

Hemo- vagy peritonealis dialízis hatása a sejtközvetítette immunválaszra krónikus uraemiában

Pécsi Orvostudományi Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika (igazgató: Dr. Hámori Artúr)
Urológiai Klinika (igazgató: Dr. Frang Dezső)

Németh László dr., Gofman Ljubov dr., Karátson András dr., Hámori Artúr dr.

Érkezett: 1978. augusztus 29.

ÖSSZEFOGLALÁS: a szerzők nem uraemiás krónikus glomerulonephritisben (71 eset) és az uraemia különböző stádiumaiban (68 eset) kifejezett lymphopeniát, csökkent spontán rosettaképző aktivitást és csökkent abszolút T-lymphocytaszámot észleltek. Krónikus glomerulonephritisben és az uraemia kezdeti szakában kimutatható volt a glomerulonephritisre jellegzetes celluláris hypersensitivitás (leukocytá migratio gátlás) glomerularis basalmembrán (GBM)-antigénnel szemben. Az uraemia terminális stádiumában a hypersensitivitás megszűnt, jelezve az endogen immunosuppressiót.

Haemodialysis (HD) vagy peritonealis dialysis (PD) nem okozott változást a leukocytaszámában, a spontán rosettaképzésben és a T-lymphocytaszámában, viszont hatására a celluláris hypersensitivitás GBM-antigénnel szemben újra megjelent.

Következésképpen a T-lymphopenia nem az uraemiás állapot következménye, hanem az alapbetegsége jellemző, tehát az uraemiában megfigyelt immunosuppressióért nem tehető felelőssé. Ezzel szemben a specifikus celluláris reaktivitás megszűnését az uraemia okozza, valószínűleg toxikus metabolit(ok) révén. Az immunosuppressióért felelős faktor(ok) dializálható.

Számos szerző tanulmányozta a celluláris immunválaszt uraemiában, de az irodalmi adatok ellentmondóak. A krónikus uraemiában megfigyelt thymus atrophia (34), lymphopenia (3, 9, 17, 24, 30, 34) és T-lymphopenia (9, 24, 26) immunosuppressiora utal. Mások szerint sem lymphopenia (13), sem T-lymphopenia nem mutatható ki (13, 16). Ellentmondó adatok vannak a lymphocyták in vitro túlélésére vonatkozóan is: lehet csökkent (1, 5), de lehet normális (22). A mitogénekre adott reaktivitás lehet csökkent (10, 13, 16, 23, 28, 29), normális (1, 8, 12, 27) és fokozott (3, 4). Daniels és mtsai (5) az uraemiás betegek lymphocytáinak fokozott spontán blastogenezisért írták le, ami az eredmények értékelését nehezíti. Kevert lymphocytá kulturában detektált lymphocytaválasz lehet hyporeaktív (6, 10), illetve normoreaktív (27, 28). Egyesek csökkent celluláris választ észleltek specifikus antigénekre is (1, 7). Uraemiás betegek plazmája egészséges emberek lymphocytáinak mitogénekre adott válaszát egyes szerzők szerint nem változtatja meg (10), mások szerint suppressív hatást gyakorol (20, 22, 28, 30). A különböző antigénekre adott késői típusú bőrreaktivitás jelezhet anergiát (5, 10, 14, 27, 34), de lehet normális is (10, 13). Uraemiában a bőrtranszplantatum túlélése prolongált (2, 18, 31).

* A Magyar Allergológiai Társaság VI. Vándorgyűlésén, 1976. június 9-én Pécsen elhangzott előadás alapján.

** „Az Eö. M. 3. 04 sz. tárcaszintű kutatási főirányához kiemelten elfogadott kutatási témában végzett kutatómunka alapján” (3—18—0304—03—2/H).

Ellentmondó adatok vannak a sejtközvetítette immunválaszban HD hatására bekövetkező változásokra vonatkozóan is: egyes szerzők megfigyelései szerint az immunosuppressio javulhat (10, 17), mások szerint nem változik (1, 8, 13, 20, 27, 28). Az immunosuppressioért felelős faktor(ok) egyesek szerint dializálható (22), mások szerint nem (12, 13, 20, 28).

