

УДК 636.082.453.5:612.017.1

И. И. Соколовская, А. И. Абилов, Р. Н. Ойвадис, Т. А. Таг

МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ АУТОАНТИТЕЛ К СЕМЕННОЙ ПЛАЗМЕ И ЖИВЧИКАМ ПОСЛЕ АУТОИММУНИЗАЦИИ КРОЛИКОВ-САМЦОВ

На количество и качество семени, выделяемого в эякулятах самцов, оказывают влияние многие факторы, особое место среди которых занимают травмы, воспалительные процессы, перегрев либо переохлаждение семенников, что приводит к возникновению в организме самцов синтеза специфических аутоантител к семени и его отдельным компонентам [7, 12, 16].

Для выявления самцов, у которых самопроизвольно возникают аутоантитела, разработано несколько методов [2, 3, 6, 17]. Последствием спонтанной или нарочито вызванной аутоиммунизации живчиками является нарушение сперматогенеза и ухудшение результативности осеменения.

Исследованиями в электронном и в световом микроскопе показано, что основная мишень действия аутоантител — клетки сперматогенного эпителия на разных стадиях сперматогенеза [5, 7, 10].

Искусственное осеменение коров семенем быков, у которых обнаружены аутоиммунные явления, приводит к ухудшению результатов по сравнению с контролем, несмотря на наличие в эякулятах достаточного числа поступательно подвижных живчиков.

Так, было установлено, что при положительной РОС-реакции (реакция оседания живчиков в аутосыворотке крови самцов в присутствии комплемента) и титрах 1:4—1:8 результат осеменения 3331 коровы был ниже на статистически достоверную величину по сравнению с итогом осеменения быками с отрицательной РОС [6].

Плазма семени также обладает сильным антигенным действием [15] и способна вызвать на себя антитела в результате иммунизации. Однако опыты показали, что секреты добавочных половых желез не участвуют в оплодотворении, которое осуществляется успешно после осеменения эпидидимальными живчиками. Биологическое значение плазмы семени ограничивается тем, что она представляет собой среду, которая способствует выделению живчиков в эякулят, а также активизации их движений, подавленных слабо кислой средой каудального участка эпидидимиса [8]. Высказано также предположение о маскирующем действии обволакивающих антигенов, что сохраняет до поры собственные антигены живчиков, участвующие в оплодотворении; нейтрализация обволакивающих антигенов в половых путях самок — важный фактор капацитации [9]. (Капацитация, как описано, происходит в половом пути самки в процессе миграции живчиков в яйцеводы [13]). Непосредственно на объединение гамет (вне организма) семенная плазма действует резко отрицательно [14]. Есть основания полагать, что иммунизация самцов семенной плазмой должна бы отразиться на функции добавочных половых желез, снижая объем семени, но не влияя на биологическую полноценность живчиков и на результат осеменения.

Мы изучали сравнительное действие ало- и ауто-иммунизации самцов с целью выявления иных мишеней действия антител к отдельным компонентам семени кроме семенного эпителия извитых канальцев.

Методика исследований

От четырех годовалых самцов-кроликов брали семя в искусственную вагину, отделяли посредством центрифугирования плазму семени. Осадок (живчики) промывали трижды забуференным раствором для приготовления экстракта из окончательного осадка. Двух самцов иммунизировали экстрактом их собственных живчиков, двух — плазмой их же семени (аутоиммунизация) и еще двух экстрактом смешанных эякулятов других самцов (аллоиммунизация). Антигены вводили в конъюнктиву глазного века [4]. Через 7 сут после завершения иммунизации у самцов брали кровь для выявления иммунного ответа.

Одному кролику-самцу нанесли одностороннюю травму семенника проколом стерильной иглой в двух местах на глубину 3 мм. Эффективность иммунизации и последствия травмы определяли подсчетом спонтанных розеток в периферической крови: в каждом варианте опыта исследовали по 400 лимфоцитов и вычисляли процент розеткообразующих, то есть присоединивших к себе три и более эритроцита барана [1].

