

УДК 616.682.001.6—002:616.63—008.6—056.3

В. П. Чернышов

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ УРО(УРЕТРО-)ГЕННЫЙ ЭПИДИДИМИТ НА СОБАКАХ: МОДЕЛИРОВАНИЕ, СОСТОЯНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА, АУТОИММУННЫЕ И АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

Воспаление дополнительных мужских половых органов часто развивается в результате проникновения микроорганизмов каналикулярным путем из уретры [3, 9, 10]. Определенную роль в развитии эпидидимита может играть ретроградное попадание мочи в *vas deferens* [11]. При простатите и эпидидимите нередко наблюдается бесплодие. Описанные в литературе модели эпидидимита предусматривают в основном непосредственное введение микроорганизмов или химических веществ в эпидидимис [8, 15] или в *vas deferens* в сочетании с его раздавливанием [12]. С другой стороны, для оценки состояния сперматогенеза у подопытных собак еженедельно в течение длительного периода производится биопсия яичка [13]. Причиной обнаруженного авторами нарушения сперматогенеза и воспалительных изменений в интерстициальной ткани яичка после перевязки *vas deferens*, с нашей точки зрения, может быть не перевязка, а нарушение гематотестикулярного барьера от наносимой биопсией травмы, в результате чего развивается аутоиммунное поражение яичка как посттравматический орхит [2]. Эти обстоятельства побудили нас разработать модель эпидидимита, более близкую к клинике, не подвергая напрямую физическому воздействию *vas deferens*, эпидидимис и яичко до конца опыта. При этом следовало предусмотреть возможность распространения инфекции из уретры, однако без поражения почки и генерализации восходящей инфекции. Краткое описание модели приведено нами ранее [4, 5]. Данная работа посвящена результатам моделирования уро (уретро-)генного бактериального эпидидимита на собаках, характеристике аутоиммунных и аллергических реакций и состояния сперматогенеза у подопытных животных.

Методика исследований

Исследование проведено на 22 молодых половозрелых беспородных собаках-самцах весом 14—22 кг. У 14 собак под общим гексеналовым наркозом вскрывали брюшную полость. Разрез кожи производился в надлобковой области параллельно средней линии живота, отступая от нее на 3 см. Тупым путем обнажали белую линию и по ней производили разрез брюшной стенки. Из мочевого пузыря с помощью пункции выпускали мочу. Вентральную стенку мочевого пузыря рассекали на протяжении 5—7 мм и через образованное отверстие в простатическую часть уретры вставляли мягкую резиновую трубку диаметром 5 мм. С помощью толстых лигатур, подведенных под уретру выше и ниже предстательной железы, уретру прижимали к резиновой трубке, однако не слишком сильно, чтобы не вызвать пролежней. Несколькими швами трубку фиксировали к дистальной и проксимальной лигатуре. За лигатуру трубка выходила на 1.5—2 см. Проколы при фиксации располагали вне ограниченного лигатурами участка уретры. Отверстие в мочевом пузыре зашивали. Таким образом, на уровне предстательной железы между уретрой и трубкой образовывалась полость, не сообщаемая с остальной уретрой и не препятствующая нормальному оттоку мочи. В эту полость с соблюде-

нием правил асептики и антисептики через стенку уретры инъецировали 2 млрд. микробных тел 18 часовой культуры патогенного штамма *Staphylococcus aureus*, высеянного из секрета предстательной железы мужчины, больного простатитом. Контролем служили восемь интактных собак. Собак забивали через 40—50 дней после начала опыта. Для гистологического исследования срезы простаты, яичка эпидидимиса и др. окрашивали гематоксилин-эозином, по Фельгену и Браше на нуклеиновые кислоты.

Для оценки состояния сперматогенеза у подопытных и контрольных собак применяли количественные методы [14]: 1) наличие в 100 канальцах четырех основных типов клеток сперматогенеза — сперматогоний, сперматоцитов, сперматид и спермиев — и вычисление герминативного индекса; 2) определение среднего количества сперматогоний при подсчете в 50 канальцах; 3) процент канальцев со зрелыми и незрелыми спермиями; 4) процент канальцев с десквамацией сперматогенного эпителия; 5) процент сперматоцитов с XII стадией мейоза.

Кроме того, мы вычисляли плотность расположения клеток сперматогенного эпителия на единицу площади по пяти баллам. Морфологически оценивали функциональное состояние клеток Лейдига по характеру цитоплазмы и ядра. Выделяли пять типов функционального состояния клеток Лейдига: нормальную функцию, повышенную функцию, пониженную функцию, состояние истощения клетки и карлилизис.

