

УДК 616—001.19:612.017.1

В. П. Чернышов

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ
ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ПРОЛОНГИРОВАННОМ КРИОВОЗДЕЙСТВИИ

После краткого криовоздействия на предстательную железу собак не обнаружено какой-либо инфильтрации ткани простаты лимфоидными и плазматическими клетками [4, 5]. Однако такие изменения констатированы в опытах на обезьянах [3].

Изученная нами антигенность предстательной железы собаки в аутологичном и аллогенном организме и воспроизведение на этом виде животных аутоиммунного поражения предстательной железы [2] позволило предположить возможность иммунного ответа на криодеструкцию железы при определенных условиях. Учитывая, что в упомянутых морфологических исследованиях было проведено частичное замораживание предстательной железы в течение 4 мин независимо от размера железы, мы устанавливали длительность криовоздействия в зависимости от размера железы. Замораживание осуществляли из одной точки приложения криозонда до затвердения всей железы. В отличие от описанных выше работ, нами при криовоздействии введены два дополнительных фактора: 1) удлиненный период криовоздействия и 2) криовоздействие через раневую поверхность, когда наконечник — источник холода — находился в глубине паренхимы, что обеспечивало тесный контакт непосредственно с тканью предстательной железы.

Методика исследований

Исследование проведено на 59 молодых половозрелых собаках-самцах массой 15—20 кг. У 43 из них осуществляли криовоздействие на предстательную железу. Контролем служили 16 собак, из которых у восьми производилась лишь биопсия предстательной железы, у четырех собак — криовоздействие на почку и у четырех — на семенник. Криодеструкцию предстательной железы осуществляли с помощью криозонда, изготовленного Институтом физики АН УССР.

Под внутривенным гексеноловым наркозом вскрывается брюшина полость. В надлобковой области параллельно средней линии живота, отступая от нее на 3—5 см, делается разрез кожи. Тупым путем обнажается белая линия живота, и по ней производится разрез брюшной стенки. Выделяется предстательная железа, поверхность ее освобождается от жировой клетчатки. Из ventральной части левой доли железы иссекается прямоугольный кусочек ткани размером 5×8×4 мм, малая часть которого используется для морфологического контроля, а большая—для приготовления антигена аутологичной предстательной железы. В образовавшийся дефект ткани вводят наконец криозонда. Замораживание осуществляется до затвердения всей железы, что контролируется пальпаторно. Время замораживания зависит от величины предстательной железы и в среднем составляет 10 мин. Оттаивание происходит естественным путем, его продолжительность 10—15 мин. Для предотвращения замораживания окружающих органов и тканей предстательную железу приподнимают с помощью лигатур и металлических крючков, подвешенных под уретру выше и ниже простаты.

В опытах по криогенному воздействию на предстательную железу две собаки забиты через 10 мин после оттаивания предстательной железы, две — через 24 ч, две — через 7 сут, две — через 21 сут, и на них проведено лишь морфологическое исследование. Остальные 35 собак с криовоздействием на предстательную железу подразделены на 4 группы: 11 собак с одним однократным криовоздействием (I группа), 11 собак с одним трехкратным криовоздействием (II группа), 5 собак с одним трехкратным криовоздействием с введением животным антилимфоцитарного глобулина, начиная за одну неделю до опыта, в дозе 13 мг/кг через день в течение одного месяца (III группа) и 8 собак с тремя трехкратными криовоздействиями, интервалы между которыми составляли 1—2 мес (IV группа).

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) изучали с помощью ингибции миграции лейкоцитов в капилляре (ИМЛ). Аутоантитела выявляли с помощью реакции пассивной гемагглютинации (РПГА). Преципитирующие антитела — с помощью

реакции двойной диффузии в аге 19S-антител проводили на количестве антигена использовали воной железы. Конечная концентрация, а РПГА — в момент адсорбции составляла 100 мкг/мл, в реакции приготовления антигена кумогенезировали, водно-солевые ванны 60 мин, 4 °C расфасовывали по вытяжках определяли по методическим антигенам в водно-солевых растворах сывороток кроличьих, тельной железы собак и истон печени, легкого, сердца, селезенки лимфоцитов использовали реак

Результаты

При исследовании по титру 1 : 8. Через 7 дней выявляться. У ряда животных аутоантитела. В I группе антитела обнаружены у 10 животных. В I группе титр аутоантител несколько недель после начала этанола и на колонке с сорбентом. По-видимому, они присутствуют в течение уже 10 дней, которые выделялись в моче. Таким образом, антитела к эритроцитам. При введении АЛГ III группы, у трех собак антитела к 2-меркапту. При фракционировании g-200 активность аутоантител. Вторичный ответ антител. Когда трехкратное введение один месяц (IV группа) антител с каждым сеансом антител. Они были устойчивы к 7S-антителам. Выявляемых аутоантител. Гемагглютинация с изоантителами. В большинстве случаев антител предстательной железы. Обладают органоидной специфичностью.

