

УДК 612.017.1:616.36—002

В. П. Чернишов

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ АУТОІМУННЕ УРАЖЕННЯ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЇЇ АНТИГЕННОСТІ В АУТО- ТА ІЗОСИСТЕМІ

В літературі є поодинокі відомості про відтворення аутоімуного ураження передміхурової залози в експерименті. Таке ураження описано на чотирьох собаках [7] та десяти кроликах [9] при імунізації тварин гомогенатом передміхурової залози у суміші з повним ад'ювантом Фрейнда (ПАФ). На морських свинках така спроба не мала успіху [6]. У згаданих працях в основному вивчали утворення аутоантитіл, а гістологічно відзначено місцевий процес та відсутність змін у сім'яниках та нирці. Проте, багато питань про взаємовідношення ауто- та ізоантигенів з імунологічною системою, зокрема, стан сповільненої гіперчутливості, залишаються нез'ясованими.

Ми вивчали відповідь імунокомпетентних клітин та імунологічних органів у цілісному організмі на ізо- та аутоантигени передміхурової залози.

Методика досліджень

Досліди проведені на 31 собакі та 50 морських свинках, яких поділили на шість груп. Тварин I групи (сім собак) імунізували пативним гомогенатом тканини аутологічної передміхурової залози, тварин II групи (7 собак) — гомогенатом тканини аутологічної передміхурової залози в суміші з ПАФ. У III групі (12 собак) відтворення експериментального ураження передміхурової залози здійснювали імунізацією гомогенатом ізологічної передміхурової залози (десять собак) та аутологічної передміхурової залози (дві собаки) — суміші з повним ад'ювантом Фрейнда. Тваринам IV групи (5 собак) аутопересаджували лімфатичний вузол у передміхурову залозу. Тварин V групи (40 морських свинок) імунізували гомогенатом ізологічної залози з ПАФ. Тварин VI групи (10 морських свинок) — гомогенатом ізологічної передміхурової залози з ПАФ та з наступним гістологічним дослідженням передміхурової залози. У тварин I та II груп передміхурову залозу видаляли повністю, а сечоводи виводили на черевну стінку. Двом собакам III групи, у яких передміхурова залоза була значних розмірів, видалили лише частину її, тобто зробили простатотомію, а уретру залишили неушкодженою. Це дозволило проводити імунізацію гомогенатом аутологічної передміхурової залози, а потім гістологічно вивчити залишену тканину залози. Тваринам IV групи брижовий лімфовузол пересаджували в оперативно відтворений дефект тканини передміхурової залози.

Імунізацію тварин проводили 1—5 циклами, що складались з восьми ін'єкцій, протягом місяця. Інтервал між циклами — три-чотири тижні. Ін'єкції проводили підшкірно та внутрішньозово в шість-десять точок. При цьому використовували 5—60 мг/кг білка, який визначали за методом Лоурі. Для визначення аутоантитіл застосовували реакцію пасивної гемаглютинації (РПГА), реакцію зв'язування комплекменту за 50% гемолізом (РЗК), імунодифузії в агаровому гелі (ІД), прямий та непрямий тести імуофлуоресценції (ІФ) [5]. При використанні прямого методу сироватку собак збирали на висоті піка антитіл типу IgG, які виділяли комбінацією методів висоловлювання сірчанокислим амонієм та іонообмінної хроматографії на сефадексі ДЕАЕ А-50, дезагрегацією центрифугуванням при 20 000 g. Виділену фракцію митили ізотіоціанатом флуоресцеїну з наступною очисткою на сефадексі G-25 та абсорбцією порошком, виготовленим з печінки собаки. Після виготовлення препарату флуоресціюючої сироватки тварину забивали та готували зрізи передміхурової залози в криостаті. Якщо сироватку брали під час забою тварини, готували парафінові зрізи при 4°С, які до проведення дослідів зберігали при 0°С. Гіперчутливість уповільненого типу (ГСТ) оцінювали з допомогою шкірних проб

