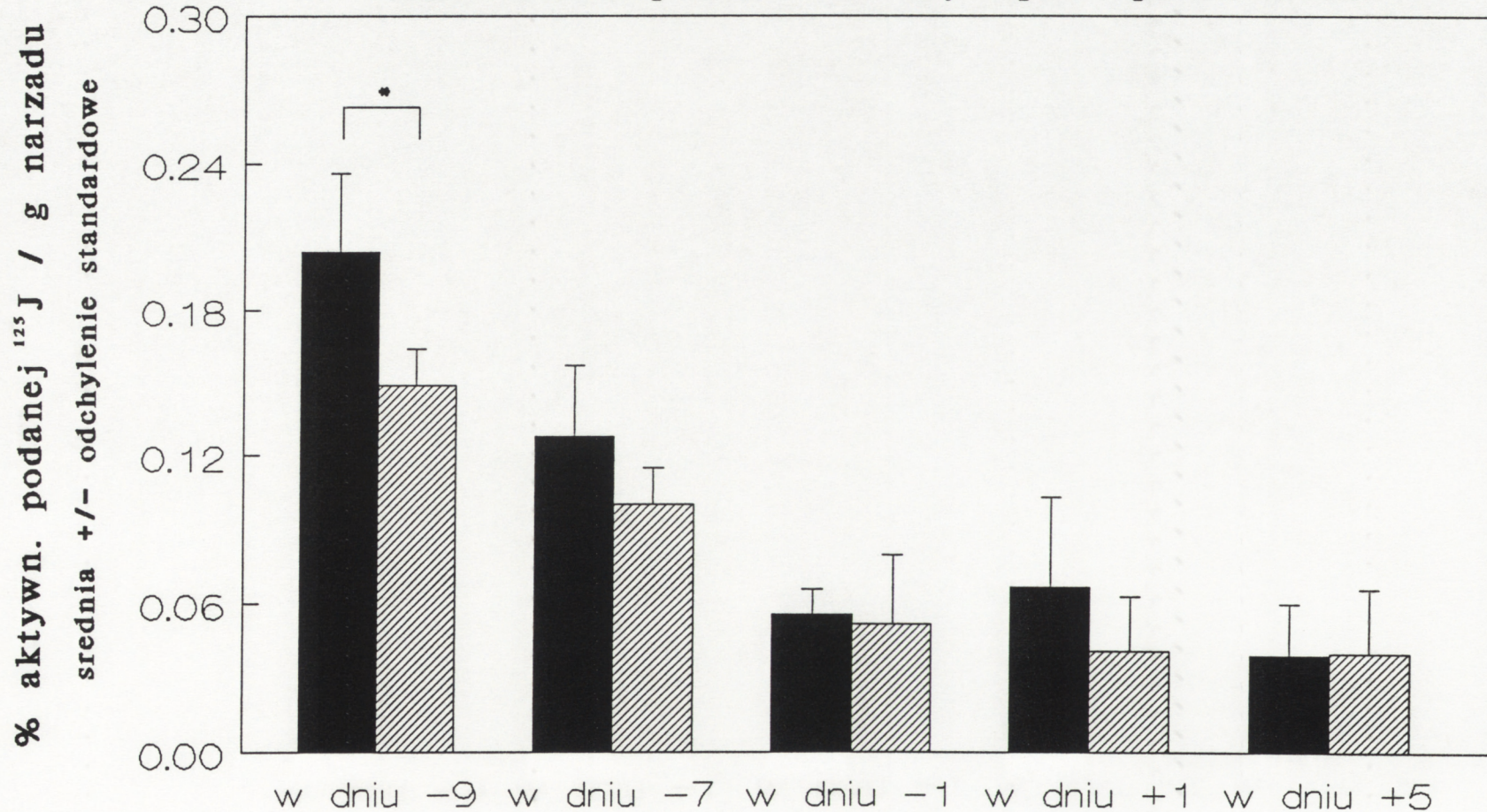
% aktywn. podanej ^{125}J / g narzadu
srednia +/- odchylenie standardowe



Rycina XVIII. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna * $p < 0,05$

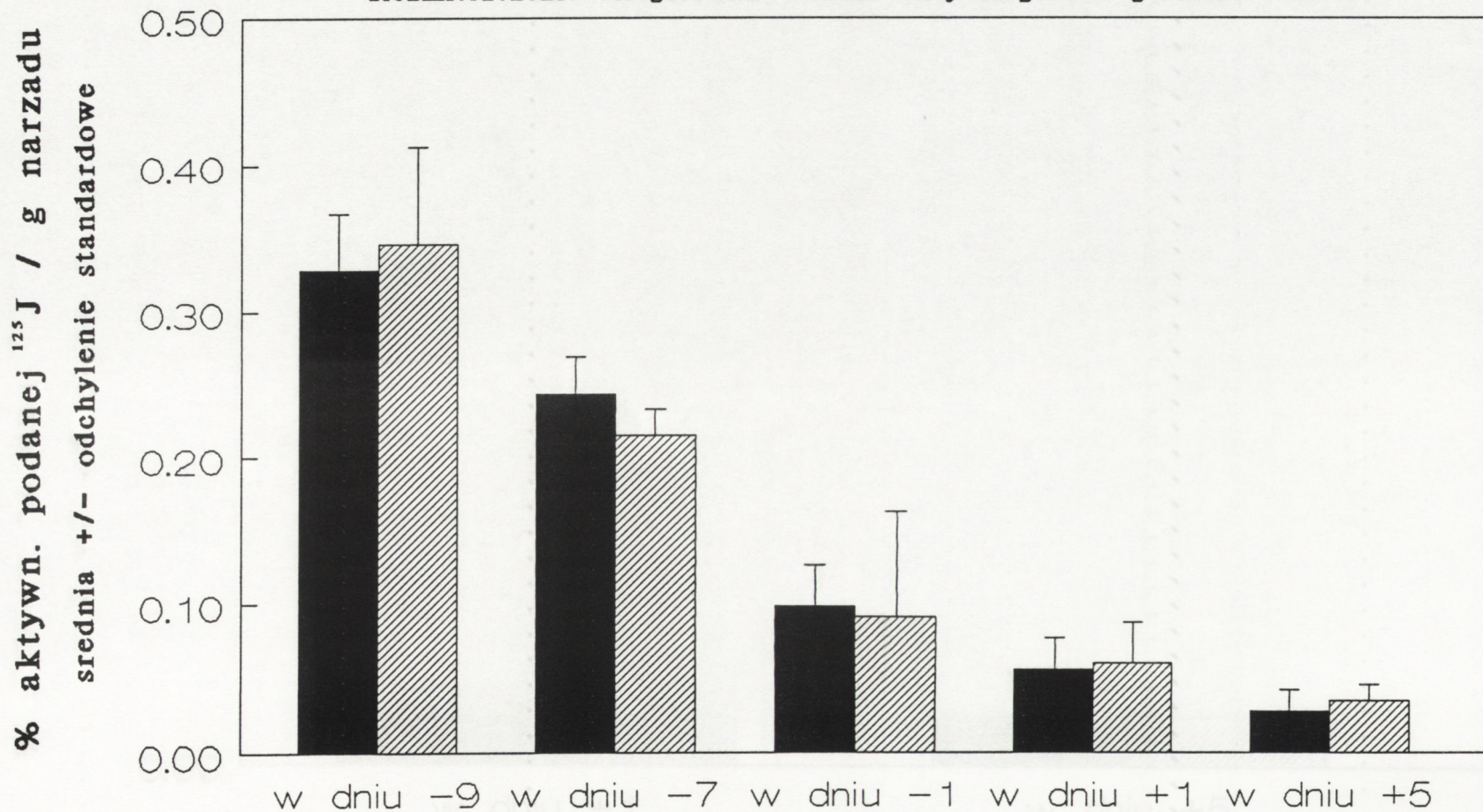
Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)