Определяли действие травмы и иммунизации на объем эякулятов, общее число живчиков в них, подвижность, а также сохранность акросом акроскопическим методом [11], подсчитывая по 200 живчиков на препаратах из каждого эякулята. От каждого самца исследовали по семь эякулятов до иммунизации (что служило контролем) и по семь после иммунизации. Для исследования биологической полноценности эякулятов иммунизированных самцов, то есть способности живчиков к оплодотворению, осеменяли 25 крольчих для сравнения действия ауто- и аллоиммунизации самцов экстрактом живчиков и 17 крольчих для выяснения действия аутоиммунизации самцов плазмой их семени на результат осеменения. Семенем тех же самцов, взятым от них до иммунизации, осеменяли шесть крольчих, что служило контролем. Об итогах судили по числу эмбрионов у убитых самок и по числу живых родившихся крольчат.

Результаты исследований

Сравнительное действие ауто- и аллоиммунизации экстрактом живчиков на качество семени показано в табл. 1, из которой видно, что аутоиммунизация живчиками приводит к заметному иммунному ответу и к ухудшению количества и качества выделенного семени, особенно по общему числу живчиков.

Таблица 1
Изменение процента спонтанных розеток в периферической крови кроликов-самцов и качества эякулятов после ауто- и аллоиммунизации экстрактом живчиков или после травмы семенника

Группы опыта	Э-розетки*	Неповрежденные акросомы, %	Объем эякулята, мл	Общее число живчиков, млн	Подвижность
Аутоиммунизация					
До опыта (контроль)	10±1,5	73	0,7	520	0,8
После опыта	47±2,0	61	0,4	190	0,6
Разница	+37±2,5	-12	-0,3	-330	-0,2
Травма семенника					
До опыта	24±2,1	69	0,5	370	0,8
После опыта (2 нед)	63±1,9	25	0,2	40	0,2
Разница	+39±2,8	-44	-0,3	-310	-0,6
Аллоиммунизация					
До опыта (контроль)	17±1,8	76	0,5	220	0,8
После опыта	49±2,0	61	0,3	130	0,7
Разница	+32±2,7	-15	-0,2	-90	-0,1

* Из 400—600 лимфоцитов по каждой группе ($p < 0,001$).

Еще более пагубно действует аутоиммунизация, вызванная травмой семенника. В эякулятах этой группы обнаружено много деформированных живчиков, у которых повреждена не только акросома, но и другие структуры. Аллоиммунизация живчиками вызвала изменения, аналогичные аутоиммунизации, за исключением общего числа живчиков и их подвижности, которые были изменены незначительно. Эти из-

менения характеристики 2 нед после воздействия более месяца; следовательно могут быть не только из го канала, что неоднократно живчики из каудалы

Характеристика воспроизводства самцов ауто- или а

Самцы	Осеменение
До иммунизации	3
После иммунизации ауто	2
алло	2

Изменение числа Э-розеток

Группы	Э-ро
До иммунизации (контроль)	36
Аутоиммунизация	54
Разница	+18

* Из 400 лимфоцитов по каждой

Исследование влияния результата осеменения показывается не только на б на оплодотворяемости оошень действия антител к вивающийся из ооцитов, ного самца.

От иммунизации сами функций добавочных пол. Иммунный ответ и качес плазмой их семени показ мунизация плазмой семеннее чем в два раза) сниз ных в эякулятах живчикс лась на их подвижности. сом снизился на статистич

Хорошая подвижности рованных плазмой семени, акросомами позволяли на, крольчих. Итоги осеменени от самцов, иммунизирован шести осемененных самок в контроле. Как показали

менения характеристики эякулятов были зарегистрированы всего через 2 нед после воздействий; процесс сперматогенеза у кроликов длится более месяца; следовательно, мишенью действия ауто- и аллоантител могут быть не только клетки и живчики, размещенные внутри извитого канальца, что неоднократно описано ранее, но и уже сформированные живчики из каудального участка эпидидимиса.