A PD hatását a sejtközvetítette immunválaszra, tudomásunk szerint, ezideig nem vizsgálták.

Krónikus glomerulonephritis talaján kifejlődött uraemiában elvégzett vizsgálatainkkal az alábbi kérdésekre kerestünk választ:

1. Kimutatható-e uraemiában lymphopenia, csökkent rosettaképző aktivitás, T-lymphopenia.
2. A krónikus glomerulonephritisben gyakori és aktivitási jelként értékelhető specifikus, GBM-ellenes cellularis immunválasz észlelhető-e az uraemia különböző stádiumaiban.
3. Milyen változások következnek be a fenti paraméterekben HD illetve PD hatására.

Anyag és módszer

Betegeinket két csoportra osztottuk. Az első csoportba (I) 71 nem uraemiás krónikus glomerulonephritisben szenvedő beteg tartozott (serum-kreatinin: 2 mg/100 ml alatt). A második csoportban az uraemia súlyossági foka szerint három alcsoportot különböztettünk meg: II/A csoport (serum-kreatinin 2—4 mg/100 ml között), II/B csoport (serum-kreatinin 4—10 mg/100 ml között), II/C csoport (serum-kreatinin 10 mg/100 ml felett). Betegeink sem steroid, sem cytosztatikus kezelésben nem részesültek.

20 egészséges egyén szolgált kontrollként.

Fehérvérszám, abszolút lymphocytaszám

A perifériás vérből a fehérvérszámot (a kontrollesz csoportban az átlag \pm SE: 6000 \pm 300/mm³) és az abszolút lymphocytaszámot (a kontrollesz csoportban az átlag \pm SE: 2200 \pm 200/mm³) a standard módszerekkel határoztuk meg.

Spontán rosettaképző aktivitás

A birka vörösvérsejttel spontán rosettaképző lymphocyták százalékos arányát *Jondal és mtsai* (11) módszerének némi módosításával határoztuk meg. 10 ml heparinos vénás vért vettünk le, majd a lymphocytákat Ficoll-Uromiro gradiensen izoláltuk. Többszöri mosást követően a sejt számot 1×10^{-6} lymphocyt/ml-re állítottuk be. 0,1 ml lymphocytá suspensiót 0,1 ml 5%-os birka vörösvérsejt suspensióval 4 C°-on 1 óra hosszat incubáltuk. Bürker-kamrában megszámoltuk a spontán rosettaképző lymphocyták százalékos arányát. A kontrollesz csoportban az átlag \pm SE: 65 \pm 1,0% volt.

Abszolút T-lymphocytaszám

Az abszolút lymphocytaszám, valamint a spontán rosettaképző lymphocyták százalékos arányának ismeretében meghatároztuk az abszolút T-lymphocytaszámot. A kontrollesz csoportban az átlag \pm SE: 1400 \pm 110/mm³ volt.

GBM-antigén előállítása

A friss emberi hullaveséből a glomerulusokat *Krakower és Greenspon* (15) által leírt módszer alapján izoláltuk, *Rocklin* (25) módszere szerint tettük solubilissá. A solubilis emberi GBM-antigént előkísérleteink alapján 300 μ g/ml koncentrációban alkalmaztuk. Ebben az adagban nem volt toxikus.