Rycina XIX. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

■ grupa doświadcz. ▨ grupa kontrolna

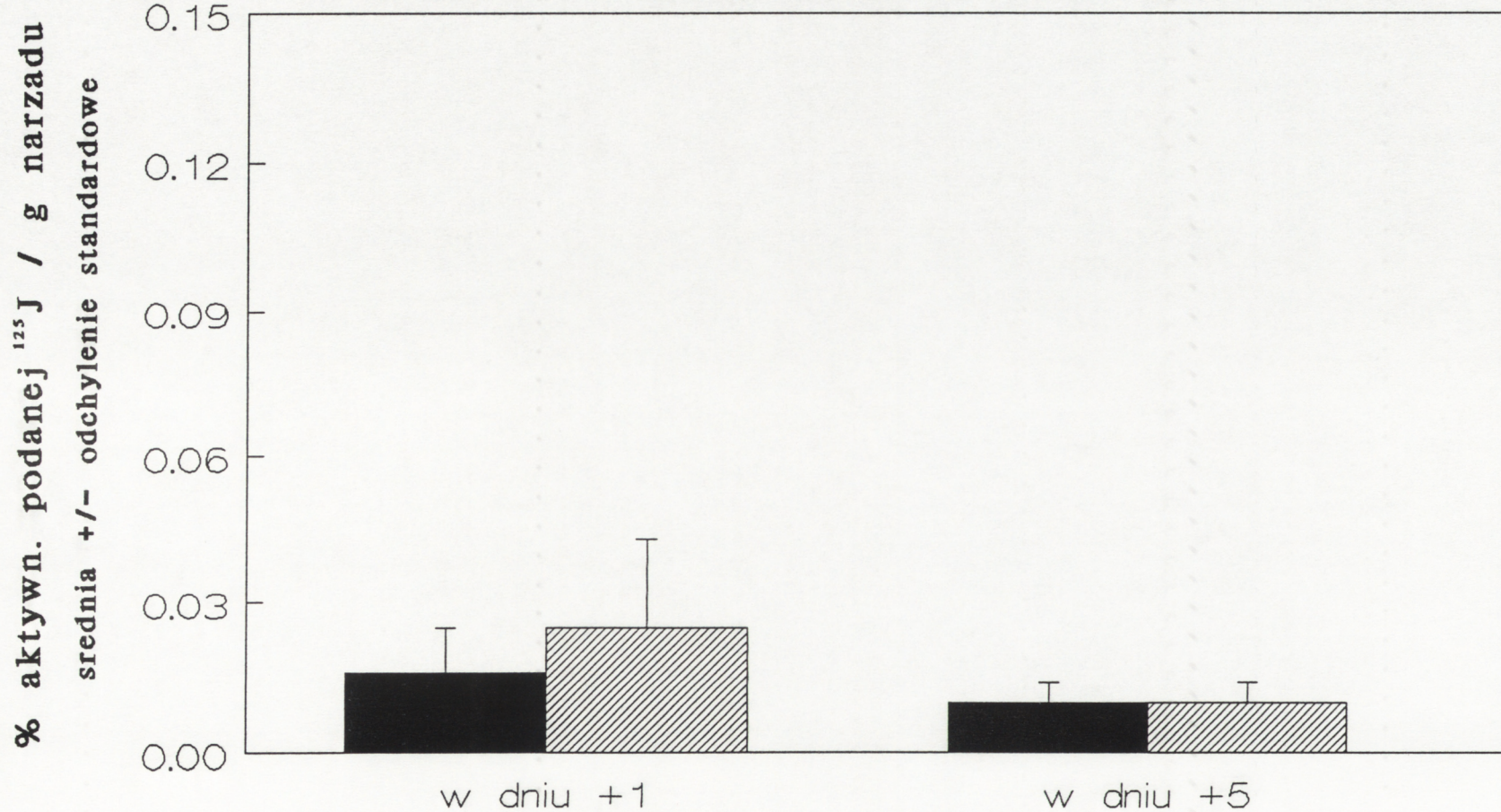
Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)



Rycina XX. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}I globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar) w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)

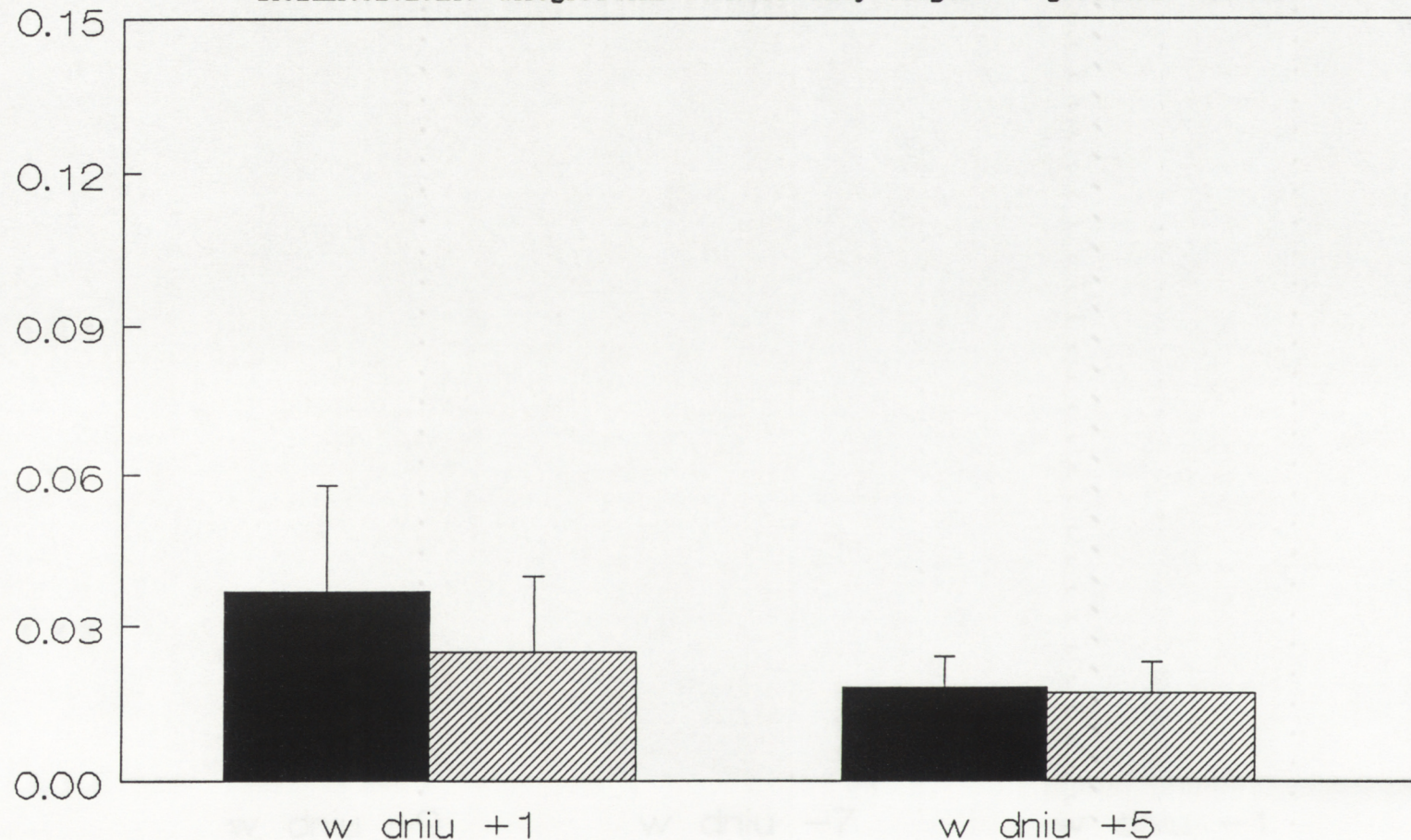


Rycina XXI. Grupy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Biorca Wistar. W dniu -11 podano dożylnie 1.5×10^7 znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu August, w dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu August, globuliny surowicy szczura szczepu Wistar), w dniu 0 przeszczepiono serce i/lub skóre szczura szczepu August

