

Imuninė stebėseną širdies transplantacijoje: atmetimo reakcijos poveikis T limfocitų žymenų ekspresijai

Measuring T cell reactivity for predicting heart transplant rejection

Radvilė Malickaitė, Laimutė Jurgauskienė, Stanislava Simanavičienė, Vytė Valerija Maneikienė, Rita Sudikienė, Kęstutis Ručinskas

*Vilniaus universiteto Širdies ir kraujagyslių ligų klinikos Širdies chirurgijos centras, Santariškių g. 2, LT-08661 Vilnius
El. paštas: Radvile.Malickaite@santa.lt*

*Vilnius University, Clinic of Cardiovascular Diseases, Centre of Heart Surgery, Santariškių str. 2, LT-08661 Vilnius, Lithuania
E-mail: Radvile.Malickaite@santa.lt*

Darbo tikslas

Nustatyti Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Širdies chirurgijos centre atliekamos širdies transplantacijos įtaką T limfocitų aktyvumo rodikliams, įvertinti imuninės stebėsenos tinkamumą ūminiam transplantato atmetimui prognozuoti.

Ligoniai ir metodai

Retrospektyviai analizuotas dvidešimt vieno širdies recipiento imuninių rodiklių kitimas esant normaliai potransplantacinei būklei ir ūminiam transplantato atmetimui. Periferinio kraujo imunokompetentinių ląstelių CD3⁺CD103⁺, CD4⁺CD103⁺, CD8⁺CD103⁺, CD3⁺CD134⁺, CD4⁺CD134⁺, CD8⁺CD134⁺, CD8⁺CD57⁺ ir CD8⁺CD38⁺ procentas nustatytas tėkmės citometrijos būdu. Ūminis transplantato atmetimas vertintas pagal histologinius endomiokardinės biopsijos radinius.

Rezultatai

Esant ūminio atmetimo epizodams, kai endomiokardo biopsijos įvertintos $\geq 2R$ (3A) laipsniu, reikšmingai didėja integrino CD103 ($p < 0,0001$), kostimuliacinio receptoriaus CD134 ($p = 0,005$), antigeno CD57 ($p = 0,005$) ir ląstelių paviršiaus glikoproteino CD38 ($p = 0,015$) ekspresija citotoksinių CD8⁺ limfocitų paviršiuje.

Išvados

Imuninė periferinio kraujo limfocitų būklės stebėseną gali būti taikoma po transplantacijos skiriamam imunosupresiniam gydymui įvertinti numatant didelę ūminio atmetimo tikimybę.

Reikšminiai žodžiai: širdies transplantacija, ūminis atmetimas, imuninė aktyvacija.

Objective

We aimed to analyze alterations in peripheral blood T-cell subset activation compared with endomyocardial biopsy findings.

Patients and methods

The study included in total twenty-one heart recipients grafted 1997–2007 at the Vilnius Heart Surgery Center. T-cell activation markers CD3⁺CD103⁺, CD4⁺CD103⁺, CD8⁺CD103⁺, CD3⁺CD134⁺, CD4⁺CD134⁺, CD8⁺CD134⁺, CD8⁺CD57⁺ and CD8⁺CD38⁺

were detected by two-color flow cytometry. Rejection was graded according to the ISHLT (the International Society of Heart and Lung Transplantation) grading system.

Results

In case of $\geq 2R$ (3A) rejection episodes, a significant increase in the expression of integrin CD103 ($p < 0.0001$), co-stimulatory receptor CD134 ($p = 0.005$), antigen CD57 ($p = 0.005$) and surface glycoprotein CD38 ($p = 0.015$) on CD8⁺ T lymphocytes has been revealed.

Conclusion

Immune monitoring performed on peripheral blood can be used for the assessment of immunosuppression therapy on transplant recipients' immune response and for determining the risk of rejection.

Key words: heart transplantation, acute rejection, and immune activation.