Таблица 2

Характеристика воспроизводительных функций крольчих, осемененных эякулятами самцов ауто- или аллоиммунизированных экстрактами живчиков

Самцы	Осемено- но самок	На самку		Рождаемость потомства			
		жел- тых тел	эм- брио- нов	Осемено- но самок	Из них окроли- лось	живых крольчат	
						на самку	в % к кон- тролю
До иммунизации	3	7	7	6	6	8,8	100
После иммунизации							
ауто	2	11	11	6	5	3,8	43
алло	2	10	6	6	1	1,0	11

Таблица 3

Изменение числа Э-розеток и качества семени у кроликов после аутоиммунизации плазмой семени

Группы	Э-розетки*, %	Объем эякулята, мл	Общее число живчиков в эяку- ляте (млн)	Подвиж- ность живчиков	Целых акро- сом**, %
До иммунизации (кон- троль)	30±2,3	0,5	185	0,8	66
Аутоиммунизация	54±2,5	0,2	72	0,8	42
Разница	+24±3,4	-0,3	-113	0	-24

* Из 400 лимфоцитов по каждой группе; ** из 1400 живчиков по каждой группе ($p < 0,001$)

Исследование влияния ауто- и аллоиммунизации живчиками на результат осеменения показало, что иммунизация самцов живчиками отражается не только на биологической полноценности живчиков, но и на оплодотворяемости ооцитов (табл. 2). Обнаружена еще одна мишень действия антител к живчикам в организме самца — эмбрион, развивающийся из ооцитов, оплодотворенных живчиками иммунизированного самца.

От иммунизации самцов плазмой их семени мы ожидали снижения функций добавочных половых желез и уменьшения объема эякулята. Иммунный ответ и качество семени в итоге аутоиммунизации самцов плазмой их семени показаны в табл. 3, из которой видно, что аутоиммунизация плазмой семени вызвала иммунный ответ, значительно (более чем в два раза) снизила объем эякулята и общее число выделенных в эякулятах живчиков, как и предполагали, но вовсе не отразилась на их подвижности. Вместе с тем процент неповрежденных акросом снизился на статистически достоверную величину.

Хорошая подвижность живчиков в эякулятах самцов, иммунизированных плазмой семени, и более 40 % живчиков с неповрежденными акросомами позволяли надеяться на успешные результаты осеменения крольчих. Итоги осеменения показаны в табл. 4, из которой видно, что от самцов, иммунизированных плазмой из их эякулятов, ни одна из шести осемененных самок не принесла потомства против 100 % окрола в контроле. Как показали вскрытия пяти самок (три в контроле и две

после осеменения эякулятами иммунизированных самцов — на десятки суток после введения самкам семени), причина этого явления — полное отсутствие оплодотворения ооцитов, то есть потеря живчиками биологической полноценности при 100 % оплодотворения ооцитов в контроле.

Таблица 4
Результаты осеменения крольчих эякулятами самцов, аутоиммунизированных плазмой их семени

Группы	Оплодотворяемость ооцитов			Рождаемость потомства		
	осеменено самок	на самку желтых тел	эмбрионов	осеменено самок	из них окролилось	крольчат на самку
До иммунизации (контроль)	3	6	6	6	6	9
Аутоиммунизация плазмой семени	2	9	0	6	0	0

Таким образом установлено, что аутоиммунизация самцов плазмой семени отражается не только на функции добавочных половых желез, как ожидалось, но также сводит к нулю результативность осеменения, несмотря на хорошую подвижность живчиков в эякулированном семени.

Обсуждение результатов исследований

Отрицательное действие спонтанной либо нарочитой аутоиммунизации самцов их семенем на сперматогенный эпителий в разных фазах формирования и созревания гамет убедительно доказано и объяснено ослаблением либо нарушением гематотестикулярных барьеров [7].

Обнаруженные в данной работе влияния ауто- и аллоиммунизации самцов отдельными компонентами их эякулятов на акросомный аппарат их живчиков, на оплодотворяемость ооцитов, а также на эмбриональную выживаемость выявили новые мишени действия аутоантител. Особенно неожиданной была 100 % неплодотворность осеменения самок эякулятами самцов, аутоиммунизированных плазмой их семени, несмотря на высокий процент (80 %) поступательно подвижных живчиков и более 40 % из них с целыми акросомами. Неплодотворность осеменения эякулятами таких самцов может быть предположительно объяснена тем, что антитела к обволакивающим антигенам, вызванным иммунизацией, образуют на поверхности живчиков комплексы, препятствующие капацитации либо блокирующие контакт с прозрачной зоной ооцитов.