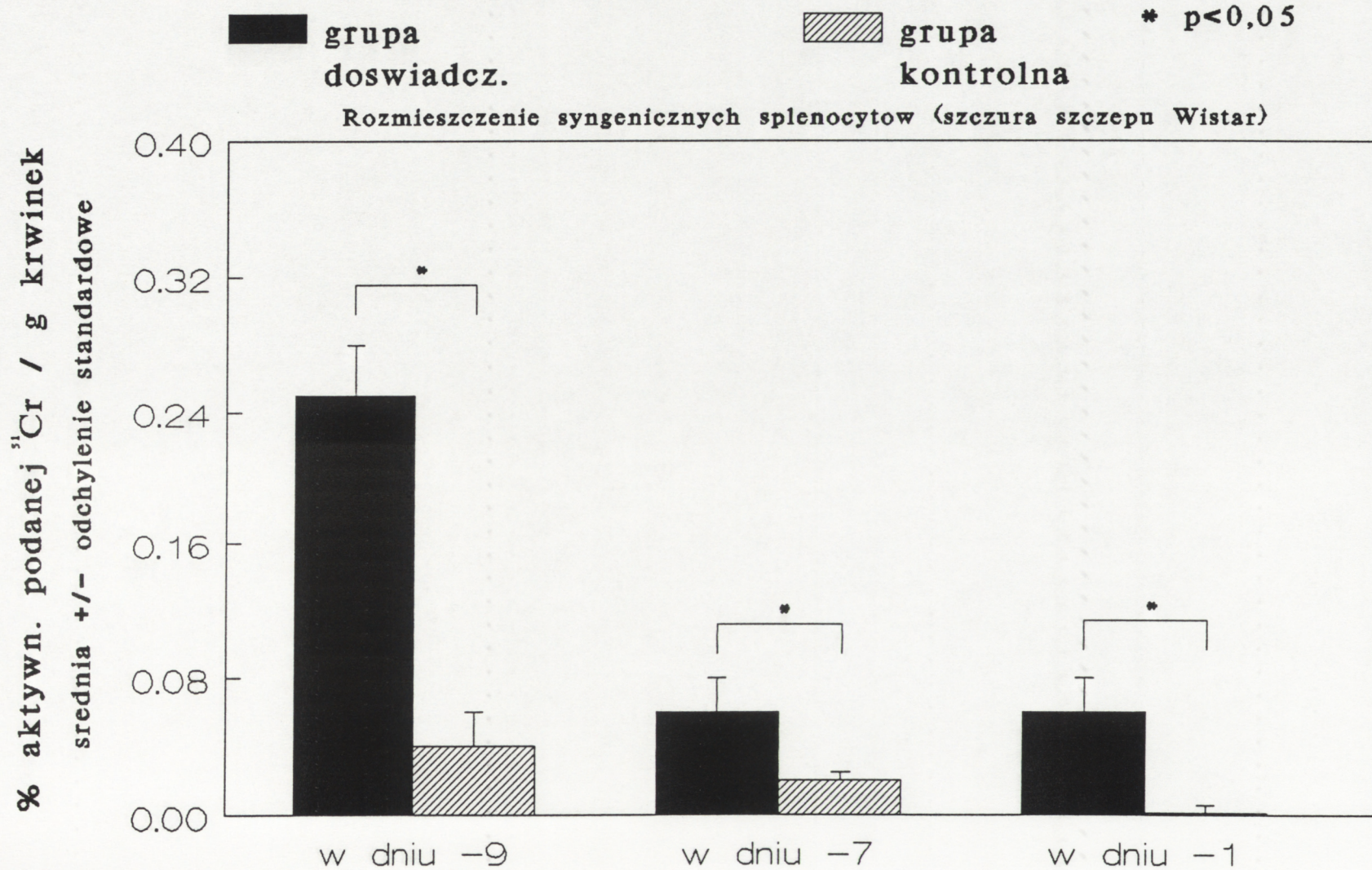
grupa doswiadcz.
 grupa kontrolna

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar)

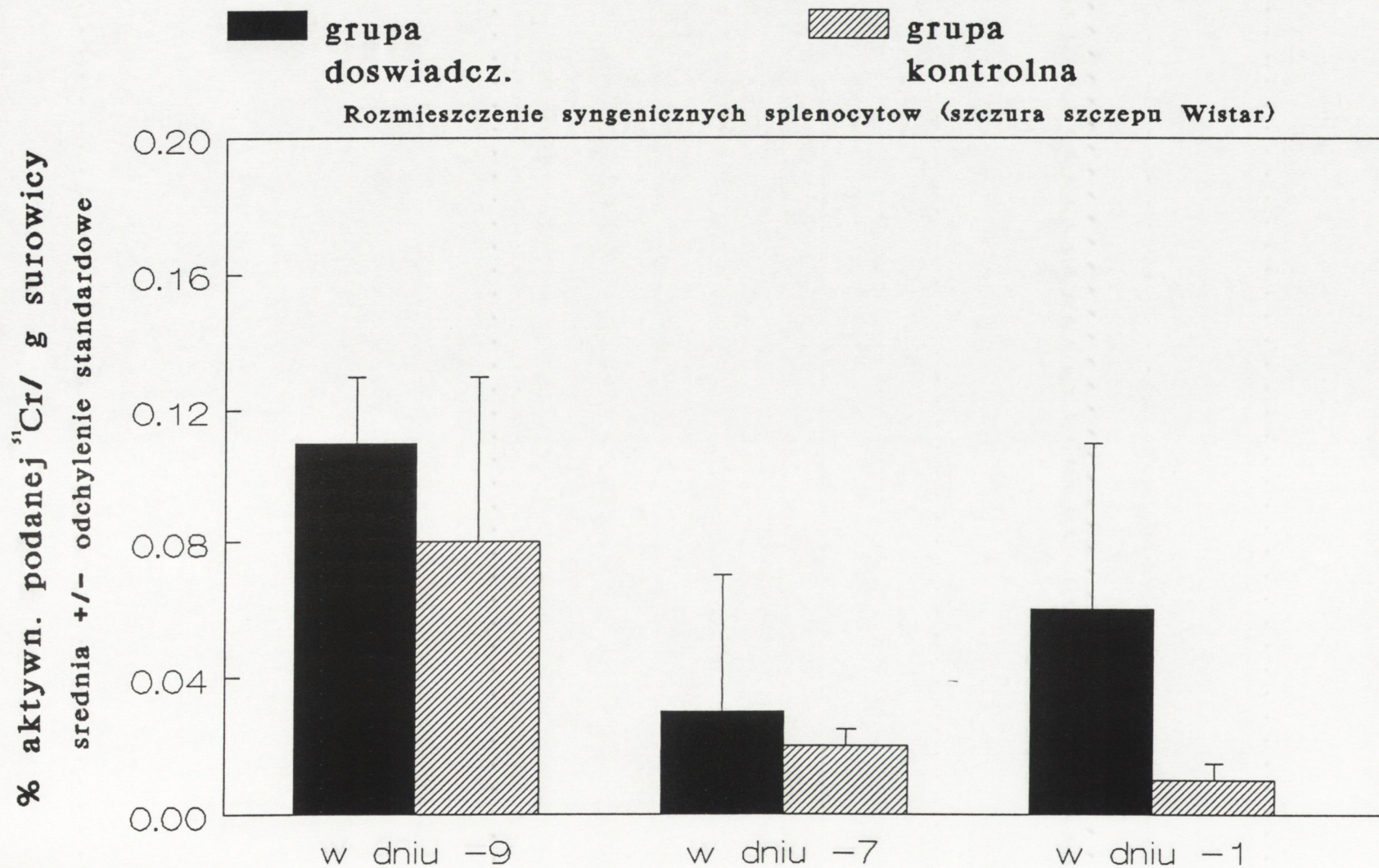
% aktywn. podanej ^{125}J / g narzadu
 srednia +/- odchylenie standardowe



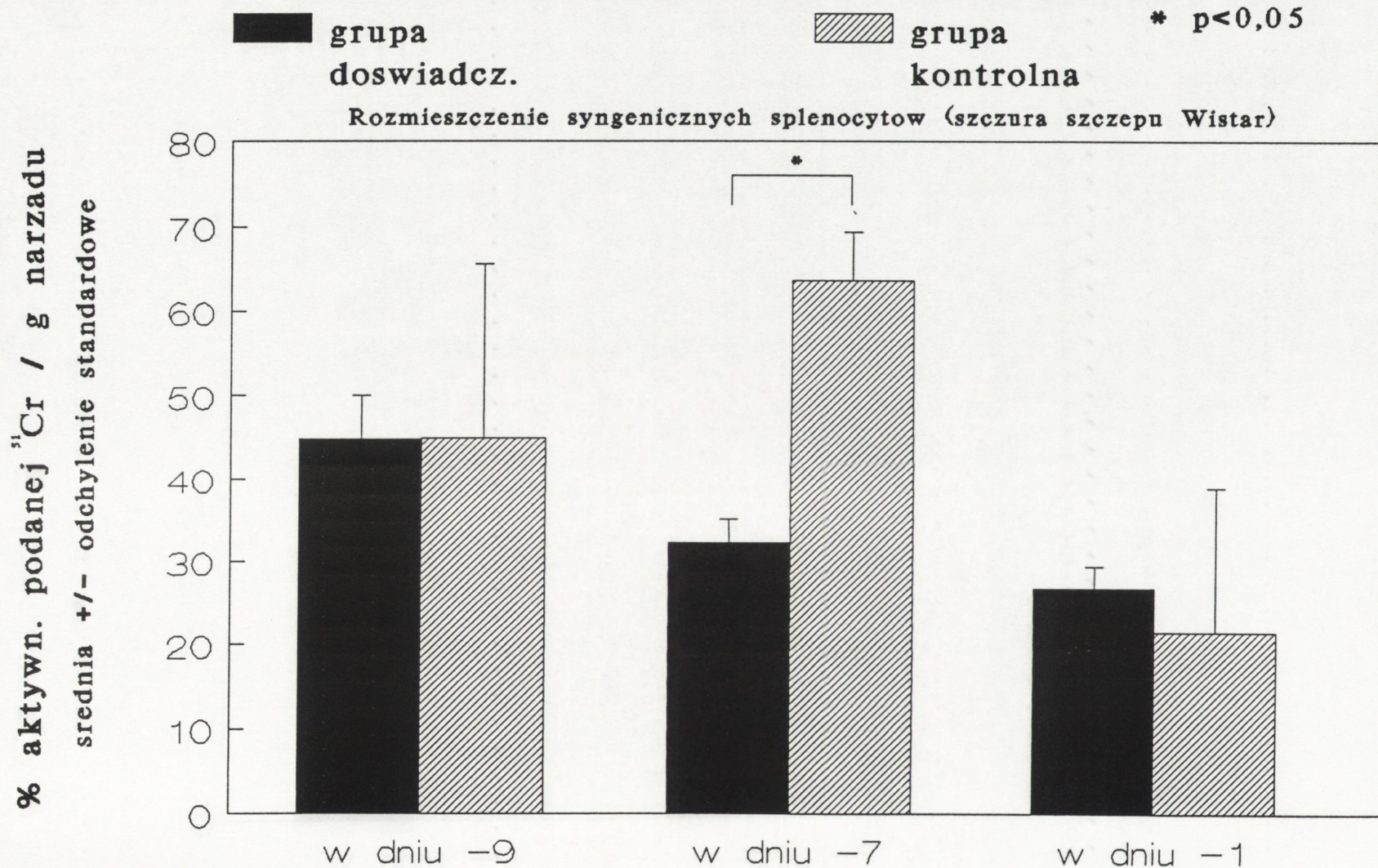
Rycina XXII. Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar)