(ШП), реакції інгібіції міграції лейкоцитів у капілярі (ІМЛ) [4], цитотоксичності антигену (ЦТ) щодо лімфоцитів у присутності комплементу, яку оцінювали за лізисом клітин та включенням трипанового синього. Реакції, де було можливо, ставили з використанням антигенного матеріалу, сироватки та лімфоцитів однієї тварини. Слабо позитивними реакціями вважали для РПГА титр 1:8, РЗК—1,2 од. S_{50} , ІМЛ—0,79—0,72, ЦТ—10—15%; помірно позитивними—для РПГА—1:16—1:32, РЗК—1,3—2 од. S_{50} , при розведенні сироватки—1:15, ІМЛ—0,72—0,65, ЦТ—15—20%; при більш інтенсивних показниках реакції вважали різко позитивними. ІД оцінювали за виразністю смуг преципітації, а ШП—за почервонінням та інфільтрацією через 24 год. Для гістологічного дослідження препарати забарвлювали гематоксилін-еозином і за Фельгеном та Браше на нуклеїнові кислоти.

Результати досліджень

Результати імунної відповіді на введення собакам гомогенату ауто- та ізологічної передміхурової залози як з ПАФ, так і без нього наведені в табл. 1. Реакції ставили через два-чотири тижні після останньої ін'єкції. Якщо імунізація гомогенатом передміхурової залози викликала лише слабке антитілоутворення у п'яти з семи собак, то в суміші з ПАФ розвинулась і ГСТ. У тварин III групи тривала імунізація гомогенатом ізологічної передміхурової залози з повним ад'ювантом Фрейнда (двох собак імунізували антигеном аутологічної передміхурової залози) викликала утворення аутоантитіл та ГСТ, причому імунологічні показники більш виражені, ніж у тварин II групи. При морфологічному дослідженні у семи собак цієї групи виявлено ураження передміхурової залози, у двох—зміни слабо виражені, у двох—помірно та трьох—значно, причому в одному випадку значне ураження спостерігалось у тварини, імунізованої гомогенатом аутологічної передміхурової залози. Відзначена пряма кореляція між глибиною гістологічних змін та імунологічними показниками. Для ГСТ коефіцієнт кореляції $r=0,91$, для аутоантитіл— $r=0,41$. При значному ураженні передміхурової залози на всьому її протязі в септах та міжзалозистих прошарках спостерігаються клітинні інфільтрати з переважанням лімфоїдних, епітеліоїдних та плазматичних клітин. Як септи, так і міжзалозисті прошарки значно потовщені внаслідок розвитку в них грубоволокнистої сполучної тканини, а також численних клітинних інфільтратів. При цьому часто буває стиснення секреторних відділів та атрофія залоз. Поряд з цим виявляються компенсаторно-приспосувальні процеси, які проявляються в осередковій гіпертрофії та гіперплазії залоз, часто видно багаторядний епітелій. Ок-

Таблиця 1

Кількість випадків виявлення циркулюючих аутоантитіл та ГСТ залежно від вираженості імунологічних тестів у собак, імунізованих гомогенатом передміхурової залози з повним ад'ювантом Фрейнда та без нього

Група тварин	Кількість тварин	Кількість ін'єкцій антигену	Ступінь вираженості імунологічних показників	Антитіла			ГСТ		
				РПГА	РЗК	ІД	УМЛ	ШП	ЦТ
I	7	8	слабо	3	2	—	—	—	—
			помірно	2	1	—	—	—	—
			різко	—	—	—	—	—	—
II	7	8 з ПАФ	слабо	2	1	3	4	2	3
			помірно	3	2	—	1	2	2
			різко	1	—	—	—	—	—
III	12	10—24 з ПАФ	слабо	2	3	4	3	2	3
			помірно	5	4	4	2	5	3
			різко	3	2	1	4	1	2

ремі залозки, особливо ті, що розташовані серед клітинних інфільтратів, не мають просвітів і становлять скупчення кубічного епітелію (рис. 1). В ячку виявлено нормальну будову сперматогенного епітелію, і лише в окремих каналцях — десквамацію. Нирка та легеня не змінені, перибронхіальна лімфоїдна тканина слабо розвинена, в печінці в області триад — незначна кількість лімфоїдної тканини. У собаки № 18, показники ГСТ та циркулюючих аутоантитіл якої різко виражені, тимус має будову дольок різних розмірів та форми, в кожній дольці добре