В итоге данной работы установлено, что мишенями прямого действия аутоантител к живчикам оказались не только клетки сперматогенного эпителия на разных стадиях развития, но также сформированные эпидидимальные живчики (снизилась их подвижность, численность в эякулятах; произошла частичная деформация). Косвенно аутоантитела к живчикам повлияли отрицательно на процесс эмбриогенеза у самок, беременных от осеменения аутоиммунизированными самцами (снизилась пренатальная выживаемость).

Мишенями прямого действия аутоантител к плазме семени стали прежде всего секретирующие клетки добавочных половых желез, а также частично акросомы живчиков. Аутоантитела к семенной плазме произвели также совершенно неожиданный результат — полное отсутствие ооцитов самок, осемененных эякулятами аутоиммунизированных плазмой семени самцов. Продолжаются исследования для раскрытия механизма этого явления.

Сопоставление данных нашего опыта по определению мишеней действия аутоантител к отдельным компонентам эякулята с приведен-

ными выше результатами быков — носителей обходности периодических действий аутоантител к разработки метода предо-

I. I. Sokolovskaya

AUTOANTIBODY ACTION
AND SPERMS AFTER

The immune body action target immunization with their sperms. These treatments strongly increase blood of males and decreased the. The most important and new result of the autoimmune body effect of the female rabbits, inseminate of live newborn rabbits from 100 % in control and 0 % from motility of their sperms. Possible developing contraception methods o

1. Бронская А. В., Соколовская И. И. Реакции лимфоцитов на ксе... Тез. II Всесоюз. симпозиум по...
2. Жаркин В. В. Иммунологич... мени быков. — Животноводст...
3. Жаркин В. В. Флуоресцент... ций в семени быков. — В кн. дения. М., 1980, с. 13—13.
4. Зубжидский Ю. Н. Эффекти... высоким титром для работы № 5, с. 8—11.
5. Зеленская Т. М. Эндокринны... Наук. думка, 1981. — 146 с.
6. Ойвадис Р. Н., Соколовская И. И. Аутоантитела к кров... Тез. II Всесоюз. симпозиум по...
7. Райцина С. С. Травма семе... Соколовская И. И. Проблем...
8. Соколовская И. И. Иммуны... втотных и результаты новых... таты исследований по биоло...
9. Соколовская И. И., Островски... реакции на вазектомию, трав... симпозиум по иммунологии воспр...
10. Соколовская И. И., Ойвадис... оценке семени самцов-произв...
11. Братанов К., Диков В., Попов... ды Болгарской Академии Наук...
12. Chang M. C. Fertilizing cap... Nature (L), 1951, N 168, p. 697.
13. Chang M. C. A detriment eff... sperm. — Nature (L), 1957, N 17...
14. Weil A. J. Immunological diffi... the rabbits. — Science (N. Y.), 1...
15. Voisin G. A., Delaunay A., Ba... cobayes iso and autosensibilisa...
16. Zappi E., Shulman S. Sperm... luation of antibodies against s...

Всесоюзный институт
животноводства

4 — Физиологический журнал, № 4.

ными выше результатами осеменения крупного рогатого скота эякулятами быков — носителей аутоиммунных тел приводит к выводу о необходимости периодического исследования эякулятов самцов-производителей для решения вопроса об их использовании. Данные о мишенях действия аутоантител в плазме семени могут служить основой для разработки метода предупреждения зачатия.