Įvadas

Šiuo metu širdies transplantacija (Tx) yra veiksmingas gydymo būdas, gelbstintis sunkiausiomis širdies ligomis sergančių ligonių gyvybę [1]. Deja, persodintų organų išsaugojimo problema išlieka – alotransplantatai, tos pačios rūšies, tačiau genetiškai skirtingo individo persodinti organai ar audiniai, sukelia recipiento imuninį atsaką [1–3], kurio stiprumas priklauso nuo recipiento ir donoro audinių dermės, recipiento reaktyvumo, organo imunogeniškumo ir daugelio kitų veiksnių [4, 5]. Šiuolaikinė imunosupresinė terapija susideda iš kalcineurino inhibitorių, antiproliferacinių vaistinių preparatų, mTOR inhibitorių, polikloninių antikūnų prieš T limfocitų antigenus, monokloninių antikūnų prieš interleukino 2 receptorių, steroidų ir kitų preparatų, deja, ūminis širdies atmetimas dėl nepakankamo imuninės sistemos slopinimo arba infekcija – viršijus būtina imunosupresijos lygį – išlieka vienos svarbiausių recipiento mirties priežasčių pirmaisiais metais po Tx [5], o vėlyvuojū laikotarpiu vystosi transplantato koronarinė liga arba piktybinė liga [2]. Patikimiausiai atmetimas įvertinamas endomiokardinės biopsijos mėginių histologiniu tyrimu, ūminio atmetimo buvimą ir stiprumą apibūdina laipsnis pagal ISHLT (angl. *International Society for Heart and Lung Transplantation*) sistemą [6, 7]. Nors biopsija yra pripažinta atmetimo epizodų diagnostikos aukso standartu, tačiau šis metodas turi trūkumų – yra invazyvus ir neleidžia prognozuoti imuninio proceso dinamikos be pakartotinės biopsijos.

Darbo tikslas yra nustatyti Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Širdies chirurgijos centre atliekamos širdies transplantacijos įtaką T limfocitų aktyvumo rodikliams, įvertinti imuninės stebėsenos tinkamumą ūminiam transplantato atmetimui prognozuoti.

Ligoniai ir metodai

Vilniaus universiteto Širdies chirurgijos centre širdies transplantacijos atliekamos nuo 1987 metų. Per tą laiką buvo atliktos 65 širdies transplantacijos, iš jų 16 pacientų prieš transplantaciją buvo jungta dirbtinė širdis. Straipsnyje retrospektyviai analizavome dvidešimt vieno širdies recipiento, kuriems transplantacija atlikta 1997–2007 metais, imuninius rodiklius, tirtus 2008–2010 metais, praėjus 7 sav.–12 metų (mediana 2,1 metų) po Tx.

Kaip matome iš 1 lentelės, nors organų donorų amžius ir recipientų amžius reikšmingai nesiskyrė, recipientų grupės amžiaus variacija buvo didesnė – vaikai, paaugliai, vyresnio amžiaus asmenys. Dauguma recipientų (81 %), kaip ir dauguma (71 %) donorų, buvo vyrai. Visos transplantacijos atliktos naudojant pagal ABO kraujo grupę identiškus arba suderinamus donorus: penkiolikos donorų ir recipientų poros buvo tos pačios ABO kraujo grupės, šešių širdžių donorai su recipientu buvo ABO suderinamos kraujo grupės (trys 0 kraujo grupės donorų širdys persodintos A, dvi B grupės pacientams, viena A kraujo grupės donoro širdis AB grupės pacientui). 85,7 % donorų ir recipientų porų ($n = 18$) audinių antigenų dermė pagal žmogaus leukocitų antigenus (ŽLA) buvo bloga, ≤ 2 iš 6 galimų, ir tik likusios 14,3 % porų ($n = 3$) turėjo gerą trijų keturių bendrų antigenų dermę. Tik vienai recipientei po dirbtinės širdies implantavimo buvo nustatyti ikitransplantaciniai antikūnai prieš ŽLA ($\geq 10\%$), kiti ligoniai nebuvo sensitizuoti.

Visi širdies recipientai gavo įprastinę trigubą imunosupresiją ciklosporinu, azatioprinu arba mikofenolato mofetiliu ir steroidais. Indukcinė terapija polikloniniais arba monokloniniais antikūnais šiems pacientams nebuvo taikyta.

1 lentelė. Ligonių apibūdinimas

Rodiklis	
Recipientų amžius metais	38 ± 15 8–62
Donorų amžius metais	31 ± 12 16–52
Donorų / recipientų lytis	
V/V	13
V/M	2
M/M	2
M/V	4
ABO kraujo grupės	
Identiškos / suderinamos, %	71,4 / 28,6
Sensitizuotų recipientų % prieš Tx / po Tx	4,8 / 23,8

Širdies transplantato endomiokardo biopsijos buvo atliekamos pirmą savaitę po Tx, vėliau kartą per dvi savaites iki išrašant, kas du tris mėnesius iki pirmų potransplantacinių metų pabaigos, vėliau kartą per metus. Histologinis vertinimas atliktas remiantis *Billingham* kriterijais [6, 7]. Prieš biopsiją buvo imama periferinio kraujo imuniniam aktyvumui įvertinti bei *herpes* grupės citomegalijos virusui (CMV) ir *Epstein-Barr* (EBV) virusui kiekybiškai nustatyti polimerazės grandininės reakcijos būdu.