Аутоиммунные и аллергические реакции определяли с помощью кожных проб (КП), ингибции миграции лейкоцитов (ИМЛ), реакции пассивной анафилаксии (ПА), пассивной гемагглютинации (РПГА), спермагглютинации в желатине (СА) [17], спермиmobilизации (СИ) [16], непрямой иммунофлуоресценции (ИФ). Антигенами служили водно-солевые вытяжки из ткани яичка, предстательной железы, лизат, полученный замораживанием и оттаиванием отмытых спермиев, взятых из эпидидимиса и *vas deferens* контрольных собак, а также аллерген из исходного штамма *Staphylococcus aureus*, приготовленный по [1]. Для реакции СА и СИ использовали взвесь живых спермиев. Для непрямой иммунофлуоресценции отмытые спермии помещали на стекло, подсушивали, фиксировали метанолом 20 мин и сразу опускали в фосфатный буфер рН=7,2.

Результаты исследований и их обсуждение

Экспериментальный эпидидимит развился у 10 из 14 собак. Через несколько дней после операции и введения микроорганизмов животные становились вялыми, отмечалось повышение температуры, нарастание РОЭ до 20—40 мм/ч, лейкоцитоз до 13—16 тыс. в 1 мм³, постепенная потеря веса. Пальпаторно наблюдалась припухлость эпидидимиса. Через 2—4 нед состояние стабилизировалось, однако сохранялся лейкоцитоз с преимущественным содержанием нейтрофилов. К пятой неделе повышалось процентное содержание лимфоцитов. Через 6—7 нед после начала опыта при микроскопическом исследовании эпидидимиса установлено: просветы желез расширены, выполнены почти во всех наблюдениях гнойным содержимым, эпителий цилиндрический, располагается в один—два ряда, ядра овальные, бледно окрашены гематоксилин-эозином (рис. 1). Межуточная ткань на всем протяжении инфильтрирована полиморфноядерными лейкоцитами, а также лимфоидными и единичными эпителиоидными элементами. Сосуды расширены, полнокровны. При микроскопическом исследовании предстательной железы отмечены широкие межжелезистые прослойки за счет развития в них грубоволокнистой ткани, а также гиперплазии соединительнотканых клеток, среди которых преобладают лимфоидные и плазматические, иногда и нейтрофилы. Они диффузно пронизывают всю межуточную ткань предстательной железы. Железки во всех участках кистовидно растянуты, просветы в одних железках свободны, в других выполнены белковым содержимым с примесью полиморфноядерных лейкоцитов, лимфоцитов и плазматических клеток. Эпителий, выстилающий железки, в большинстве случаев уплощенный или низкокубический, располагается в один ряд, иногда обнаруживаются очаги полной его десквамации (рис. 2). Кровеносные сосуды в межуточной ткани расширены, полнокровны, стенка их утолщена. Патологических изменений в почке и селезенке не обнаружено. В яичке канальцы на поперечных срезах хорошо выражены. Наблюдается значительная разреженность сперматогенного эпителия (рис. 3).

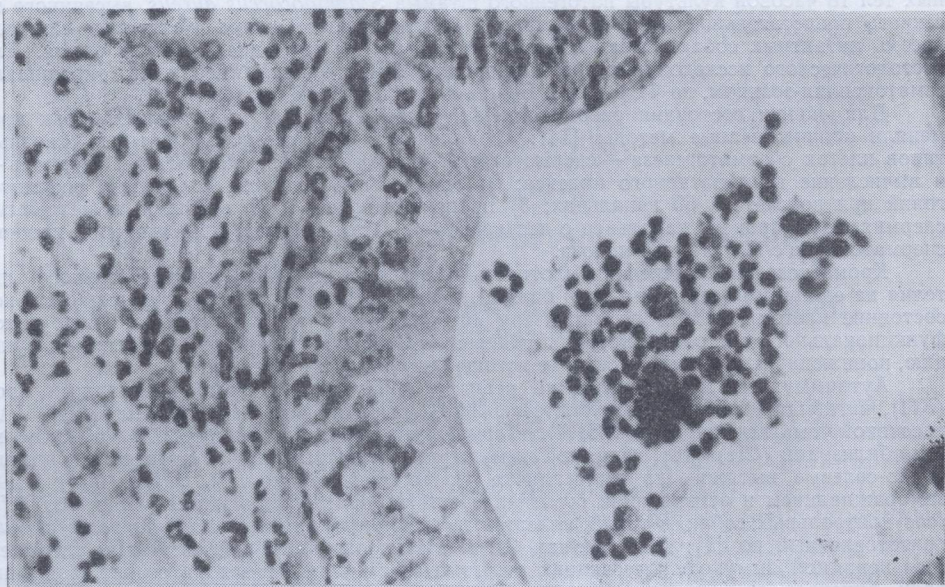


Рис. 1. Эпидидимис подопытной собаки.