Rycina XXIII. Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anti-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar)



Rycina XXIV. Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar)



Rycina XXV. Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek sledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki sledziony szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar)

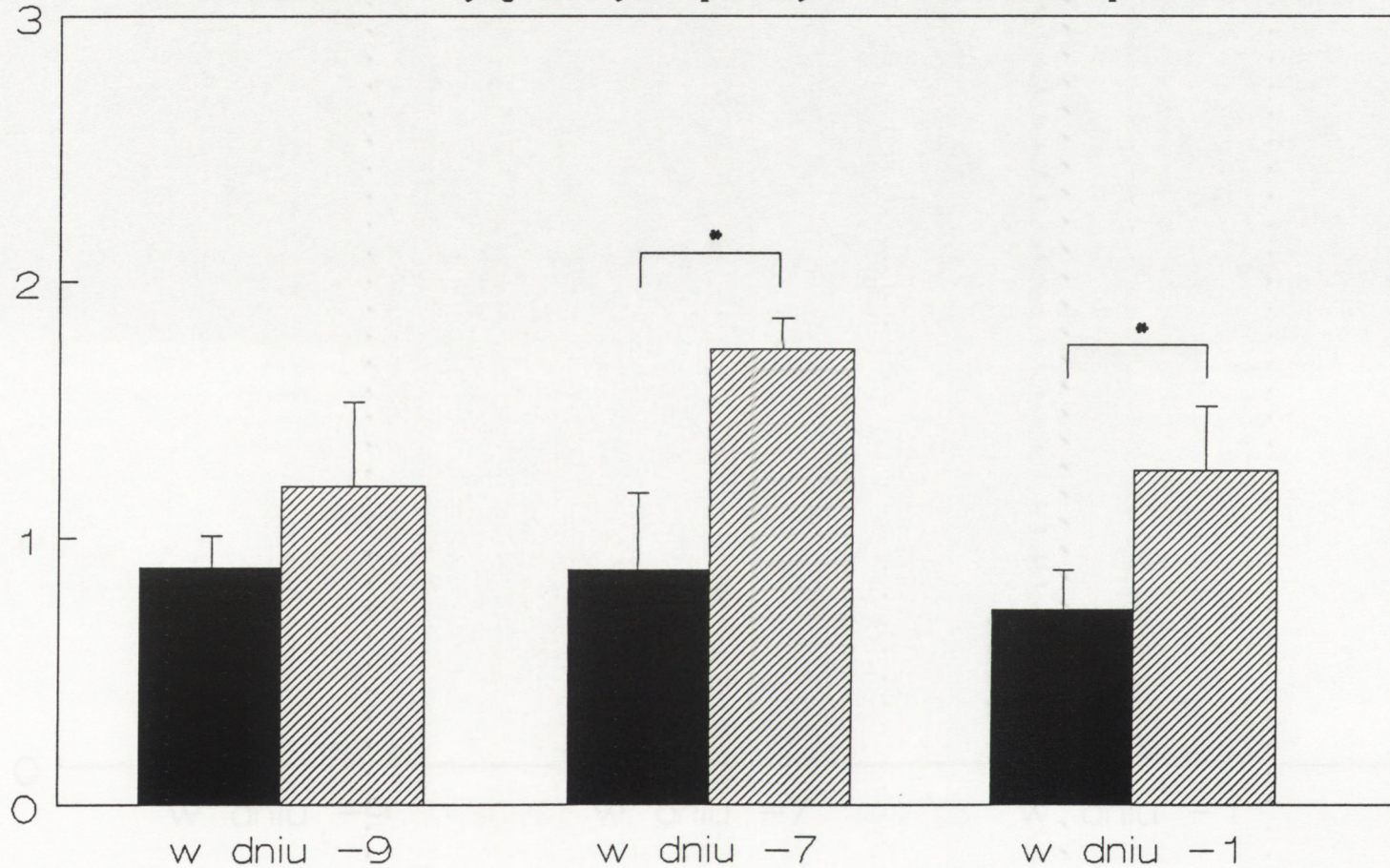
■ grupa
doswiadcz.

▨ grupa
kontrolna

* $p < 0,05$

Rozmieszczenie syngenicznych splenocytów (szczura szczepu Wistar)

% aktywn. podanej ^{51}Cr / g narzadu
srednia +/- odchylenie standardowe

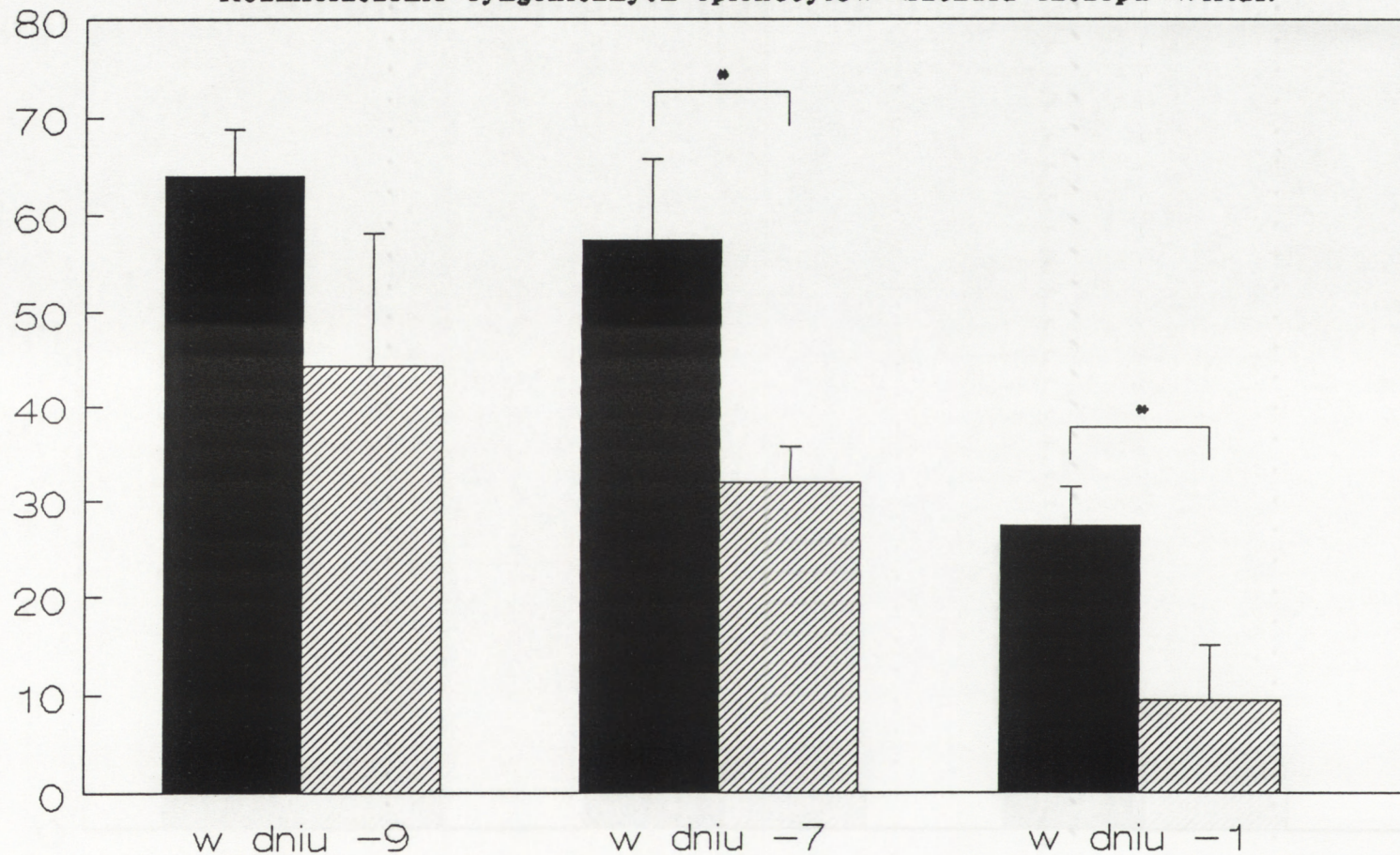


Rycina XXVI. Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar)