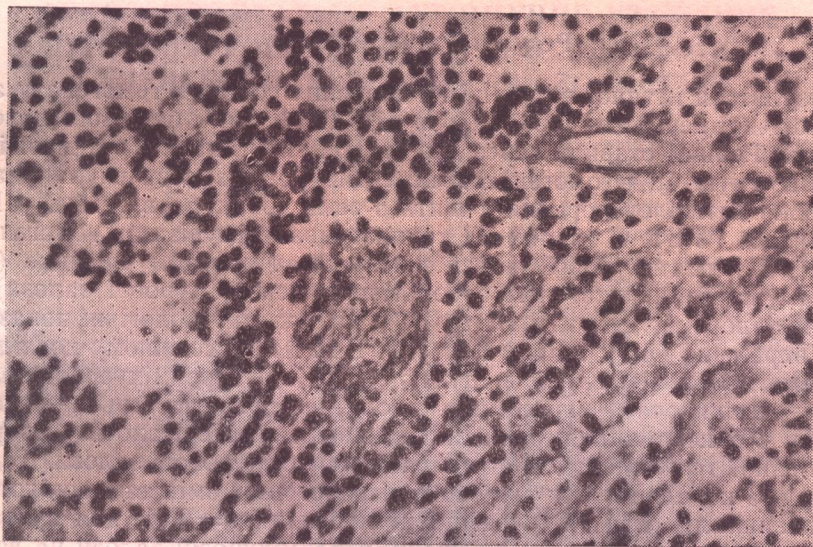


Рис. 1. Аутоімунне ураження передміхурової залози собаки № 18, імунізованої гомогенатом в суміші з повним ад'ювантом Фрейнда.

Серед клітинних інфільтратів — скупчення епітелію передміхурової залози. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 400$.

диференціюються корковий та мозковий шари. В окремих дольках, переважно в їх медулярних відділах, спостерігаються утворення клітин у вигляді острівців округлої та довгастої форми — «центри росту» (рис. 2). Клітини нагадують тимоцити, розташовані в корковому шарі тимуса. Водночас спостерігається плазматизація клітин у «центрах росту», іноді це явище слабо виражене, іноді — сильно. Кількість ДНК значно збільшена в тимоцитах, розташованих у корковому шарі та нижче, в цитоплазмі клітин мозкової речовини. В клітинах «зародкових центрів» медулярної частини кількість ДНК помітно збільшена. В лімфовузлах та селезінці розміри лімфоїдних фолікулів, а також центри росту помітно збільшені. В лімфоїдних клітинах спостерігається високий вміст ДНК та РНК. При використанні прямого тесту ІФ встановлено, що антитіла у тварин з виразним аутоімунним процесом активно реагують зі збереженим епітелієм передміхурової залози (рис. 3). З атрофованим епітелієм така реакція не відзначається. Введення одного ад'юванта Фрейнда чотирьом контрольним собакам не привело до імунологічних та гістологічних змін в передміхуровій залозі.

У тварин IV групи через чотири-п'ять тижнів після аутотрансплантації в гаданій ділянці передміхурової залози, куди було пересаджено лімфовузол, виявлені обширні скупчення лімфоїдної тканини, серед яких розміщуються чотири-вісім лімфоїдних фолікулів з добре вираженими

центрами росту, що складаються переважно з крупних лімфоцитів, багато з яких містять ядра в стані мітозу. Центри росту оточені обідком малих лімфоцитів, за якими йде грубоволокниста сполучна тканина, що утворює своєрідну капсулу. В оточуючій тканині — безліч плазматичних клітин, які містять значну кількість ШИФ-позитивних речовин та РНК (рис. 4).