После замораживания через 4 нед обнаружены чувствительных к 2-МЭ, 6—7 нед — нечувствительных почки у четырех собак. Не обнаружены также и оперативного вмешательства желез.

Как следует из преобразования, выраженная на предстательную жел

реакции двойной диффузии в агаровом геле и иммуноэлектрофореза. Выделение 7S и 19S-антител проводили на колонках с сефадексом ДЕАЕ А-50, АЕ А-50, g-200. В качестве антигена использовали водно-солевой экстракт ткани аутологичной предстательной железы. Конечная концентрация антигена по белку при постановке ИМЛ в камере, а РПГА — в момент адсорбции антигена на таннизированных эритроцитах барана составляла 100 мкг/мл, в реакции преципитации в агаровом геле — 20–25 мг/мл. Для приготовления антигена кусочки ткани растирали в охлажденном стеклянном гомогенизаторе, водно-солевые вытяжки после центрифугирования при режиме 12000g, 60 мин, 4°C расфасовывали по порциям и хранили при —20°C. Содержание белка в вытяжках определяли по методу Лоури. Количественное содержание органоспецифических антигенов в водно-солевых экстрактах ткани предстательной железы изучали с помощью кроличьих сывороток, полученных после иммунизации вытяжками предстательной железы собак и истощенных вытяжками из ткани других органов (почки, печени, легкого, сердца, селезенки). Для характеристики функционального состояния лимфоцитов использовали реакцию бласттрансформации (РБТ) на ФГА, Кон А и PWM.

Результаты исследований и их обсуждение

При исследовании подопытных животных до криовоздействия аутоантитела в сыворотке крови обнаружены лишь у двух животных в титре 1:8. Через 7 дней после криовоздействия эти антитела перестали выявляться. У ряда животных через 2–6 нед появились циркулирующие аутоантитела. В I группе с однократным криовоздействием аутоантитела обнаружены у восьми животных, во II группе с одним трехкратным криовоздействием — у семи. При трехкратном замораживании титр аутоантител несколько выше. Аутоантитела, выявляемые до четырех недель после начала опыта, были чувствительны к 2-меркаптоэтанолу и на колонке с сефадексом g-200 выделялись с первым пиком. По-видимому, они представляют собой 19S-антитела. В последующие сроки определялись уже устойчивые к 2-меркаптоэтанолу аутоантитела, которые выделялись на колонке с сефадексом ДЕАЕ А-50 с первым пиком. Таким образом первичный иммунный ответ сменялся вторичным. При введении АЛГ (антилимфоцитарного глобулина) животным III группы, у трех собак обнаружено образование аутоантител, чувствительных к 2-меркаптоэтанолу, в титре 1:8–1:32 в срок 4–5 нед. При фракционировании наиболее активных сывороток на сефадексе g-200 активность аутоантител обнаружена во фракции 19S-глобулинов. Вторичный ответ антителообразования у данных животных не выявлен. Когда трехкратное замораживание проводилось трижды с интервалом один месяц (IV группа), отмечено нарастание титра аутоантител с каждым сеансом замораживания предстательной железы. Особенно высокий титр аутоантител обнаружен после третьего замораживания. Они были устойчивы к 2-меркаптоэтанолу и, по-видимому, относились к 7S-антителам. С целью изучения органной направленности выявляемых аутоантител одновременно ставили реакцию пассивной гемагглютинации с изологичными антигенами почки и семенника. В большинстве случаев аутоантитела были специфичны в отношении антигена предстательной железы, титр перекрестно реагирующих антител значительно ниже. Следовательно, образовавшиеся аутоантитела обладают органной специфичностью в отношении антигенов предстательной железы.