Просветы расширены, выполнены экскретом с большой примесью лейкоцитов, лимфоцитов, плазматических клеток. В межуточной ткани аналогичные клетки. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 400$.

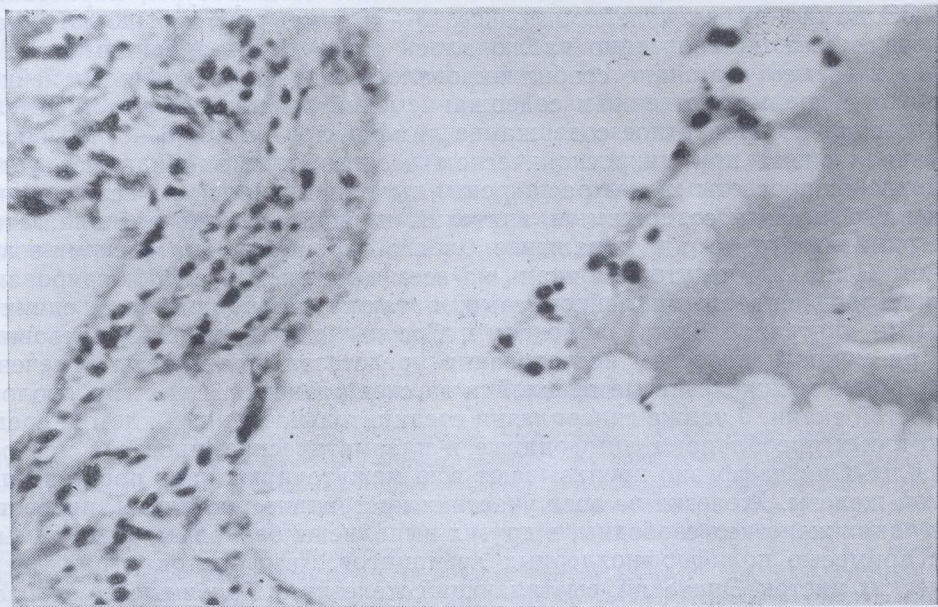


Рис. 2. Предстательная железа подопытной собаки.

Секреторный эпителий предстательной железы уплотнен. Клеточная инфильтрация межуточной ткани. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 400$.

Межуточная ткань развита слабо, кровеносные сосуды умеренно полнокровны. Признаков воспаления не отмечено. ШИК-положительное вещество располагается преимущественно в базальной мембране. Положительная реакция на РНК обнаружена в сперматocyтах I и II порядка, особенно в ядрах, тогда как на ДНК снижена.

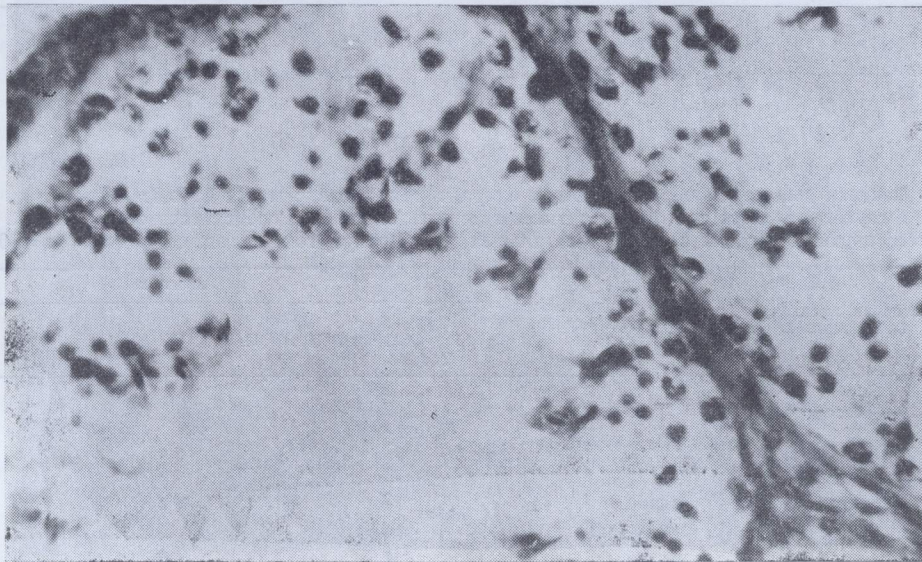


Рис. 3. Семенник подопытной собаки.