Наслідки імунізації морських свинок гомогенатом ізологічної передміхурової залози з ПАФ представлені в табл. 2. Привертає увагу, що на-

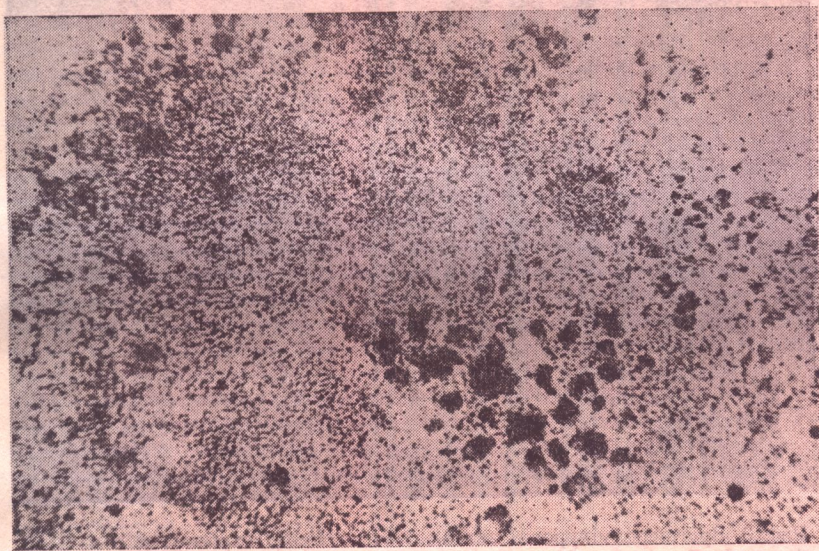


Рис. 2. Острівцеве розташування лімфоцитів медулярної частини тимуса собаки № 18.

Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 100$.

Таблиця 2

Кількість випадків виявлення циркулюючих аутоантитіл та ГСТ у морських свинок (V група) при різній кількості ін'єкцій гомогенату тканини передміхурової залози з повним ад'ювантом Фрейнда

Кількість тварин	Кількість ін'єкцій	Ступінь вираженості імунологічних реакцій	Аутоантитіла			ГСТ	
			РПГА	РЗК	ІД	ШП	ЦТ
10	1	слабо	1	—	—	1	3
		помірно	—	—	—	—	1
		різко	—	—	—	—	—
10	2	слабо	2	1	—	1	3
		помірно	1	—	—	—	—
		різко	—	—	—	—	—
10	3	слабо	3	3	1	3	3
		помірно	2	1	—	2	3
		різко	1	—	—	—	1
10	6	слабо	2	2	3	2	4
		помірно	2	3	2	3	3
		різко	3	1	—	—	—

Примітка. — — негативний результат.

віть одноразове введення антигену викликає ГСТ, особливо підвищується чутливість лімфоцитів до контакту з антигеном. При третьому та шостому введеннях кількість випадків ГСТ та особливо утворення аутоантитіл збільшується, проте інтенсивність ГСТ за ступенем виразності показників невисока. Беручи до уваги, що аутоімунні реакції у морських свинок проявляються більшою мірою при третьому та шостому



Рис. 3. Зріз передміхурової залози собаки № 18, інкубований з аутологічним Ig G, міченим ізотіоціанатом флуоресцеїну та таким, що містить аутоантитіла до антигенів передміхурової залози.

Свічення клітин ацинарного епітелію. Прямий метод. $\times 400$.

введеннях антигену, для гістологічного дослідження було обрано саме ці режими: п'ять тварин з трьома введеннями антигену та п'ять — з шістьма. При мікроскопії препаратів у піддослідних морських свинок відзначається потовщення міжзалозистих перетинок, внаслідок розвитку в них грубоволокнистої сполучної тканини, здебільшого спостерігається десквамація залозистого епітелію, а в поодиноких випадках — гіперплазія епітелію залоз. Клітинної інфільтрації не виявлено.