■ grupa doswiadcz. ▨ grupa kontrolna * $p < 0,05$

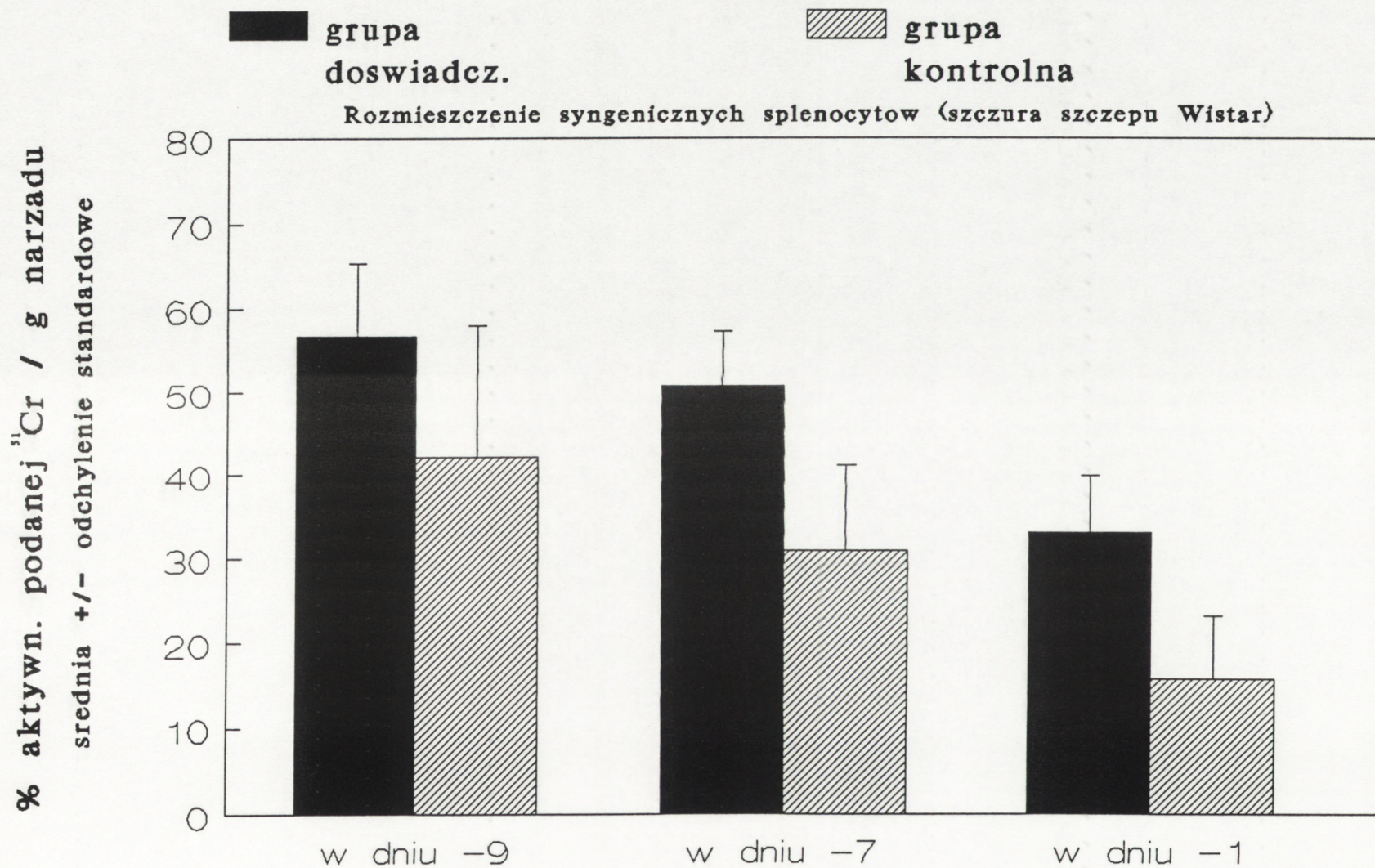
Rozmieszczenie syngenicznych splenocytów (szczura szczepu Wistar)

% aktywn. podanej ^{51}Cr / g narzadu
srednia +/- odchylenie standardowe

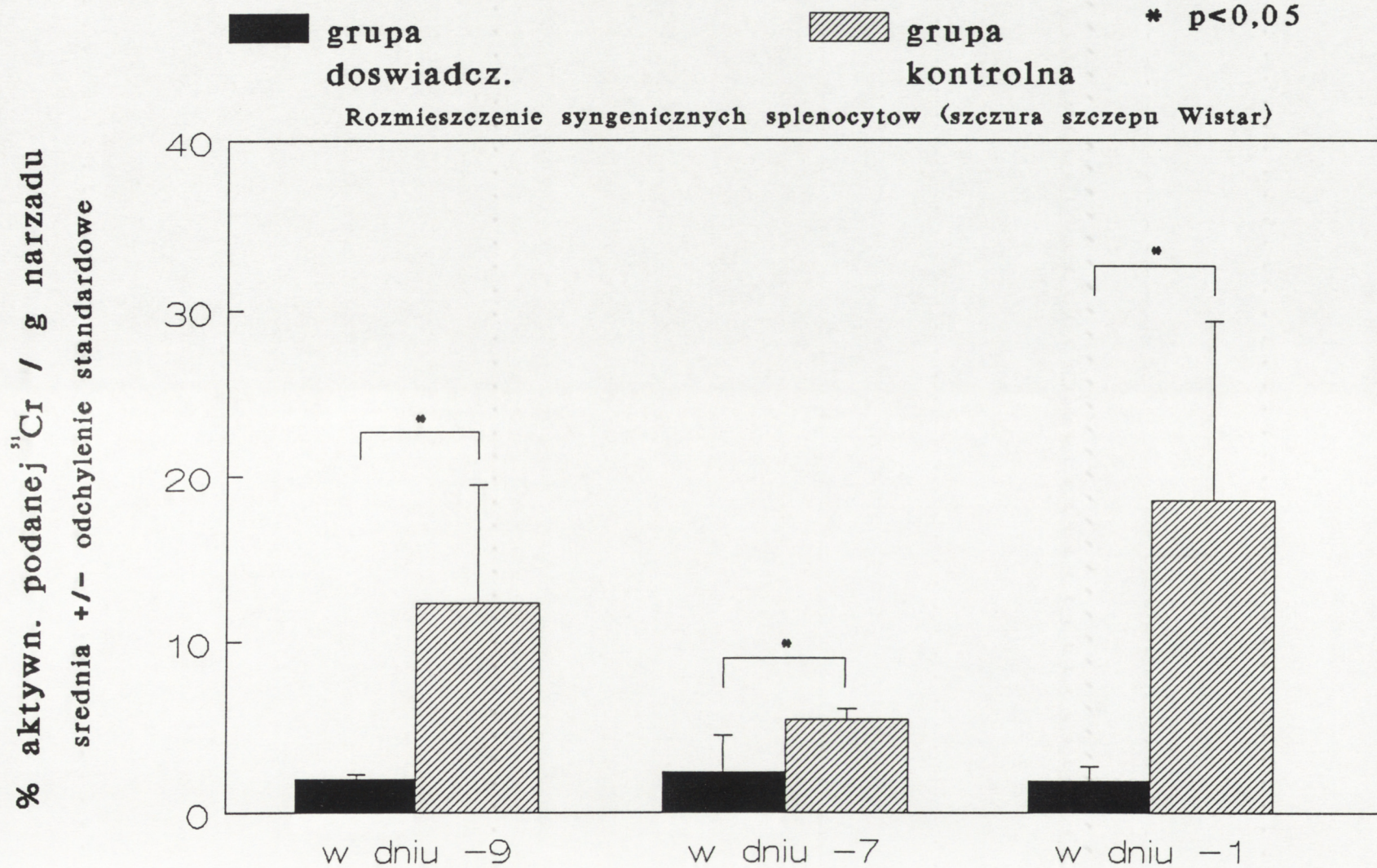


krezkowe wezly chlonne

Rycina XXVII. Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar)



Rycina XXVIII. Grupy 10, 11, 12. Biorca Wistar. W dniu -10 podano dożylnie $1,5 \times 10^7$ znakowanych ^{51}Cr komórek śledziony szczura szczepu Wistar i 1 ml allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - komórki śledziony szczura szczepu Wistar, surowica szczura szczepu Wistar)



Rycina XXIX. Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar)