Leukocytá migrációs teszt

A leukocytá migratio gátlás vizsgálatát *Soborg* (32), *Soborg és Bendixen* (33) által leírt módszer módosításával végeztük. 20 ml heparinos vért vettünk, melyet 5%-os dextrán-

oldattal keverve 37 °C-on 1 óráig ülepitettünk. A leukocytadús plasmát leszívtuk, majd a sejttöledéket háromszor mostuk Parker-199 tápfolyadékkal, miután a szennyező vörösvérsejteket haemolysáltuk. A 7×10^7 sejtszám/ml fehérvérsejt suspensiót üvegkapilláris csövekbe töltöttük, majd centrifugáltuk. A sejteket tartalmazó kapillárisokat műanyag kamrákba rögzítettük. Egy-egy kamrában három kapillárist helyeztünk el. A kontrollkamra csak tápfolyadékot, a vizsgálati kamra solubilis GBM-antigént is tartalmazott. 37 °C-on 20 óráig tartó inkubálást követően az értékelés planimetriás módszerrel történt. A migrációs indexet (MI) a következő képlet alapján számítottuk ki:

$$MI = \frac{\text{átlagos migrációs terület antigén jelenlétében}}{\text{átlagos migrációs terület antigén nélkül}}$$

A kontrollcsoportban a MI átlag \pm SE: $1,00 \pm 0,02$, a normális tartomány 0,80—1,20 között volt. 0,80 alatti MI migratio-gátlást, 1,20 feletti MI migratio-stimulálást jelent.

Haemodialysis

A HD-t Kiil-Lucas típusú művesekészülékkel 150—200 ml/min vér és 500 ml/min mosó folyadék áramlással végeztük. A dialízisek időtartama a beteg állapotától és a maradék veseműködéstől függően 16—20 m²/óra/hét volt. Dializáló membránként a PT 150 cuprophan-membránt használtuk.

Peritonealis dialysis

A PD-t Tenckhoff-katéter behelyezése után infúziós technikával végeztük. A heti kezelési óraszám átlaga 32—40 óra, az átfolyó dializáló oldat mennyisége 50 liter volt, hetente két ízben ismételtük. Dializáló oldatként Peridisol 1 DK folyadékot (Humán Oltóanyag-termelő Intézet, Budapest) alkalmaztunk. Az eredmények statisztikai elemzésre a kétmintás t-eljárást alkalmaztuk.

Eredmények

A nem uraemiás krónikus glomerulonephritisben (I) és az uraemia különböző stádiumaiban (II/A, B, C) normális fehérvérsejtszám mellett, csökkent lymphocytaszámot, csökkent spontán rosettaképző aktivitást, T-lymphopeniát észleltünk a kontroll egészséges csoporthoz viszonyítva. A különbség statisztikailag szignifikáns (1. ábra).

GBM-antigén jelenlétében szignifikánsan csökkent MI-t találtunk a nem uraemiás krónikus glomerulonephritisben (I), az uraemia első (II/A) és második stádiumában (II/B), jelezve a GBM-antigén elleni specifikus cellularis hypersensitivitást. Előrehaladott uraemiás állapotban (II/C) a MI már nem mutatott különbséget a kontroll egészséges csoporthoz viszonyítva, jelezve a kialakult endogén immunosuppressiót. Megjegyezzük, hogy a II/C csoportban igen magas arányban észleltünk migratio-stimulálást, amely a I, II/A, II/B csoportokra nem volt jellemző (2. ábra).

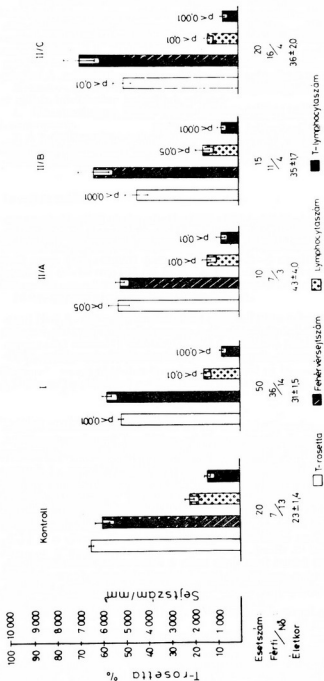
HD hatására 5—20 valamint 20 feletti kezelések után a fehérvérsejtszám csökkent, azonban az abszolút lymphocytaszám, a spontán rosettaképző-aktivitás és az abszolút T-lymphocytaszám nem változott a HD bevezetése előtti értékekhez viszonyítva (3. ábra).