Обговорення результатів досліджень

Дослідження показали, що введення гомогенату аутологічної передміхурової залози викликає слабе антитілоутворення, але якщо такий антиген застосовується в суміші з ПАФ, розвивається повільніша гіперчутливість і антитіла виробляються в більш високому титрі. Тривала імунізація гомогенатом ауто- та ізологічної передміхурової залози приводить до розвитку аутоімунного ураження її у собак, причому глибина ураження має більш високий ступінь кореляції з вираженістю ГСТ, ніж з титром циркулюючих аутоантитіл. Аутоімунні реакції до антигенів передміхурової залози розвиваються при високій імуногенності антигенів, що забезпечується достатньою андрогенною насиченістю організму [3]. Збережена функція яєчка свідчить на користь наявності таких умов у піддослідних тварин. При імунізації гомогенатом передміхурової залози з ПАФ спостерігається повільний вихід антигенів передміхуро-

вої залози та кислотостійких бактерій з депо, що викликає специфічну та неспецифічну стимуляцію імунокомпетентних клітин. При такому сильному впливі з одного боку ослаблюється контроль супресорних механізмів; з іншого — процеси, пов'язані з поділом лімфоїдних клітин, інтенсифікуються, про що свідчить збільшення центрів росту в лімфоїдних органах. Очевидно, така стимуляція омолоджує лімфоїдну тканину.

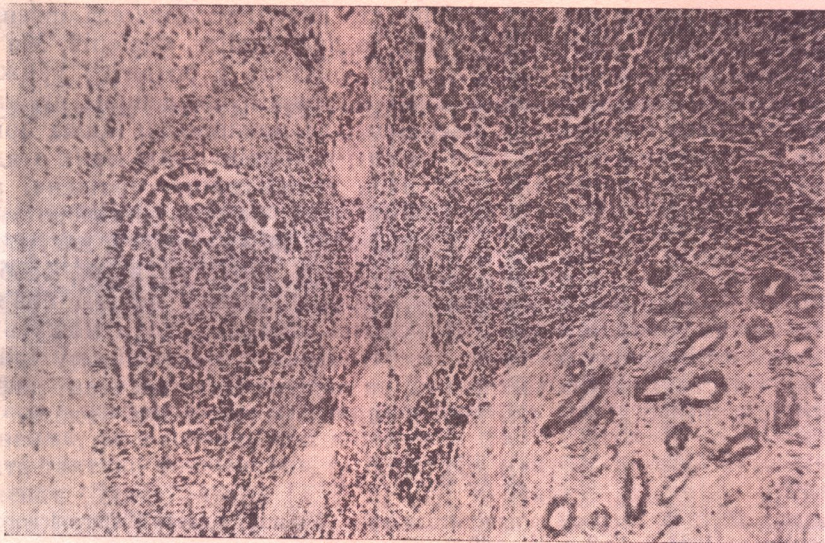


Рис. 4. Лімфовузол, трансплантований у тканину аутологічної передміхурової залози собаки *in vivo*.

В фолікулах збережені центри росту. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 100$.

Можна гадати, що зародкові центри в медулярній частині тимуса виникають при ослабленні бар'єрних властивостей змінених часток тимуса та порушенні контролю. Зниження контролю, поряд з потужною стимуляцією сприяє виходу стовбурових клітин на більш ранній стадії розвитку, а проникаючи в тимус, вони утворюють центри росту.

Отже, в організмі з аутоімунним ураженням передміхурової залози відбувається патологічна активація імунологічної системи, тобто супресорні механізми порушуються, а імуноцити невпинно розмножуються, в тому числі і специфічно спрямовані до антигенів передміхурової залози. При постійній схемі імунізації у тварин одного виду експериментальне ураження передміхурової залози розвивається не в усіх випадках, а якщо розвивається, то з різною інтенсивністю. Очевидно, мають значення індивідуальні, генетично обумовлені особливості організму. Аутоімунний процес, що розвивається при взаємодії антигенів передміхурової залози та імунологічної системи та виявляється з допомогою імунологічних тестів, можна розділити на послідовні стадії аутоімунних реакцій та аутоімунного процесу як захворювання. Початкова стадія аутоімунних реакцій, очевидно, має фізіологічний характер та спрямована на асиміляцію антигену, що надходить парентерально, коли відбуваються глибокі патологічні зміни в центральній системі регуляції, зокрема дальша десупресія та інтенсивна активація імунокомпетентних клітин, — набуває характеру патологічної реакції. Ця послідовність ще раз свідчить про аутоімунну природу відтвореного захворювання. Створення тісного