■ grupa

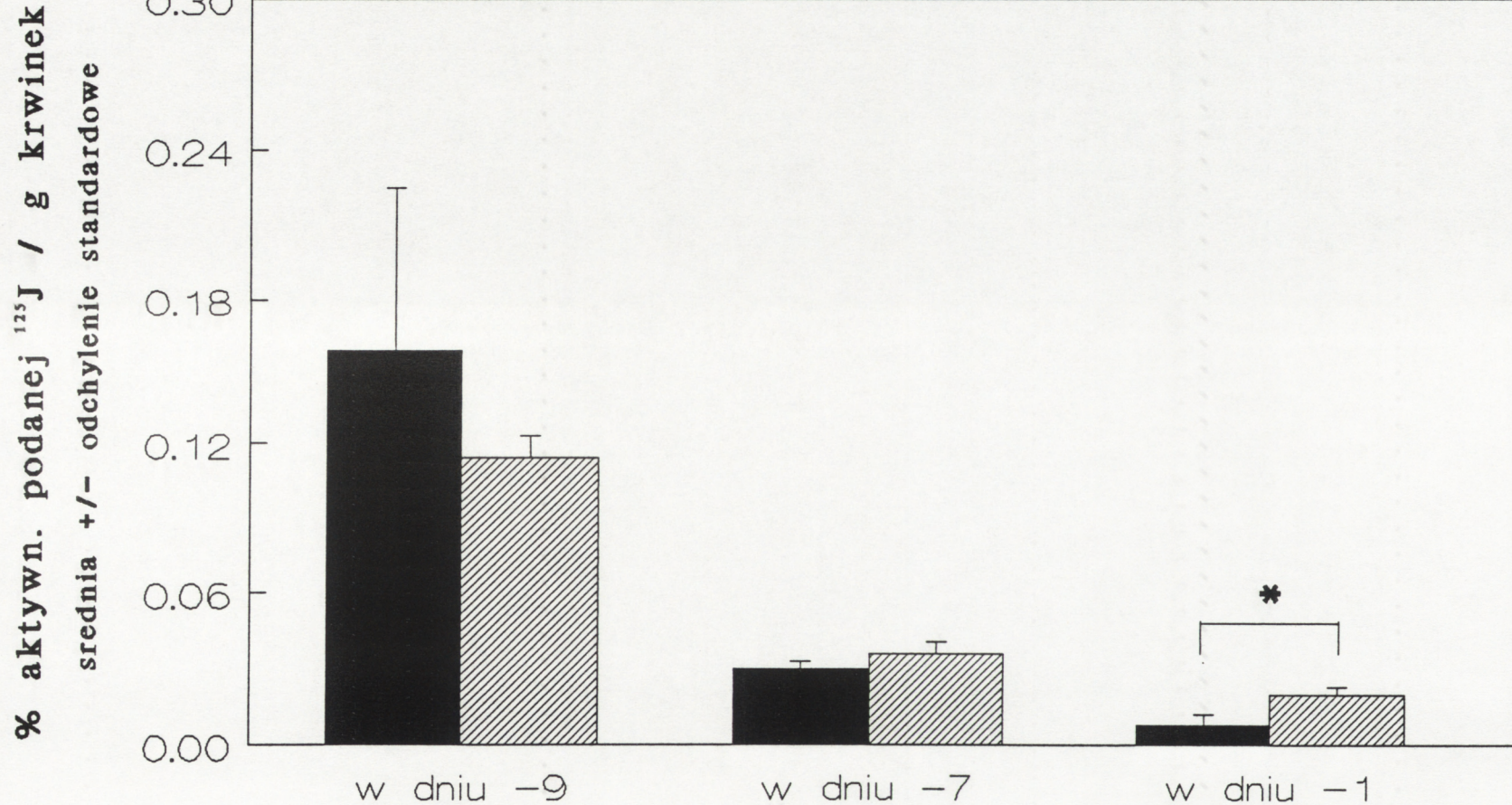
▨ grupa

* $p < 0,05$

doswiadcz.

kontrolna

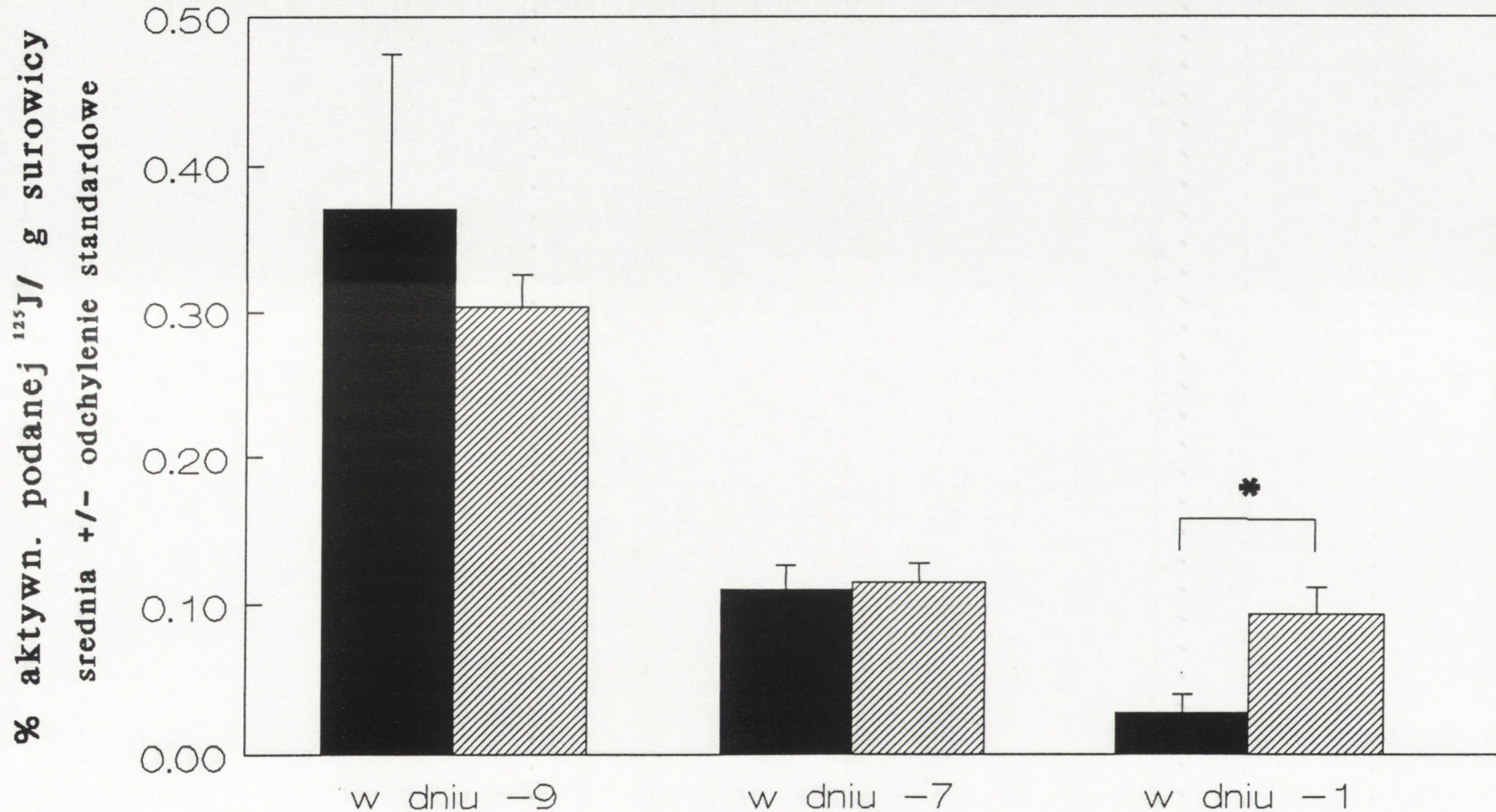
Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August i globulin (Wistar) u szczura szczepu August



Rycina XXX. Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar)

■ grupa doświadcz. ▨ grupa kontrolna * $p < 0,05$

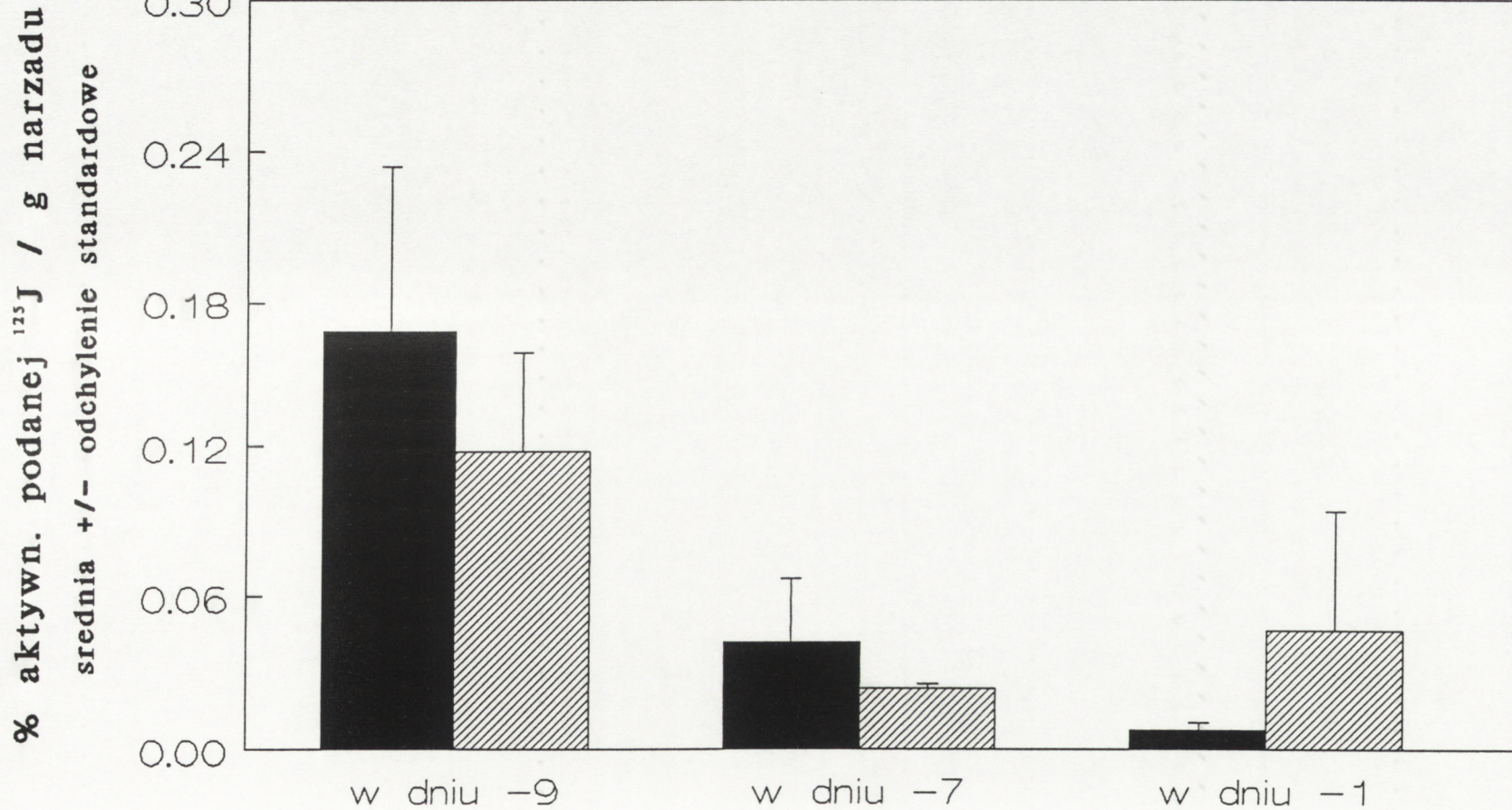
Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August