I. I. Sokolovskaya, A. I. Abilov, P. N. Oivadis, T. A. Tag

AUTOANTIBODY ACTION TARGETS OF SEMINAL PLASMA
AND SPERMS AFTER AUTOIMMUNIZATION OF MALE RABBITS

The immune body action targets induced in male rabbits either by auto- and alloimmunization with their sperms, seminal plasma or by testis trauma were investigated. These treatments strongly increased the spontaneous rosette percentage in peripheral blood of males and decreased the volume of ejaculates and the total number of sperms. The most important and new result of these experiments is detection of an indirect target of the autoimmune body effect on seminal plasma. It is the reproductive function of the female rabbits, inseminated with ejaculates from autoimmunized males. The number of live newborn rabbits from males, autoimmunized with sperms was 11 % against 100 % in control and 0 % from males, autoimmunized with seminal plasma, despite good motility of their sperms. Possible mechanisms of this phenomenon and prospects for developing contraception methods on this basis are discussed.

Список литературы

1. Бронская А. В., Соколовская И. И., Горбунова Р. И., Радченков В. П. Изменение реакции лимфоцитов на ксеногенные эритроциты в ходе беременности.— В кн.:— Тез. II Всесоюз. симпоз. по иммунологии воспроизведения. М., 1980, с. 185.
2. Жаркин В. В. Иммунологический способ оценки оплодотворяющей способности семени быков.— Животноводство, 1979, № 3, с. 64—65.
3. Жаркин В. В. Флуоресцентно-микроскопические исследования аутоиммунных реакций в семени быков.— В кн.: Тез. II Всесоюз. симпоз. по иммунологии воспроизведения. М., 1980, с. 13—13.
4. Зубжицкий Ю. Н. Эффективный метод получения преципитирующих сывороток с высоким титром для работы с люминесцирующими антителами.— Лаб. дело, 1960, № 5, с. 8—11.
5. Зеленская Т. М. Эндокринные взаимоотношения и тестикулярные антитела.— Киев : Наук. думка, 1981.—146 с.
6. Ойвадис Р. Н., Соколовская И. И., Керимбаев М. Б. Связь реакции оседания живчиков в аутосыворотке крови (РОС) быков с результатами осеменения.— В кн.: Тез. II Всесоюз. симпоз. по иммунологии воспроизведения. М., 1980, с. 23—23.
7. Райцина С. С. Травма семенника и аутоиммунитет.— М.: Медицина, 1970.—183 с.
8. Соколовская И. И. Проблемы оплодотворения сельскохозяйственных млекопитающих.— М.: Сов. наука, 1957.—315 с.
9. Соколовская И. И. Иммунные реакции в воспроизведении сельскохозяйственных животных и результаты новых экспериментов.— В кн.: Направления и новые результаты исследований по биологии воспроизведения животных. Дубровицы, 1977, с. 3—16.
10. Соколовская И. И., Островский Ф. М. Цитологические, физиологические и иммунные реакции на вазектомию, травму и перегрев семенников.— В кн.: Тр. II Междунар. симпоз. по иммунологии воспроизведения. София, 1973, с. 106—116.
11. Соколовская И. И., Ойвадис Р. Н., Абилов А. И. и др. О значении акросомы в оценке семени самцов-производителей.— Животноводство, 1981, № 9, с. 39—41.
12. Братанов К., Диков В., Попова Г. О формировании антител у производителей: Труды Болгарской Академии Наук, 1964, т. 4, № 17, с. 1117—1118.
13. Chang M. C. Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into fallopian tubes.— Nature (L), 1951, N 168, p. 697—698.
14. Chang M. C. A detrimental effect of seminal plasma on the fertilization capacity of sperm.— Nature (L), 1957, N 179, p. 258—259.
15. Weil A. J. Immunological differentiation of epididymal and seminal spermatozoa of the rabbits.— Science (N. Y.), 1960, N 131, p. 1040—1042.
16. Voisin G. A., Delaunay A., Barber M. Sur des lesions testiculaires provoqués chez les cobayes iso and autosensibilisation.— Annales Institut Pasteur, 1951, N 81, p. 48—63.
17. Zappi E., Shulman S. Sperm sedimentation patterns. A semimicromethod for evaluation of antibodies against spermatozoa.— Intern. J. Fertility, 1971, N 16, p. 75—78.

Всесоюзный институт
животноводства

Поступила в редакцию
12.III 1982 г.