Limfocitų aktyvumas vertintas pagal T limfocitų funkcinis potipius CD3⁺CD103⁺, CD4⁺CD103⁺, CD8⁺CD103⁺, CD3⁺CD134⁺, CD4⁺CD134⁺, CD8⁺CD134⁺, CD8⁺CD57⁺ ir CD8⁺CD38⁺ aptiktus kraujyje tiesioginės imunofluorescencijos metodu lazeriniu tėkmės citometru „FACSCalibur“, naudojant dviejų spalvų fluorochromais žymėtus monokloninius antikūnus (Becton Dickinson). Mėginiai analizuoti taikant „SimulSet“ ir „CellQuest“ programinius paketus.

Limfocitų aktyvumui įvertinti pasirinkome žymenis, literatūros duomenimis, reaguojančius į alotransplantato atmetimą. CD103 yra CD8⁺ T limfocitų efektorių ekspresuojamas integrinas, kurio specifinis ligandas yra epitelio ląstelių sintetinė E kadherino molekulė. Žarnyno gleivinėje ši integriną ekspresuoja daugiau negu 90 % CD8⁺ limfocitų, kaip ir dauguma intraepitelinių limfocitų, bet periferinio kraujo limfocitams CD103 ekspresija nebūdinga (< 2 %) [8]. Eksperimentinių kasos, inkstų, plaučių transplantacijos modelių tyrimo duomenys rodo, kad imuninėms ląstelėms migravus į alotransplantatą aktyvinama CD103 žymens ekspresija

CD8⁺ limfocitų paviršiuje [9–12], be to, paaiškėjo, kad CD103 ekspresuoja ir reguliaciniai CD4⁺ T limfocitai [13]. Duomenų apie širdies audinį infiltruojančius CD8⁺CD103⁺ T limfocitus vykstant širdies transplantato atmetimui nėra.

Receptorius CD134, ekspresuojamas aktyvintų CD4⁺ T limfocitų, B limfocitų, dendritinių ląstelių ir aktyvinto kraujagyslių endotelio paviršiuje, priklauso navikų nekrozės faktoriaus receptorių superšeimai; jo ligandas CD134L ekspresuojamas aktyvintų antigenų pateikiančių ląstelių membranose; CD134-CD134L sąveika yra kostimuliacinis signalas T limfocitams didinant ląstelių proliferaciją ir citokinų gamybą [14]. Eksperimentiniais modeliais parodyta, kad užblokovus šią sąveiką pailginamas pelių, kurioms atlikta širdies transplantacija, išgyvenamumas [15]. Esama duomenų, kad didėjant CD134 ekspresijai mažėja reguliacinių limfocitų galimybė slopinti efektorinių ląstelių proliferaciją ir alografo atmetimą [16].

CD57 yra karbohidratinės struktūros antigenas, asocijuotas su mielinu asocijuotu glikoproteinu (MAG). Teigiama, kad CD57⁺ ekspresuojantys limfocitai turi dideles citoplazmines granules ir pasižymi NK ląstelėms būdingu aktyvumu. CMV seroteigiamų asmenų kraujyje randama patikimai daugiau CD57 ekspresuojančių CD8⁺ limfocitų negu neigiamų asmenų kraujyje [17], be to, šių limfocitų daugėja esant lėtinei virusinei stimuliacijai [18, 19], transplantato prieš šeimininką ligai po kaulų čiulpų transplantacijos [17], šie limfocitai sukelia aloimuninį kraujagyslių pažeidimą vystantis transplantato vaskulopatijai [20].

CD38 yra ląstelių paviršiaus glikoproteinas, ekspresuojamas aktyvintų T limfocitų, NK ląstelių ir susijęs su ląstelių diferenciacija bei proliferacija. Aprašytas CD38⁺ limfocitų skaičiaus didėjimas periferiniame kraujyje esant ūminiam atmetimui po kepenų transplantacijos [21], CMV reaktyvacijai [22]. Nustatyta, kad ši žymenį ekspresuoja reguliaciniai CD4⁺ limfocitai [23, 24].