контакту лімфоїдної тканини з передміхуровою залозою як органом аутотрансплантацією лімфатичного вузла веде до плазматизації лімфоїдних клітин, які з нього вийшли. Безуспішність спроби викликати глибоке аутоімунне ураження передміхурової залози у морських свинок, насамперед можна пояснити тим, що їх ГСТ виражена слабо; спостерігалась лише перша стадія аутоімунного процесу — стадія аутоімунних реакцій, хоча спостерігались деякі функціональні порушення в органах. Крім того, певну роль можуть відігравати видові особливості організму, в тому числі, імуногенність антигенів та проникність бар'єрів. Ми ніяк не заперечуємо значення гуморального фактора в розвитку ураження передміхурової залози, оскільки воно відтворене введенням як нативних простатоцитотоксинів [1], адсорбованих антигенами інших органів [7], так і фракціями γ -глобулінів та IgG-глобуліну, виділених з адсорбованих простатоцитотоксинів [2]. При аутоімунному ураженні аутоантитіла, відіграючи активну ефекторну роль, можуть кількісно змінюватися в руслі крові, тому ГСТ, як зовнішній прояв процесу, виступає на передній план. При ураженні, викликаному цитотоксинами, особливо очищеними фракціями, в основному, спостерігаються явища, пов'язані з пригніченням функції залози (атрофічні процеси), хоча можуть спостерігатися й більш значні зміни. При глибокому аутоімунному ураженні, поряд з деструктивними явищами, на перший план виступає дифузна інфільтрація лімфоїдними клітинами всієї передміхурової залози.

Література

1. Григорьев П. С. К вопросу о простатолизинах. Ученые записки Саратовского Госуниверситета, 1923, 1, № 2, с. 85—140.
2. Чернышов В. П. Биологическое действие очищенных препаратов, выделенных из некоторых гетероиммунных сывороток. — В кн.: Труды II съезда урологов Украинской ССР. Киев, «Здоров'я», 1974, с. 245—248.
3. Чернышов В. П., Юнда И. Ф., Карпенко Е. И., Имишинецкая Л. П. Иммунологические и гормональные изменения у больных хроническим простатитом. — Урология и нефрология, 1976, № 6, с. 27—31.
4. Bloom B. R. Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. — Science, 1966, 155, p. 20—82.
5. Coons A. H., Kaplan M. H. Localization of antigen in tissues cells. II. Improvement in method for detection antibody. — J. Exp. Med., 1950, 91, p. 1—9.
6. Endo T. Immunological analysis of the mechanism of the production of prostatitis — especially on the antigen — antibody system of the prostate. — Jap. J. Urol., 1969, 60, N 7, p. 667—677.
7. Flocks R. H., Boatman D. L., Hawtrey C. E. Tissue specific isoantigens in the dog prostate. — Invest. Urol., 1972, 10, N 3, p. 215—220.
8. Peel S. An immunologic study of dog prostate and the effects of injecting antidog prostate serum. — Invest. Urol., 1968, 5, N 5, p. 427—448.
9. Yantorno C., Vottero-Cima E., Galmarini M. Experimental autoimmune damage to rabbit male accessory glands. — Invest. Urol., 1973, 10, N 5, p. 397—403.

Лабораторія патофізіології
Київського науково-дослідного
інституту урології

Надійшла до редакції
1.III 1977 р.

V. P. Chernyshov

EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE AFFECTON OF PROSTATE AND PECULIARITIES OF ITS ANTIGENICITY IN AUTO- AND ISOSYSTEM

Summary

The experiments were conducted on 31 dogs and 50 guinea pigs. Administration of the autologous prostate homogenate to dogs induced a weak formation of antibodies, the homogenates administered in a mixture with the complete Freund adjuvant also evoked hypersensitivity of delayed type (HDT).