После замораживания семенника (V группа) у двух (50 %) животных через 4 нед обнаружено появление антисеменниковых аутоантител, чувствительных к 2-МЭ, однако в низких титрах (1:8–1:16), а через 6–7 нед — нечувствительных к 2-МЭ. При криовоздействии на ткань почки у четырех собак мы не обнаружили образования аутоантител. Не обнаружены также аутоантитела и у контрольных животных после оперативного вмешательства — биопсии левой доли предстательной железы.

Как следует из приведенного материала, интенсивность антителообразования, выраженная в титре аутоантител, после криовоздействия на предстательную железу индивидуальна. Мы решили выяснить, за-

висит ли антителообразование от содержания органоспецифических антигенов предстательной железы. Содержание органоспецифических антигенов в вытяжках предстательной железы определяли по [1] с использованием реакции преципитации в агаровом геле. Определяли минимальное количество белка в водно-солевой вытяжке предстательной железы собаки, при котором еще формировалась полоса преципитации. Это количество представляет собой частное от деления содержания белка в вытяжке на наибольшее разведение этой вытяжки, при котором еще происходит реакция антиген-антитело. Корреляционный анализ показал существование прямой зависимости между содержанием органоспецифических антигенов в предстательной железе и титром 19S-аутоантител, образующихся после трехкратной криодеструкции предстательной железы (II группа) при $r=0,705$, $p<0,05$. Корреляционное отношение $\rho_y=0,98$. Следовательно, связь между титром 19S-антител и содержанием органоспецифических антигенов близка к функциональной. Для 7S-антител не выявлено тесной зависимости от содержания органоспецифических антигенов ($r=0,25$).

Динамически, один раз в неделю, с помощью теста ИМЛ изучали состояние сенсибилизации лимфоцитов к аутоантигенам предстательной железы после криодеструкции. До криодеструкции у подопытных животных не обнаружено положительных показателей ИМЛ с аутологичным антигеном предстательной железы. В I группе положительные показатели ИМЛ обнаружены через 5–6 нед у пяти животных в интервале 0,59–0,79. При трехкратном криовоздействии положительный тест ИМЛ выявлен через 4–6 нед у восьми животных в интервале от 0,42 до 0,79. Сравнение данных групп животных по этим параметрам показало достоверно большее снижение показателей ИМЛ при трехкратном криовоздействии. Во II группе наблюдались более выраженные показатели, и даже среднее значение ИМЛ соответствует положительной реакции. У животных III группы, которым вводили АЛГ на всем протяжении опыта, положительных показателей теста ИМЛ не отмечено. Сравнение II и III групп показало, что при трехкратной криодеструкции введение АЛГ предотвращает появление положительной реакции ИМЛ. Из восьми животных IV группы после трех трехкратных криовоздействий с интервалом в 1 мес у шести животных развилась положительная реакция ИМЛ. Наиболее интенсивные показатели наблюдались после второго замораживания. После криодеструкции ткани семенника положительная реакция ИМЛ отмечена у трех животных, однако напряженность ее была довольно низкой. Тем не менее, по отношению к контролю отмечено достоверное снижение показателей ИМЛ. После криодеструкции почки положительных показателей ИМЛ не выявлено. При проведении корреляционного анализа взаимосвязи показателей ИМЛ у животных II группы с содержанием органоспецифических антигенов не обнаружено.

Показатели реакции бласттрансформации на фитомиогены ФГА, Кон А, PWM в динамике после одного трехкратного криовоздействия изменяются в целом однозначно. Через 1 нед после криодеструкции отмечается повышение показателей РБТ на все три митогена, которое продолжается до третьей недели, а затем к четвертой происходит понижение. Для различных митогенов имеются свои особенности в изменении показателей. Так, показатели РБТ на ФГА значительно повышаются уже через неделю, а Кон А происходит постепенное увеличение к третьей неделе. Для РБТ на PWM характерно повышение через 1 нед, а затем некоторое снижение. Тем не менее, на все три митогена отмечена волна повышения показателей с первой по третью неделю, вслед за тем происходит их снижение. На шестую неделю происходит новое небольшое повышение, однако в последующем, на седьмой-восьмой неделе оно не подкрепляется. Следовательно, после первой значительной волны повышения показателей РБТ происходит их

спад, и в последующем они. Лишь через 11 нед зафиксирование не проводилось, по известна.