Iš viso pacientams po širdies transplantacijos buvo atlikti 438 imunologiniai tyrimai, bet kadangi minėtų imuninės aktyvacijos žymenų tyrimai atliekami nuo 2008 m., analizuoti tik 210 imunologinių tyrimų, atliktų 2008–2010 metų laikotarpiu, rezultatai. Į statistinę analizę traukėme tyrimus, atliktus praėjus bent vienam mėnesiui po transplantacijos (siekiant išvengti

ankstyvajam laikotarpiui būdingo imunodeficito) endomiokardo biopsijos atlikimo dieną. Biopsijos atsakymas turėjo būti arba 0 (endomiokardas be matomų transplantato atmetimo požymių), arba $\geq 2R$ (3A) ląstelinis atmetimas (vidutinis arba sunkus atmetimas, kai morfologiškai randami limfocitinės infiltracijos židiniai su kardiomiolizės požymiais). Taip pat turėjo būti nustatyta, kad periferiniame kraujyje nėra CMV arba EBV virusų antigenemijos, nėra jokios infekcijos požymių ir infekcija, kurią reikėtų gydyti antibiotikais, neišsivystė per tris savaites po imunologinio tyrimo. Visus įtraukimo kriterijus atitiko 45 tyrimai, kuriuos suskirstėme į dvi grupes:

I grupė (N = 16) – endomiokardas be matomų transplantato atmetimo požymių, 0 pagal 2004 m. atnaujintą ISHLT sutarimą;

II grupė (N = 28) – ląstelinis atmetimas, endomiokardo biopsija morfologiškai įvertinta kaip $\geq 2R$ (3A) pagal 2004 m. atnaujintą ISHLT sutarimą.

Statistinė analizė

Tyrimų rezultatai statistiškai apdoroti SPSS 17 programa. Duomenys pateikiami apskaičiuavus aritmetinį vidurkį ir standartinį nuokrypį, taip pat maksimumą, minimumą, medianą. Skirtumas tarp grupių įvertintas panaudojus Stjudento testą; rezultatai buvo laikomi reikšmingais, kai $p < 0,05$.

Rezultatai

Ūminio atmetimo epizodai dažniausiai pasitaiko per pirmus metus po Tx; šiuo laikotarpiu dvylikai (57 %)

recipientų bent vieną kartą buvo nustatyti 2R(3A) laipsnio atmetimo epizodai (5 pacientams fiksuoti 2, vienam – 4 atmetimo epizodai). Mūsų ankstesnių tyrimų duomenimis, ankstyvam potransplantaciniam laikotarpiui būdinga ryški T limfocitų, ypač citotoksinių ląstelių (CD3⁺CD8⁺), stoka: 11–17-ą potransplantacinę parą atitinkamai 31 % pacientų T limfocitų skaičius, 54 % pacientų CD3⁺CD8⁺ limfocitų skaičius bei 15 % pacientų CD3⁺CD4⁺ limfocitų skaičius vis dar nesiekia normos ribų [25]. Kad išvengtume potransplantacinio imunodeficito įtakos rodikliams, vertinome tik tyrimų, atliktų praėjus ne mažiau kaip mėnesiui po transplantacijos, rezultatus.

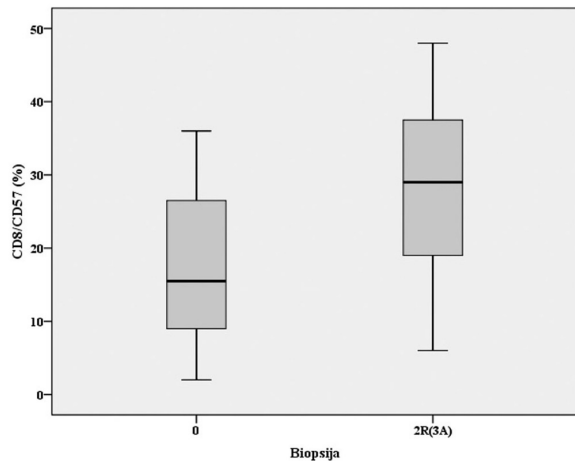
Sugretinus integrino CD103 ekspresijos kitimą su endomiokardo biopsijos tyrimų rezultatais (2 lentelė) aiškėja, kad esant sklandžiai, be atmetimo epizodų eigai, šio žymens ekspresija periferinio kraujo limfocitų paviršiuje nebūdinga. CD4⁺ limfocitų paviršiuje CD103 ekspresija dažniausiai nesiekia 1 %, CD8⁺ limfocitų paviršiuje svyruoja 1–2 % ribose. Esant $\geq 2R$ (3A) ūmiam ląsteliniam atmetimui labiausiai aktyvinami citotoksiniai, CD8⁺ limfocitai ($1,71 \pm 1,07$ % vs $5,64 \pm 4,49$ %, $p < 0,0001$).