HD hatására szignifikánsan csökkent MI-t találtunk már az 1—5 kezelés után, a HD bevezetése előtti értékekhez, illetve a kontroll egészséges csoporthoz viszonyítva. HD után migratio-stimulálást nem észleltünk (4. ábra).

PD hatására (kezelési órák száma átlagosan 160, tartomány: 24—430 óra) a fehérvérsejtszám, az abszolút lymphocytaszám, a spontán rosettaképző-aktivitás, az abszolút T-lymphocytaszám nem változott a kezelés bevezetése előtti értékekhez viszonyítva. Ugyanakkor az esetek felében a migrációs index csökkent a PD bevezetése előtti értékekhez viszonyítva. A különbség statisztikailag szignifikáns (5. ábra).

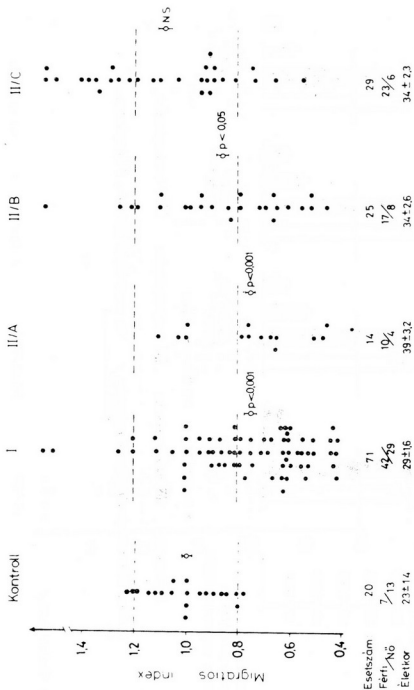
Megbeszélés

Az uraemia hosszú folyamat, stádiumokra kell osztani, ha arra vagyunk kíváncsiak, hogy milyen a cellularis immunválasz. A mi adataink egyértelműen arra utalnak, hogy az uraemia immunosuppressív állapot, de csak a végstádiumban.



1. ábra. Fehérvérszám, lymphocytaszám, spontán rosettaképző aktivitás, T-lymphocytaszám krónikus glomerulonephritisben és az uraemia különböző stádiumaiban

Mint említettük, uraemiában a cellularis immunreaktivitást számos szerző vizsgálta, de az in vivo és az in vitro vizsgálatokkal nyert eredmények — különösen az utóbbi időben — nem egyértelműek. Ennek több lehetséges magyarázata van. A korábban megjelent tanulmányok idején az uraemia kezelése nem volt kielégítő. Egy-egy szerző által vizsgált beteganyag nem volt homogen: a legkülönbözőbb etiológiai alapon kifejlődött uraemiás be-