В других группах живо изучали лишь в РБТ на ФГА опыта и через 3 нед после РБТ на ФГА отмечено при тельную железу, почку и с отсутствовало повышение п стательную железу на фон активность лимфоцитов под ными антителами, и при к. Причем в группе с применением зелей, а после операции изменялись.

Сопоставляя ответ лим реакции, следует отметить, чувствительных к 2-МЭ, пр на фитомиогены; развитие дается при снижении реак активности лимфоцитов н специфической сенсибилизации. Ответ в виде образования мо, следует рассматривать изменения функциональных

Как видно из приведен организма на криодеструкции. Однако при сопоставлении вить некоторое представление лимфоцитов и образовании предстательной железы — разрушение ткани органов и и ассимиляцию тканевых разрушенной ткани. Развива гиперчувствительность зам ческий характер. Однако я является однозначно призна У некоторых животных у реакция ИМЛ к антигена деструкции, в то время ка реакция была еще от физиологическая реакция. ется клеточная гиперсенс предстательной железы. ная гиперчувствительность дующем переходит в ГЗТ щих антигенных детерминенным в этом, так как нам была первая сенсиби ные, тесно не связанные д

После периода повышения снижается (на четвертую окончанию стимулирующе на лимфоциты. Кроме то способствует специфическ предстательной железы, р щее течение аутоиммунны особенности. Клеточная

спад, и в последующем они остаются на достаточно низком уровне. Лишь через 11 нед зафиксировано новое повышение. Дальнейшее наблюдение не проводилось, поэтому длительность такого повышения неизвестна.

В других группах животных изменения реактивности лимфоцитов изучали лишь в РБТ на ФГА. Определение проводилось два раза: до опыта и через 3 нед после криовоздействия. Повышение показателей РБТ на ФГА отмечено при всех видах криовоздействия: на предстательную железу, почку и семенник. Лишь в двух группах животных отсутствовало повышение показателей: при криовоздействии на предстательную железу на фоне применения АЛГ, когда функциональная активность лимфоцитов подавлялась специфическими антилимфоцитарными антителами, и при контрольной операции без криовоздействия. Причем в группе с применением АЛГ происходило понижение показателей, а после операции в контрольной группе показатели не изменялись.

Сопоставляя ответ лимфоцитов на фитомитогены и аутоиммунные реакции, следует отметить, что ответ в виде образования аутоантител, чувствительных к 2-МЭ, происходит при повышении показателей РБТ на фитомитогены; развитие замедленной гиперчувствительности наблюдается при снижении реактивности лимфоцитов, то есть угнетение реактивности лимфоцитов на фитомитогены происходит при развитии специфической сенсибилизации к антигенам предстательной железы. Ответ в виде образования чувствительных к 2-МЭ аутоантител, видимо, следует рассматривать как самостоятельный, не зависящий от изменения функциональных свойств Т-лимфоцитов.

Как видно из приведенных данных, иммунологическая реакция организма на криодеструкцию предстательной железы весьма сложна. Однако при сопоставлении всех изученных параметров можно составить некоторое представление о ее природе. Повышение реактивности лимфоцитов и образование циркулирующих 19S-антител к антигенам предстательной железы — это, повидимому, реакция организма на разрушение ткани органов и отражает как регенераторную реакцию, так и ассимиляцию тканевых белков (аутоантигенов), выходящих из разрушенной ткани. Развивающаяся у части животных вслед за этим гиперчувствительность замедленного типа, возможно, носит патологический характер. Однако нельзя думать, что клеточная сенсибилизация является однозначно признаком глубокого патологического процесса. У некоторых животных уже через 2—3 нед отмечена положительная реакция ИМЛ к антигенам пораженной ткани, взятой из очага криодеструкции, в то время как к антигенам нормальной ткани в это время реакция была еще отрицательной. Реакция на разрушение — это физиологическая реакция. Признаком патологического процесса является клеточная гиперсенсибилизация к антигенам непораженной ткани предстательной железы. Можно было бы предположить, что клеточная гиперчувствительность к антигенам пораженной ткани в последующем переходит в ГЗТ к антигенам неизменной ткани за счет общих антигенных детерминант. Однако до конца нельзя быть убежденным в этом, так как неизвестно, к каким индивидуальным антигенам была первая сенсибилизация. Возможно, это даже самостоятельные, тесно не связанные друг с другом явления.