Разреженность сперматогенного эпителия. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 400$.

Количественные показатели состояния сперматогенеза приведены в табл. 1. У подопытных собак наблюдается подавление сперматогенеза. Так, герминативный индекс достоверно понижен, однако наиболее значительно снижена плотность слоев сперматогенного эпителия. Достоверно уменьшено количество сперматогоний, процент канальцев, содержащих спермий. Несущественно повысилась десквамация сперматогенного эпителия. Отличий в содержании сперматocyтов с XII стадией мейоза не отмечено. Существенно снизилась функциональная активность клеток Лейдига (табл. 2).

Аутоиммунные и аллергические реакции развивались через 4—6 нед после начала опыта. Частота выявления в эти сроки ГЗТ и циркулирующих аутоантител по выраженности иммунологических тестов на антигены яичка, спермиев, предстательной железы и стафилококка приведены в табл. 3. Кожные пробы проводили лишь с аутологичным антиге-

Таблица 1

Показатели сперматогенеза при экспериментальном уро (уретро)-генном эпидидимите

Группа животных	n	Герминативный индекс	Плотность слоев сперматогенного эпителия	Количество сперматогоний в одном канальце	% канальцев с Десквамацией	% канальцев с незрелыми спермиями	% канальцев со зрелыми спермиями
Контроль	8	$3,22 \pm 0,24$	$3,42 \pm 0,24$	$53 \pm 3,7$	$9 \pm 1,48$	$47 \pm 6,2$	$14 \pm 2,2$
Эпидидимит	10	$2,7 \pm 0,05$	$1,78 \pm 0,09$	$29 \pm 2,26$	$14 \pm 4,06$	$15 \pm 5,24$	$8 \pm 5,5$
p		$< 0,05$	$< 0,01$	$< 0,01$	$> 0,05$	$< 0,05$	$> 0,3$

Таблица 2
Функциональная активность клеток Лейдига при экспериментальном уро (уретро)-генном эпидидимите

Группа животных	n	Нормальная активность	Повышенная активность	Пониженная активность	Истощение клеток	Карлиозис
Контроль	8	$42 \pm 2,23$	$18 \pm 2,76$	$34 \pm 2,6$	$7 \pm 2,02$	$2 \pm 0,58$
Эпидидимит	10	$23 \pm 3,85$	$3 \pm 1,3$	$65 \pm 6,15$	$9 \pm 2,52$	0
p		<0,01	<0,05	<0,01	>0,5	—

Таблица 3
Частота выявления циркулирующих аутоантител в зависимости от выраженности иммунологических тестов на антигены яичек, спермиев, предстательной железы и стафилококка у собак с экспериментальным уро (уретро)-генным эпидидимитом (n=10)

Источник антигена (аллергена)	Степень выраженности иммунологических тестов	ГЗТ		Антитела				
		КП	ИМЛ	РПГА	ПА	СА	СИ	ИФ
Яичко	слабо		2	2	3			
	умеренно		3	3	2			
	резко		—	1	—			
Спермии	слабо		3			2	1	3
	умеренно		4			3	3	2
	резко		1			3	1	—
Простата	слабо	4	1	3	4			
	умеренно	3	4	2	1			
	резко	—	2	1				
Стафилококк	слабо	1	2	2				
	умеренно	4	1	3				
	резко	2	1	2				

«—» — реакция отрицательна.