Rycina XXXI. Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar)

■ grupa doswiadcz. ▨ grupa kontrolna

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) u szczura szczepu August

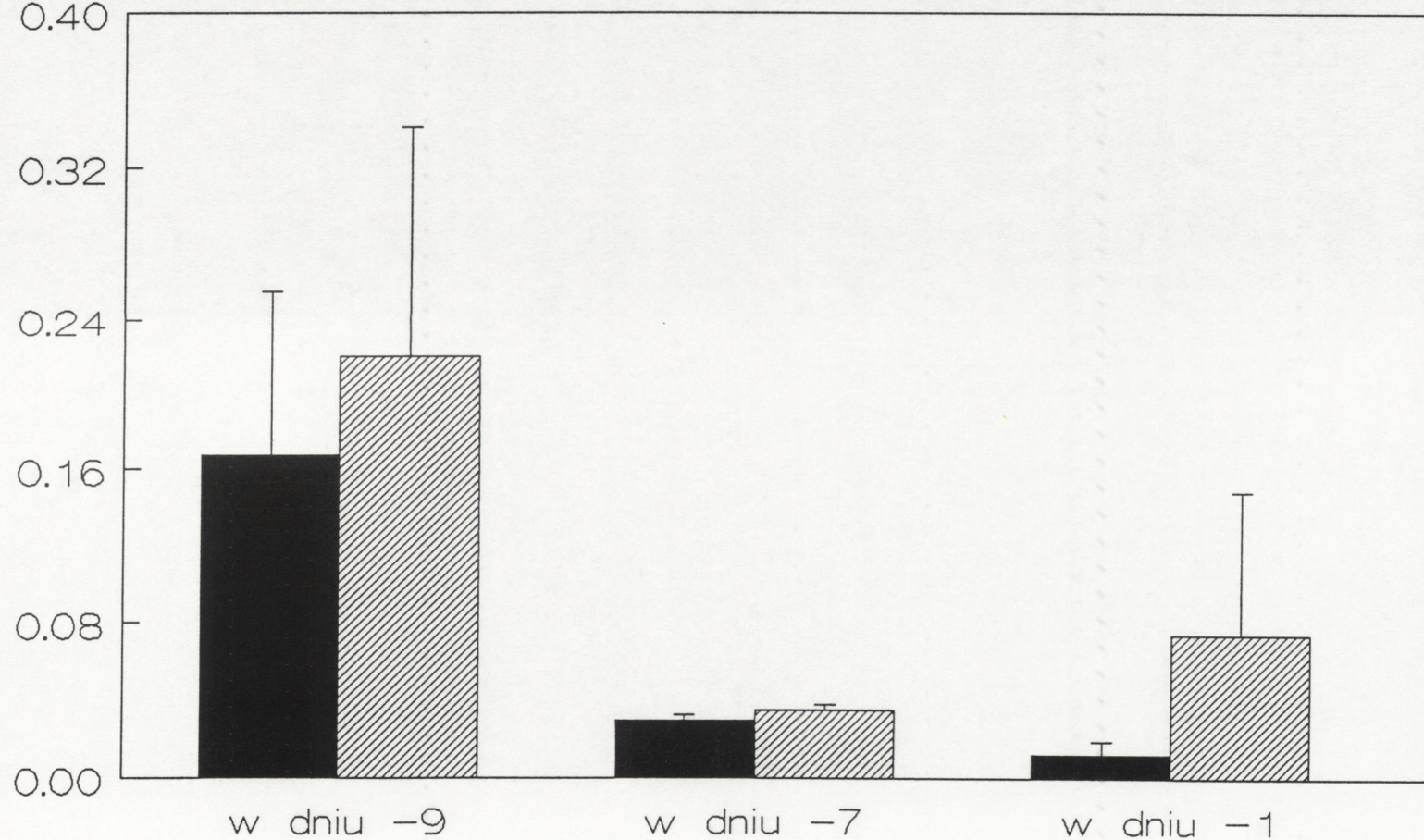


Rycina XXXII. Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar)

■ grupa doświadcz. ▨ grupa kontrolna

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August

% aktywn. podanej ^{125}J / g narządu
średnia +/- odchylenie standardowe

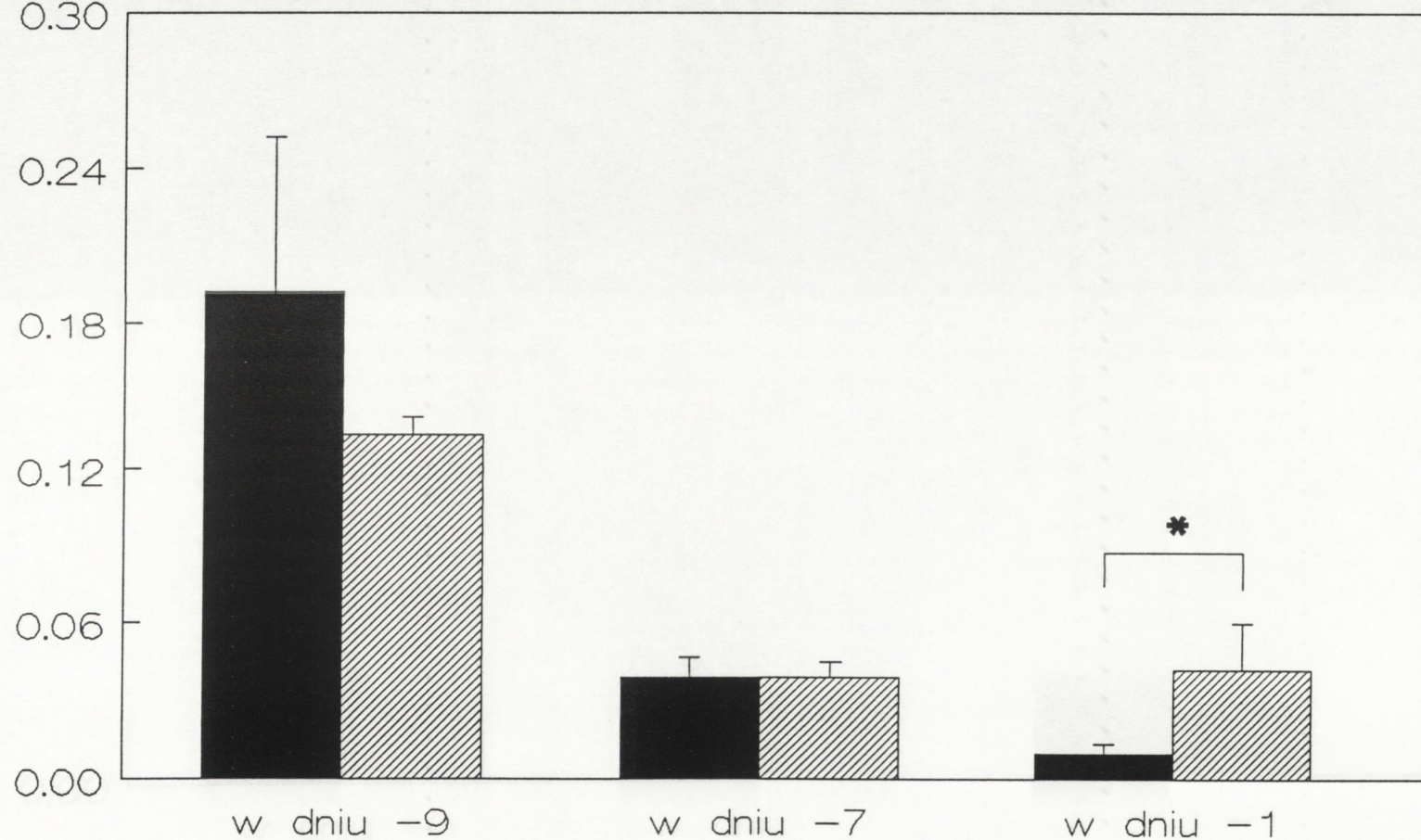


Rycina XXXIII. Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar)