Kaip matome iš 2 lentelės, esant sklandžiai potransplantacinei eigai kostimuliacinio navikų nekrozės faktoriaus receptorių superšeimos receptoriaus CD134 ekspresija tiek T limfocitų, tiek jų potipių paviršiuje taip pat nėra intensyvi, tik 2–6 % limfocitų. Esant $\geq 2R$ (3A) ūmiam ląsteliniam atmetimui, tiek T limfocitų, tiek jų potipių aktyvacija reikšmingai didėja.

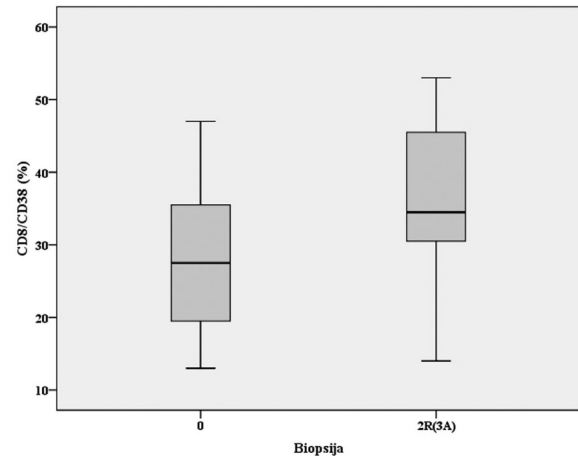
Karbohidratinės struktūros antigeno CD57 ekspresiją tyrėme tik citotoksinių limfocitų paviršiuje, nustatyda-

2 lentelė. Aktyvacijos žymenų CD103 ir CD134 ekspresija periferinio kraujo T limfocitų ir jų potipių paviršiuje

Atmetimas	CD3 ⁺ /CD103 ⁺ , %	CD4 ⁺ /CD103 ⁺ , %	CD8 ⁺ /CD103 ⁺ , %	CD3 ⁺ /CD134 ⁺ , %	CD4 ⁺ /CD134 ⁺ , %	CD8 ⁺ /CD134 ⁺ , %
0 n = 16	2,13 ± 0,96	0,96 ± 0,75	1,71 ± 1,07	4,15 ± 2,22	4,69 ± 1,99	3,00 ± 2,39
2R(3A) n = 28	3,11 ± 1,75	2,75 ± 3,54	5,64 ± 4,49	6,00 ± 3,32	7,04 ± 5,69	6,39 ± 4,89
Patikimumas	0,02	0,015	0,0001	0,03	0,06	0,004



1 pav. Aktyvacijos žymens CD57 ekspresija citotoksinių limfocitų paviršiuje



2 pav. Aktyvacijos žymens CD38 ekspresija citotoksinių limfocitų paviršiuje

mi CD8⁺CD57⁺ ląsteles. Kaip matome 1 paveiksle, esant ramybės būsenai žymenį ekspresuoja $17,25 \pm 2,79$ % visų CD8⁺ limfocitų (matematinio vidurkio pasiklovimo intervalas su 95 % patikimumu buvo nuo 11,31 % iki 23,19 %), o $\geq 2R(3A)$ atmetimo metu žymens ekspresija reikšmingai didėja – iki $28,04 \pm 2,21$ % (95 % intervalas nuo 23,51 % iki 32,56 %, $p = 0,005$).

Ląstelių paviršiaus glikoproteino CD38 ekspresija taip pat tirta tik citotoksinių limfocitų paviršiuje, nustatant CD8⁺CD38⁺ ląsteles. Kaip matome 2 paveiksle, atmetimui esant 0 pagal 2004 m. atnaujintą ISHLT sutarimą žymenį ekspresuoja $28,06 \pm 2,69$ % visų CD8⁺ limfocitų (95 % intervalas nuo 22,33 % iki 33,80 %). Vykstant atmetimui žymenį ekspresuoja $36,57 \pm 1,93$ % visų citotoksinių limfocitų (95 % intervalas nuo 32,61 % iki 40,53 %, $p = 0,015$).