ном предстательной железы (кусочек ткани брали во время операции) и аллергеном стафилококка. К аллергену стафилококка кожные реакции более выражены. Морфологическое исследование срезов участка кожи, куда производилась инъекция, показало, что при введении физиологического раствора наблюдается небольшая клеточная реакция, отек межточной ткани, полнокровие. При введении антигена предстательной железы обнаружены небольшие клеточные инфильтраты, располагающиеся преимущественно периваскулярно. Среди клеток обнаруживаются лимфоидные и плазматические. При введении аллергена стафилококка на месте введения и вокруг сосудов обнаруживаются обширные инфильтраты, по периферии которых большое количество лимфоидных и плазматических клеток (рис. 4). С помощью ИМЛ выявлена слабая и умеренная реакция к антигену яичка, а резко положительная не обнаружена. К антигенам спермиев и предстательной железы реакция более выражена. К антигену стафилококка положительная ИМЛ выявлена лишь у четырех собак, в то время как к антигену простаты — у семи. Что касается аутоантител, то с антигеном яичка в РПГА и ПА показатели были также менее интенсивны, чем с антигеном предстательной железы, хотя выявлялись в большем количестве случаев. Антиспермальные антитела в тесте СА и СИ были более выражены, чем в ИФ, то есть, в

большинстве случаев, по-видимому, они направлены к поверхностным антигенам спермиев. Динамическое исследование показало, что вначале появляются аутоантитела к антигенам спермиев и предстательной железы, а позже — яичка. То же наблюдалось и в отношении ГЗТ.

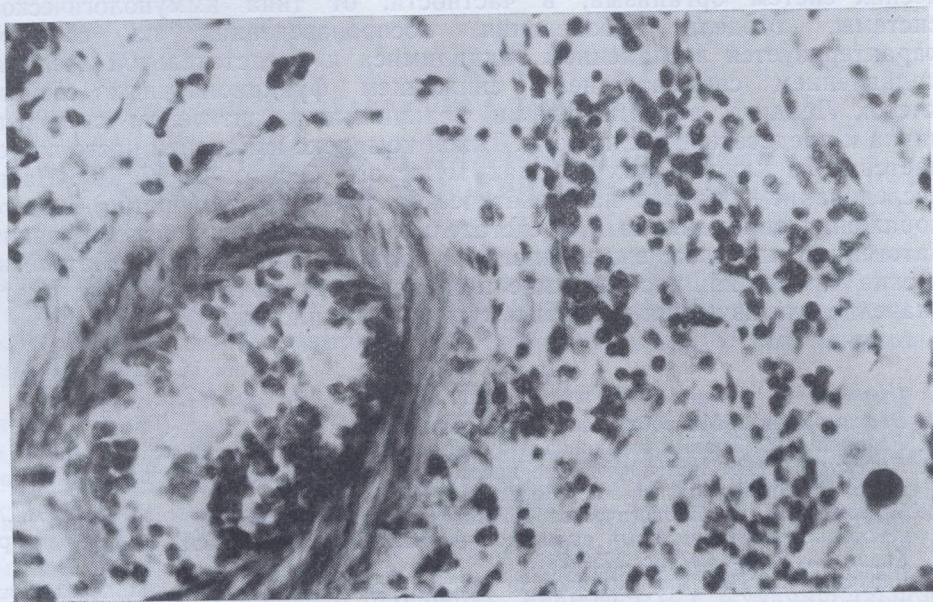


Рис. 4. Срез кожи подопытной собаки.

Обширный клеточный инфильтрат на месте введения стафилококкового аллергена. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 400$.

В наших опытах модель уро(уретро)-генного эпидидимита на собаках воспроизведена в 71% случаев. Высокий процент поражения, видимо, обусловлен замкнутой полостью, искусственно созданной в уретре, в которой накапливается секрет желез и создаются благоприятные условия для размножения микроорганизмов с последующим ретроградным распространением инфекции по *vas deferens*. Причем, воспаление развивается в эпидидимисе и предстательной железе, но не в яичке. Отсутствие воспаления в яичке, видимо, обусловлено свойством организма локализовать инфекцию, а также барьерными свойствами ткани яичка, что проявляется в функционировании гематотестикулярного барьера. Несмотря на отсутствие воспаления в яичке, подавляется сперматогенная функция, снижается активность клеток Лейдига. Аутоиммунные реакции развиваются к антигенам спермиев, видимо, за счет повышенной резорбции их из очага воспаления в канальцах эпидидимиса. Причем резорбция носит патологический характер из-за того, что спермии, как ткань, содержащая аутоантигены, вовлекаются в патологический процесс. При этом следует учитывать и межорганные тканевые антигены, общие для сперматозоидов и других органов, в частности, предстательной железы [6]. Аутоиммунные реакции к яичку, возможно, возникают и за счет выделения антигенного материала — десквамированных клеток — из яичка в патологический очаг. Бактериальное воспаление эпидидимиса и предстательной железы привело к развитию аутоиммунных реакций как к антигенам пораженных органов, так и к антигенам спермиев и яичка. При одинаковой дозе микроорганизмов, используемых для заражения, характер патологического процесса и, в част-