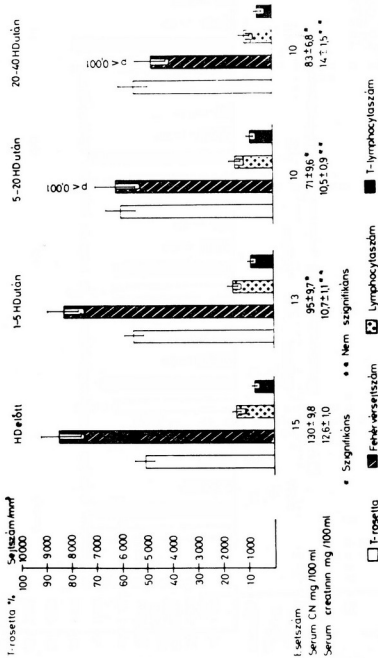


NS nem szignifikáns

2. ábra. MI krónikus glomerulonephritisben és az uraemia különböző stádiumaiban

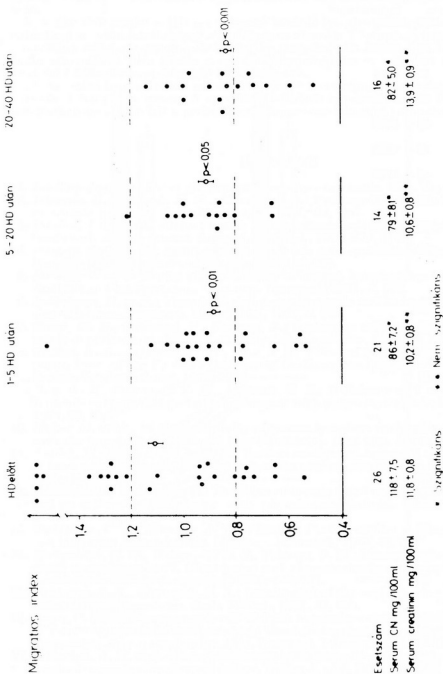
teget vizsgáltak és többnyire kevés esetet elemeztek és ami a legfontosabb, az uraemiás állapoton belül nem különböztettek meg stádiumokat. Bonyolítja az eredmények értelmezését, hogy az uraemiához vezető nephropathiák pathogenezisében a sejtközvetítette immunválasz szerepe kellőképpen nem tisztázott. Ebből adódóan nehéz eldönteni, hogy a celluláris funkcióban kimutatott zavar priméren az alapbetegség, vagy az uraemiás állapot oka, illetve következménye.

Vizsgálataink szerint krónikus glomerulonephritisben kifejezett lymphopenia, csökkent spontán rosettaképző aktivitás, illetve T-lymphopenia észlelhető. Úgyanezeket az ered-



3. ábra. Fehérvérszám, lymphocytaszám, spontán rosettaképző aktivitás, T-lymphocyta-szám HD hatására

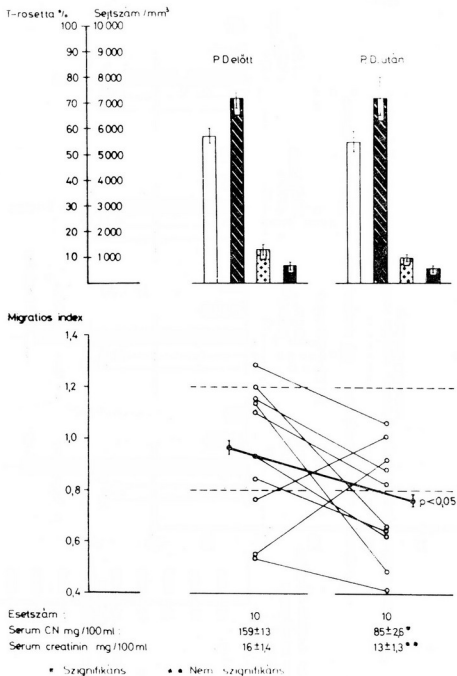
ményeket találtak az uraemia különböző stádiumaiban is. Tehát a lymphopenia, a csökkent rosettaképző-aktivitás, a T-lymphopenia nem az uraemiás állapot következménye, legalábbis krónikus glomerulonephritis talaján kifejlődött uraemiás állapotban. Ez arra utal, hogy az uraemiás toxicosis nem lehet oka a lymphopeniának, a csökkent rosettaképző aktivitásnak és T-lymphopeniának, ennek következtében az említett paraméterek nem magyarázzák a súlyos uraemiában észlelt csökkent celluláris immunreaktivitást.



4. ábra. MI változása HD hatására

Krónikus glomerulonephritisben igen magas arányban sikerült kimutatnunk GBM-antigénnel szembeni specifikus celluláris hypersensitivitást a leukocyta-migrációs teszttel, amely véleményünk szerint szerepet játszhat a kórfolyamat progressziójában (21).

Krónikus glomerulonephritis talaján kifejlődött uraemiában, az első és második stádiumban, szintén kimutatható a GBM-antigénre specifikus celluláris autoimmun-reaktivitás. Ez felveti annak lehetőségét, hogy a kórfolyamat uraemiában is — különösen annak kez-



5. ábra. Fehérvérsejtszám, lymphocytaszám, spontán rosettaképző aktivitás, T-lymphocytaszám és MI PD előtt és után

deti stádiumaiban — lehet immunológiailag aktív. Ebben az esetben pedig mérlegelni kell a megfelelőtherápia alkalmazásának szükségességét.