Diskusija

Ankstyvoju laikotarpiu (pirmus metus po transplantacijos) vienuolikai (52,4 %) tirtos grupės recipientų bent vieną kartą buvo nustatyti 2R(3A) laipsnio atmetimo epizodai. Tarptautinės širdies ir plaučių transplantacijos draugijos (IHLT) registro duomenimis [5], per pirmus metus 45 % recipientų, kuriems nebuvo taikyta indukcinė terapija, o vartotas kalcineurino inhibitorius buvo ciklosporinas, bent vieną kartą buvo gydyti ištikus ūminio atmetimo epizodams. Tikėtina, kad dažnesni ūminio atmetimo epizodai mūsų grupėje yra susiję su didesniais, palyginti su tarptautine praktika, antigeniniais skir-

tumais. Daugumos (85,7 %) šiame tyrime analizuotų transplantacijų donorų ir recipientų ŽLA dermė buvo ≤ 2 bendri antigenai. Tik trys (14,3 %) recipientai gavo pagal audinių antigenus neblogai suderinamų donorų organus (3–4 bendri ŽLA antigenai iš 6 galimų). Iš IHLT registre 2002–2008 metais registruotų 18 798 širdies recipientų 40,5 % gavo 3–4 ŽLA antigenais suderintą organą, o 4,3 % pacientų – net 5–6 antigenais suderintą organą, taigi reikia pripažinti, kad Lietuvoje, kuri nedalyvauja organų pasikeitimo programose, donoro ir recipiento audinių antigenų dermė blogesnė negu bendras centrų vidurkis. Iš trijų recipientų po VAD implantacijos viena pacientė turėjo antikūnų prieš ŽLA antigenus, keturiems pacientams pasireiškė sensitizacija po transplantacijos. Yra žinoma, kad recipiento serume cirkuliuojantys antikūnai prieš ŽLA antigenus yra vienas svarbiausių ankstyvo transplantato atmetimo rizikos veiksnių [3, 4, 26, 27]. Šešių širdžių donorai su recipientu (28,6 %) buvo ABO suderinamos kraujo grupės, dviem moterims buvo persodinta vyro širdis, o keturiems vyrams – moters. Įvertinę visus išvardytus persodintų organų imunogeniškumą didinančius veiksnius, manome, kad 7 % didesnis ūminių atmetimų dažnis tirtoje grupėje, palyginti su tarptautine praktika, yra pateisinamas.

Sugretinę imuninės aktyvacijos žymenų kitimą su endomiokardo biopsijos tyrimų rezultatais, visiems ligoniams po širdies transplantacijos nustatėme tą pačią paviršinių žymenų kitimo tendenciją vykstant atmeti-

mui – reikšmingą T limfocitų aktyvaciją, ypač citotoksinių limfocitų potipio.

Endomiokardo biopsija, išliekanti aukso standartu, nėra idealus tyrimo būdas ne tik dėl invazyvumo, bet ir dėl reikšmingo variabilumo atkartojant ir interpretuojant tyrimą, ypač atliekant jį skirtinguose centruose, todėl intensyviai ieškoma papildomų ūminio atmetimo nustatymo metodų. Imunosupresorių dozavimas pagal vaistinių preparatų koncentracijas leidžia mažinti nepageidaujamą poveikį, bet ne visada atspindi recipiento imuninės sistemos būklę. 2002 metais JAV Maisto ir vaistų kontrolės administracija patvirtino tyrimo sistemą *ImmunoKnowTM*. Atliekant šį tyrimą, pagal adenozintrifosfato gamybą vertinamas T helperių atsakas į mitogeninį stimulą. Tyrimas leidžia nustatyti, kurių recipientų imuninis atsakas yra blogas (t. y. yra didesnė infekcinių komplikacijų rizika), bet patikimas ryšys tarp gero atsako ir atmetimo dar nepatvirtintas [2].

Taikant imunosupresiją nuolat stengiamasi išlaikyti pusiausvyrą: išvengti atmetimo ir kartu vengti didinti vaistų dozes mažinant infekcijos galimybę ir nepageidaujamą vaistų poveikį [5]. Nors mūsų atliktas tyrimas turi trūkumų – yra atliktas retrospektyviai ir remiasi tik vieno centro duomenimis, manome, kad imunosupresijos adekvatumo vertinimas pagal T limfocitų – ląstelių, kurių funkcijai slopinti skiriami imunosupresiniai preparatai, – aktyvumą yra tinkamas metodas individualizuoti gydymą. Vertinant imuninius rodiklius reikia

atsižvelgti į tai, kiek laiko po transplantacijos yra praėję [25] – siekdami išvengti potransplantacinio imunodeficito įtakos rodikliams, vertiname tik tyrimų, atliktų praėjus ne mažiau kaip mėnesiui po transplantacijos, rezultatus. Taip pat svarbu, koks yra imunosupresinis gydymas (pvz., mikofenolato mofetilis labiau slopina CD38 ekspresiją nei azatioprinas) [28]. Reikia atsižvelgti į virusų, ypač *herpes* grupės, infekcijas ir reaktyvacijas [17] bei į kitus veiksnius. Dėl išvardytų priežasčių sunku tikėtis, kad vienas klinikinis, instrumentinis ar laboratorinis rodiklis leis saugiai skirti imunosupresinį gydymą ir išvengti vienokių ar kitokių potransplantacinių komplikacijų.