ности, аутоиммунных реакций, различен. У некоторых животных при развившемся патологическом процессе не выявлены аутоиммунные реакции. Видимо, выраженность патологического процесса и аутоиммунных реакций зависит от конституциональных особенностей физиологических систем организма, в частности, от типа иммунологической системы. Модель заболевания, воспроизведенная на собаках характеризуется воспалением эпидидимиса и предстательной железы, подавлением сперматогенеза, снижением функциональных свойств клеток Лейдига, аутоиммунными реакциями к антигенам спермиев, яичка и предстательной железы. Такой комплекс изменений часто встречается при клинических формах мужского бесплодия [7, 10]. Наше исследование показало патогенетическое значение уро(уретро)-генного поражения эпидидимиса и предстательной железы при использовании патогенного штамма, выделенного от больного простатитом. Патологические изменения, наступающие при таком поражении, могут иметь значение для изучения развития мужского бесплодия.

Литература

1. Вершигора А. Е. Микробная аллергия. Киев, «Здоров'я», 1971. 274 с.
2. Райцина С. С. Травма семенника и аутоиммунитет. М., «Медицина», 1970. 183 с.
3. Проскура О. В. Неспецифические простатиты и везикулиты.— В кн.: Руководство по практической урологии. М., «Медицина», 1970, с. 193—207.
4. Чернышов В. П. Биологическое действие очищенных препаратов, выделенных из некоторых гетероиммунных сывороток.— В кн.: Труды II съезда урологов УССР. Киев, «Здоров'я», 1974, с. 245—248.
5. Чернышов В. П. Иммунологические факторы при экспериментальных поражениях предстательной железы и эпидидимиса.— III Междунар. симпозиум по иммунологии размножения. Варна, 1975, с. 151—152.
6. Чернышов В. П., Подоплелов И. И. Иммунобиологическое изучение предстательной железы и сперматозоидов.— В кн.: Иммунология размножения.— Труды II Междунар. симпозиума. Варна, 1971, София, 1973, с. 238—241.
7. 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.
8. Шперлинг И. Д. К морфологии и патогенезу экспериментальной сперматозоидной гранулемы придатка яичка.— Архив патологии, 1966, 28, № 5, с. 65—68.
9. Эпштейн И. М. Специфические воспалительные заболевания органов половой системы мужчин.— В кн.: Руководство по практической урологии. М., «Медицина», 1970, с. 208—233.
10. Юнда И. Ф. Состояние и перспективы изучения половых расстройств урогенитального генеза.— Проблемы сексopatологии и бесплодия. Киев, 1973, с. 3—16.
11. Carlton C. E., Leader A. J. The cystourethrographic demonstration of retrograd urinary flow in the was deferent as a cause of epididymitis.— J. Urol., 1960, 84, p. 123—125.
12. Casteel C. K., Thompson I. M., Wipfler E. J. Vas crush for prevention of post-prostatectomy epididymitis.— J. Urol., 1965, 93, N 4, p. 476—478.
13. Mc Doogall M. K., Mc Cowin K., Derrick F. C., Glover W. L., Jacobson C. B. The effects of vasectomy on spermatogenesis in the dog, *Cannis familiaris*: a meiotic analysis.— Fertil. and Steril., 1975, 26, N 8, p. 786—790.
14. Fogg L. G., Cowing R. F. The changes in cell morphology and histochemistry of the tests following irradiation and their relation to other induced testicular changes. I. Quantitative random sampling of germinal cells at intervals following direct irradiation.— Cancer Research, 1951, 11, N 1, p. 23—28.
15. Gondzik M. Doswiadczalna gruźlica najadrzy i jader u świnek morskich.— Gruźl. i choroby płuc., 1965, 33, N 1, s. 41—44.
16. Isojima S., Shun T., Ashitaka Y. Immunologic analysis of spermimmobilizing factor found in sera of women with unexplained sterility.— Amer. J. Obstetr. and Gynecol., 1968, 101, N 5, p. 677—683.
17. Kibrick S., Belting D. L., Merrill B. Methods for the detection of antibodies against mammalian spermatozoa. II. A gelatin agglutination test.— Fertil. and Steril., 1952, 3, p. 430.

Лаборатория патофизиологии
Киевского института урологии

Поступила в редакцию
23.I 1978 г.