■ grupa doświadcz. ▨ grupa kontrolna * $p < 0,05$

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August

% aktywn. podanej ^{125}J / g narządu
średnia +/- odchylenie standardowe

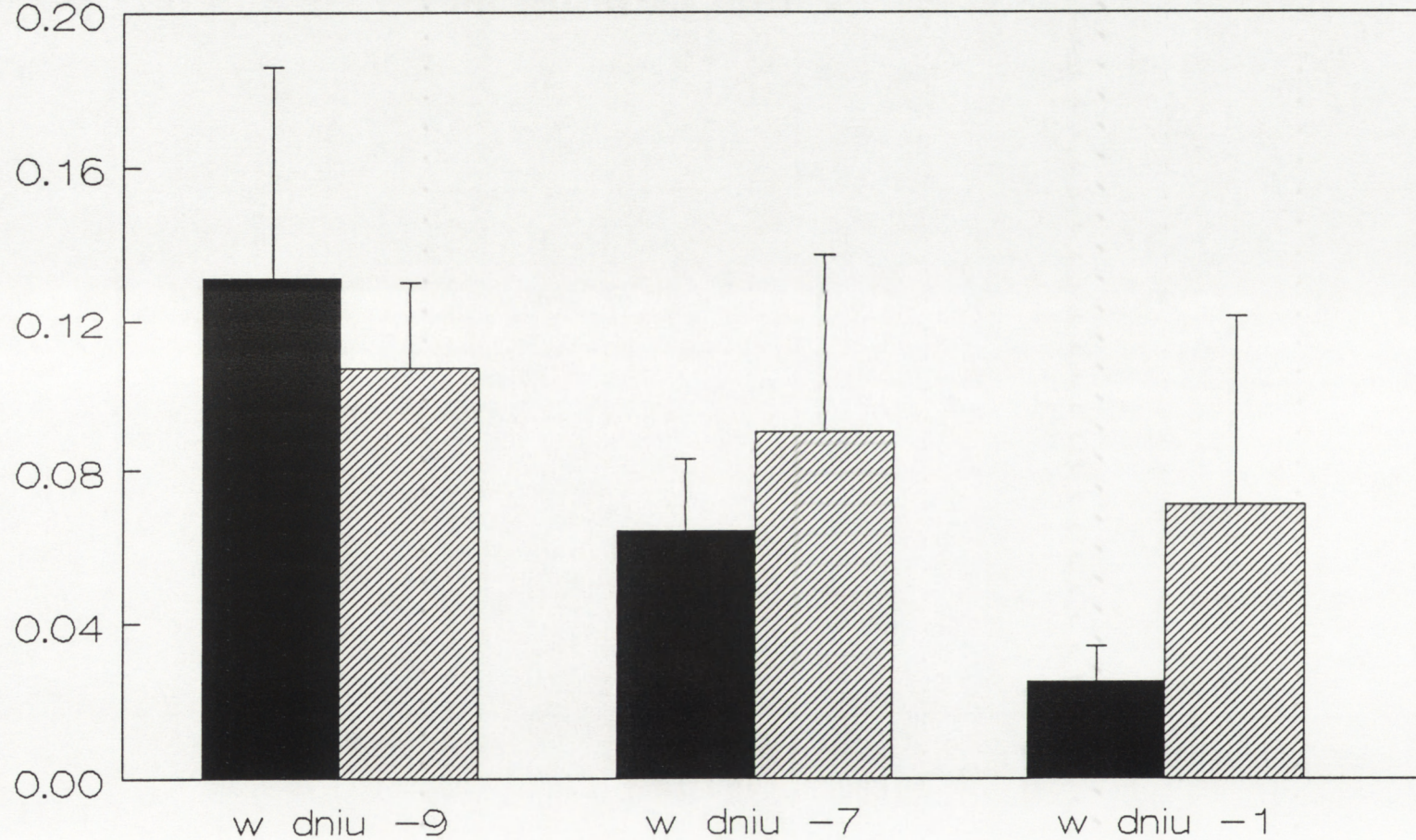


Rycina XXXIV. Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar)

■ grupa doświadcz. ▨ grupa kontrolna

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August

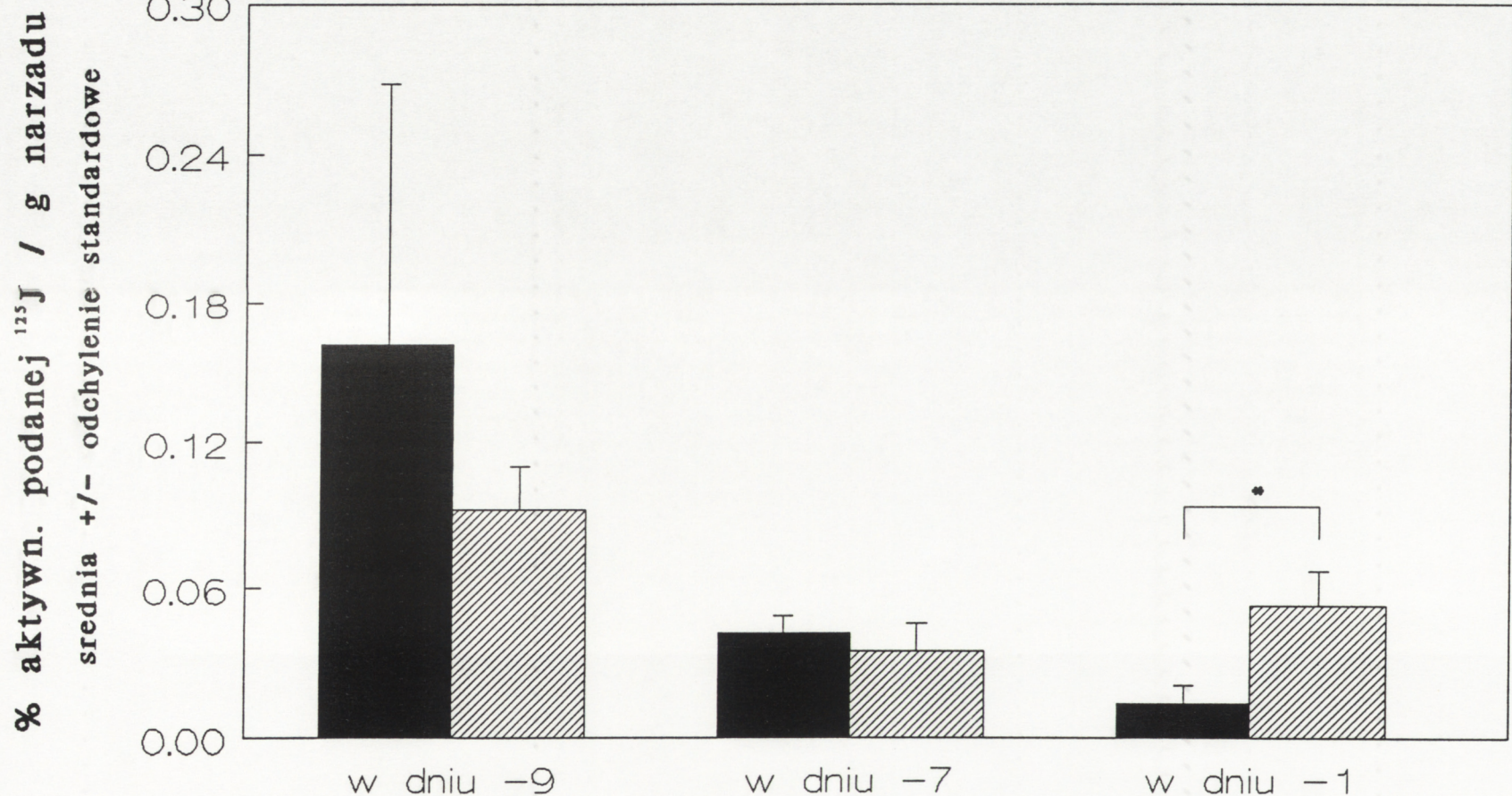
% aktywn. podanej ^{125}J / g narządu
średnia +/- odchylenie standardowe



Rycina XXXV. Grupy 13, 14, 15. Biorca August. W dniu -10 podano dożylnie 30 mg znakowanych ^{125}J globulin allosurowicy Wistar anty-August (kontrola - globuliny surowicy szczura szczepu Wistar)

■ grupa doświadcz. ▨ grupa kontrolna * $p < 0,05$

Rozmieszczenie alloglobulin (Wistar anty-August) i globulin (Wistar) u szczura szczepu August



Rycina XXXVI. Lokalizacja antygeny i alloprzeciwciał oraz przypuszczalna lokalizacja kompleksów antygen-przeciwciała