Mūsų tyrimo duomenimis, ryški citotoksinių CD8⁺ limfocitų aktyvacija, kai CD8⁺/CD103⁺ viršija 3,7 %, CD8⁺/CD134⁺ 4,3 %, CD8⁺CD57⁺ 23,5 %, o CD8⁺CD38⁺ 32,6 % nesant *herpes* grupės virusų aktyvacijos ar kitos infekcijos, su 95 % patikimumu rodo esant $\geq 2R$ (3A) ūminį ląstelinį atmetimą. Todėl manome, kad imuninė periferinio kraujo limfocitų būklės stebėseną gali būti taikoma imunosupresinio gydymo efektyvumui įvertinti siekiant, numatyti ūminio atmetimo tikimybę.

Apibendrinant pasakytina, kad imuninių rodiklių kitimo stebėseną gali būti pravarti kaip pagalbinis metodas širdies recipientų būklei vertinti. Imunosupresinio gydymo individualizavimas padės mažinti infekcijų riziką, išvengti atmetimo ar vaistinių preparatų toksiškumo.

LITERATŪRA

1. Kirklin JK, Young JB, McGiffin DC. Heart transplantation. Churchill Livingstone, 2002.
2. Kobashigawa JA, Kiyosaki KK, Patel JK, Kittleston MM, Kubak BM, Davis SN, Kawano MA, Ardehali AA. Benefit of immune monitoring in heart transplant patients using ATP production in activated lymphocytes. *J Heart Lung Transplant* 2010; DOI:10.1016/j.healun.2009.12.15.
3. Shaddy RE, Fuller TC. The sensitized pediatric heart transplant candidate: causes, consequences, and treatment options. *Pediatr Transplantation* 2005; 9: 208–214.
4. Nwakanma LU, Williams JA, Weis ES, Russell SD, Baumgartner WA, Conte JV. Influence of pretransplant panel-reactive antibody on outcomes in 8,160 heart transplant recipients in recent era. *Ann Thorac Surg* 2007; 84: 1556–1563.
5. Taylor DO, Stehlik J, Edwards LB, Aurora P, Christic JC,

- Dobbels F, Kirk R, Kuchererayaya AY, Rahmel AO, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-sixth Official Adult Heart Transplant Report – 2009. *J Heart Lung Transplant* 2009; 28(10): 1007–1022.
6. Margaret Billingham M, Kobashigawa JA. The Revised ISHLT Heart Biopsy Grading Scale. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 1709.
7. Stewart S, Winters GL, Fishbein MC, Tazelaar HD, Koashigawa J, Abrams J, Andersen CB, Angelini A, Berry GJ, Burke MM, Demetris AJ, Hammond E, Itescu S, Marboe CC, McManus B, Reed EF, Reinsmoen NL, Rodriguez ER, Rose AG, Rose M, Suci-Focia N, Zeevi A, Billingham ME. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 1700–1720.