Terminalis stádiumban, amikor a HD illetve a PD bevezetése indikált, a specifikus celluláris hypersensitivitás már nem mutatható ki, jelezve az endogen immunosuppressiót. Megjegyezzük, hogy ebben a stádiumban migrációs stimulálást észleltünk, amely vélemény-

nyűnk szerint szintén a cellularis hyporeaktivitás, az immunosuppressio jeleként értékelhető.

Vizsgálataink szerint a HD nem okozott további lymphocyta-depletiót, nem változott hatására a spontán rosettaképző aktivitás és az abszolút T-lymphocytaszám. Ugyanakkor a specifikus cellularis immunreaktivitás újra megjelent. Ez is utal arra, hogy a T-lymphopenia uraemiában nem felelős a cellularis hypofunkcióiért, másrészt az immunosuppressióért felelős plasma-faktor(ok) kidializálhatók.

PD hatására nem változott az abszolút lymphocytaszám, a rosettaképző aktivitás, az abszolút T-lymphocytaszám. A specifikus cellularis hypersensitivitás PD hatására újra kimutathatóvá vált, tehát a peritoneum a suppressor-faktor(ok) számára permeabilis.

IRODALOM

1. Boulton-Jones, J. M.: et al.: Immune responses in uremia. Clin. Nephrol., 1973, 1, 351.
2. Dammir, G. J., Couch, N. P., Murray, J. E.: Prolonged survival of skin homografts in uremic patients. Ann. N.Y. Acad., 1957, 64, 967.
3. Daniels, J. C. et al.: Altered nucleic acid synthesis patterns in lymphocytes from patients with chronic uremia. Amer. J. Med. Sci., 1970, 259, 214.
4. Daniels, J. C. et al.: Interpretation of nucleic acid synthesis studies in renal failure lymphocytes. J. Reticuloendoth. Soc., 1970, 8, 240.
5. Daniels, J. C. et al.: In vitro reactivity of human lymphocytes in chronic uremia: Analysis and interpretation. Clin. exp. Immunol., 1971, 8, 213.
6. Dobbstein, H. et al.: Vitamin B₆ deficiency in uremia and its implications the depression of immune responses. Kidney Int., 1974, 5, 233.
7. Erard, M. D., Galanaud, P., Dormont, J.: Leukocyte migration test with spleen extracts in patients on chronic hemodialysis. Biomedicine, 1973, 19, 499.
8. Gombos, E. A., Jefferson, D. M., Bhat, J. G.: Effect of haemodialysis on immune response. Proc. of the Eleventh Congress of the European Dialysis and Transplant Association, Tel Aviv, Israel, 1974, 367.
9. Hoy, W. E., Cestero, R. V. M., Freeman, R. B.: Deficiency of T and B lymphocytes in uremic subjects and partial improvement with maintenance hemodialysis. Nephron, 1978, 20, 182.
10. Huber, H. et al.: In vitro reactivity of human lymphocytes in uremia. A comparison with the impairment of delayed hypersensitivity. Clin. exp. Immunol., 1969, 5, 75.
11. Jondal, M., Holm, G., Wigzell, H.: Surface markers on human T and B lymphocytes. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with SRBC. J. exp. Med., 1972, 136, 207.
12. Kasakura, S., Lowenstein, L.: The effect of uremic blood on mixed leukocyte reactions and on cultures of leukocytes with phytohaemagglutinin. Transplantation, 1967, 5, 283.
13. Kauffman, C. A., Manzler, A. D., Phair, J. P.: Cell-mediated immunity in patients on long-term haemodialysis. Clin. exp. Immunol., 1975, 22, 54.
14. Kirkpatrick, C. H., Wilson, W. E. C., Talmage, D. W.: Immunologic studies in human organ transplantation. I. Observation and characterization of suppressed cutaneous reactivity in uremia. J. exp. Med. 1964, 119, 727.
15. Krakower, C. A., Greenspon, S. A.: Localization of the nephrotoxic antigen within the isolated renal glomerulus. Arch. Pathol., 1951, 51, 629.
16. Lopez, C. et al.: Discrepancy between PHA responsiveness and quantitative estimates of T-cell numbers in human peripheral blood during chronic renal failure and immunosuppression after transplantation. Clin. Immunol. Immunopathol., 1975, 4, 135.
17. Malaviya, A. N. et al.: Non-specific cellular and specific cell-mediated immunological responsiveness in chronic renal failure. Indian J. med. Res., 1973, 61, 1194.
18. Morrison, A. B., Maness, K., Towes, R.: Skin homograft survival in chronic renal insufficiency. Arch. Pathol., 1963, 79, 139.
19. Nakhla, L. S., Goggin, M. J.: Lymphocyte transformation in chronic renal failure. Immunology, 1973, 24, 229.
20. Nelson, D. S., Penrose, J. M.: Effect of hemodialysis and transplantation on inhibition of lymphocyte transformation by sera from uremic patients. Clin. Immunol. Immunopathol., 1975, 4, 143.
21. Németh L. és mtsai: Glomeruláris basalmembrán-ellenes sejtközvetítette immunválasz nephropathiákban. Közlés előtt.