8. Banh C, Brossay L. Immune receptors, cadherins and their interaction. *Current Immunology Reviews* 2009; 5: 2–9.
9. Feng Y, Wang D, Yuan R, Parker CM, Farber DL, Hadley GA. CD103 expression is required for destruction of pancreatic islet allografts by CD8+ cells. *The Journal of Experimental Medicine* 2002; 196(7): 877–886.
10. Hadley GA, Rostapshova EA, Gomolka DM, Taylor BM, Bartlett ST, Drachenberg CI, Weir MR. Regulation of the epithelial cell-specific integrin, CD103, by human CD8+ cytolytic T lymphocytes. *The Journal of Transplantation* 1999; 15; 67 (11): 1418–1425.
11. Smyth LJC, Kirby JA, Cunningham AC. Role of the mucosal integrin α_E (CD103) β_7 in tissue-restricted cytotoxicity. *Clinical and Experimental Immunology* 2007; 149: 162–170.
12. Wang D, Yuan R, Feng Y, El-Asady R, Farber DL, Gress RE, Lucas FJ, Hadley GA. Regulation of CD103 Expression by CD8+ T Cells Responding to Renal Allografts. *The Journal of Immunology* 2004; 172: 214–221.
13. Uss E, Rowshani AT, Hooibrink B, Lardy NM, van Lier RMW, ten-Berge IJN. CD103 is a Marker for Alloantigen-Induced Regulatory CD8+ T Cells. *The Journal of Immunology* 2006; 177: 2775–2783.
14. Yuan X, Salama AD, Dong V, Schmitt I, Najafian N, Chandraker A, Akiba H, Yagita H, Sayegh MH. The role of the CD134-CD134 ligand costimulatory pathway in alloimmune responses in vivo. *The Journal of Immunology* 2003; 170: 2949–2955.
15. Curry AJ, Chikwe J, Smith XG, Cai M, Schwarz H, Bradley JA, Bolton EM. OX40 (CD134) Blockade inhibits the costimulatory cascade and promotes heart allograft survival. *The Journal of Transplantation* 2004; 78(6): 807–814.
16. Vu MD, Xiao X, Gao W, Degauque N, Chen A, Kromer A, Killeen N, Ishii N, Li XC. OX40 costimulation turns off Foxp3+ Tregs. *Blood* 2007; 110: 2501–2510.
17. Mendes AVA, Kallas EG, Benard G, Pannuti CS, Manzes R, Dulley FL, Evans TG, Salomao R, Machado CM. Impact of cytomegalovirus and graft versus host disease on the dynamics of CD57+CD28-CD8+ T cells after bone marrow transplant. *Clinics* 2008; 63(5): 667–676.
18. Brenchley JM, Karandikar NJ, Betts MR, Ambrozak DR, Hill BJ, Crotty LE, Casazza JP, Kuruppu J, Migueles SA, Connors M, Roederer M, Douek DC, Koup RA. Expression of CD57 defines replicative senescence and antigen-induced apoptotic death of CD8+ T cells. *Blood* 2003; 1101 (7): 2711–2720.
19. Crough T, Khanna T. Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside *Clinical Microbiology Reviews* 2009; 22(1): 76–98.
20. Dengler TJ, Pober JS. Human vascular endothelial cells stimulate memory but not naïve CD8+ T cells to differentiate into CTL retaining an early activation phenotype. *The Journal of Immunology* 2000; 164: 5146–5155.
21. Boleslawski E, Benothman S, Grabar S, Correia L, Podevin P, Chouzenoux S, Sonbrana O, Calmus Y, Conti F. CD25, CD28 and CD38 expression in peripheral blood lymphocytes as a tool to predict acute rejection after liver transplantation. *Clin Transplant* 2008; 22: 494–501.
22. Crough T, Fazou C, Weiss J, Campbell S, Davenport MP, Bell SC, Galbraith A, McNeil K, Khanna R. Symptomatic and Asymptomatic Viral Recrudescence in Solid-Organ Transplant Recipients and Its Relationship with the Antigen-Specific CD8+ T-Cell Response. *Journal of Virology* 2007; 81(20): 11538–11542.
23. Wang Z, Davies JD. CD8 blockade promotes the expansion of antigen-specific CD4+ FOXP3+ regulatory T cells *in vivo*. *Int Immunopharmacol* 2007; 7(2): 249–265.
24. Sumpter TL, Wilkes DS. Role of autoimmunity in organ allograft rejection: a focus on immunity to type V collagen in the pathogenesis of lung transplant rejection. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L1129–L1139.
25. Malickaite R, Jurgauskienė L, Simanavičienė S, Stanevičienė A, Ručinskas K, Žurauskas E. Periferinio kraujo limfocitų potipių kitimas pirmus tris mėnesius po širdies transplantacijos (Dynamics of the T-cell subsets during the first three months after the heart transplantation). *Laboratorinė medicina* 2008; 10(39): 146–150.
26. Malickaitė R, Stanevičienė A, Ručinskas K, Jurgauskienė L, Miniauskas S, Sirvydis V. Imuninė sensitizacija po dirbtinės širdies prijungimo (Immune sensitisation after artificial heart support device implantation). *Lietuvos chirurgija* 2007; 5(3): 366–370.
27. Malickaitė R, Ručinskas K, Stanevičienė A, Miniauskas S, Maneikienė V, Zuoženė G, Sirvydis V. Sensitization and post-transplant course after the implantation of a ventricular assist device. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 2009; 8: 339–343.
28. Weigel G, Griesmacher A, Karimi A, Zuckermann AO, Grimm M, Mueller MM. Effect of mycophenolate mofetil therapy on lymphocyte activation in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21(10): 1074–1079.