22. *Newberry, W. M., Sanford, J. P.*: Defective cellular immunity in renal failure: Depression of reactivity of lymphocytes to phytohaemagglutinin by renal failure serum. *J. clin. Invest.*, 1971, *50*, 1262.
23. *Petri, I. és mtsai*: Uraemiás betegek immunreaktivitásának vizsgálata phytohaemagglutinin-stimulált lymphocytakultúrákkal. *Orv. Hetil.*, 1974, *115*, 613.
24. *Quadracci, L. J., Ringden, O., Kryzmsansky, M.*: The effect of uremia and transplantation on lymphocyte subpopulations. *Kidney Int.*, 1976, *10*, 179.
25. *Rocklin, R. E., Lewis, E. J., David, J. R.*: In vitro evidence for cellular hypersensitivity to glomerular-basement-membrane antigens in human glomerulonephritis. *New-Eng. J. Med.*, 1970, *283*, 497.
26. *Sengar, D. P. S.* et al.: T-rosettes in hemodialysis patients and renal allograft recipients. *Cell. Immunol.* 1975, *20*, 92.
27. *Sengar, D. P. S., Rashid, A., Harris, J. E.*: In vitro cellular immunity and in vivo delayed hypersensitivity in uremic patients maintained on hemodialysis. *Int. Arch. Allergy*, 1974, *47*, 829.
28. *Sengar, D. P. S., Rashid, A., Harris, J. E.*: In vitro reactivity of lymphocytes obtained from uremic patients maintained by haemodialysis. *Clin. exp. Immunol.* 1975, *21*, 298.
29. *Sengar, D. P. S.* et al.: Hepatitis B surface antigen (HB_sAg) infection in a hemodialysis unit. II. Factors affecting host immune response to HB_sAg. *Canadian med Ass. J.*, 1975, *113*, 945.
30. *Silk, M. S.*: The effect of uremic plasma on lymphocyte transformation, *Invest. Urol.*, 1967, *5*, 195.
31. *Smiddy, F. G., Burwell, R. G., Parsons, F. M.*: Influence of uremia on survival of skin homografts. *Nature*, 1961, *190*, 732.
32. *Soborg, M.*: The leukocyte migration technique for in vitro detection of cellular hypersensitivity in man. Academic Press. New York, 1971, 289.
33. *Soborg, M., Bendixen G.*: Human lymphocyte migration as a parameter of hypersensitivity. *Acta med. scand.*, 1976, *181*, 247.
34. *Wilson, W. E. C., Kirkpatrick, S. H., Talmage, D. W.*: Suppression of immunological responsiveness in uremia. *Ann. intern. Med.*, 1975, *62*, 1.