После периода повышения ответ лимфоцитов на фитомитогены снижается (на четвертую неделю). Это может свидетельствовать об окончании стимулирующего действия продуктов разрушенной ткани на лимфоциты. Кроме того, снижению этих показателей, возможно, способствует специфическая сенсибилизация лимфоцитов к антигенам предстательной железы, развивающаяся к этому времени. Последующее течение аутоиммунных реакций, выявляемых *in vitro*, имеет свои особенности. Клеточная гиперчувствительность к антигенам неизмен-

ной предстательной железы сочетается с аутоантителами, устойчивыми к 2-МЭ (7S-аутоантитела). Этот период длится 4—6 нед.

В дальнейшем аутоантитела не определяются, но замедленная гиперчувствительность у ряда животных сохраняется.

Сопоставление реактивности лимфоцитов и динамики развития аутоиммунных реакций позволило выявить последовательные фазы (периоды) после криовоздействия с характерным комплексом иммунологических изменений. Для первой фазы, длительностью 4 нед, характерно повышение реактивности лимфоцитов в виде кривой с пиком на третьей неделе и понижением к четвертой неделе, образование циркулирующих аутоантител, чувствительных к 2-МЭ (19S-аутоантитела). Вторая фаза, длительностью 4—6 нед, начинается с пятой недели после криовоздействия, и для ее начала характерна обычная реактивность лимфоцитов в условиях РБТ на ФГА и КонА и некоторое повышение на РWM. После краткого незначительного повышения реактивности лимфоцитов на шестой неделе, в дальнейшем она снижается. Так что по мере развития ГЗТ к антигенам предстательной железы происходит снижение реактивности лимфоцитов. Для этого периода характерны устойчивые к 2-МЭ 7S-антитела. Если аутоиммунный процесс не завершается второй фазой, то он переходит в третью фазу, в которой не определяются циркулирующие аутоантитела, однако ГЗТ к антигенам предстательной железы выражена. Через 11 нед зафиксировано некоторое повышение ответа лимфоцитов на фитомиотогены.

Таким образом, характеризуя иммунологические процессы, развивающиеся после пролонгированного криовоздействия на предстательную железу, следует указать на волнообразные подъемы и спады реактивности лимфоцитов, возникновение в ряде случаев аутоиммунного процесса, физиологический и патологический характер иммунологических изменений. Если первая фаза, по-видимому, обусловлена повреждением ткани, то последующие явления отражают аутоиммунный процесс и развитие поражения в предстательной железе. Содержание органоспецифических антигенов ткани предстательной железы, подвергающейся криовоздействию, в определенной степени опосредует первичный иммунный ответ в виде образования 19S-аутоантител. Последующее развитие замедленной гиперчувствительности и образование 7S-аутоантител не зависят от содержания органоспецифических антигенов и, вероятно, отражают последующее развитие аутоиммунного процесса.

Список литературы

1. Авдеев Г. И., Гельбштейн М. И. Изучение содержания органоспецифического антигена (тиреоглобулина) в щитовидной железе человека и ее опухолях. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1964, 58, № 11, с. 99—102.
2. Чернышов В. П. Экспериментальные аутоиммунные поражения передміхурової залози та особливості її антигенності в ауто- та ізосистемі. — Фізіол. журн., 1977, 23, № 6, с. 798—804.
3. Ablin R. J. Cryosurgery of the monkey (macaque) prostate I. Humoral immunologic responsiveness following cryostimulation. — Cryobiology, 1976, 13, N 1, p. 47—53.
4. Calams J. A., Flanagan M. J., McDonald J. H. Rapid freezing of the prostate: an experimental study. — J. Urol., 1966, 96, N 4, p. 512—518.
5. Ehrlich R. M., Tannenbaum M., Roberts M., Lattimer J. K. Experimental prostate cryosurgery: a study utilizing radioautography and electron microscopy. — J. Urol., 1969, 101, N 6, p. 890—897.

Киевский институт заболеваний
почек и мочевыводящих путей

Поступила в редакцию
10.III 1982 г.

УДК 576.8.097.1:612.017.12:612.42

ОРГАНИЗАЦИЯ АНТИГ

В последние годы основные ли связаны с изучением иммунной модели действия при различных формах глобулинов разного класса, фазного типа, реакция на трансплантационных, микробных, паразитарных и т.д. осуществляется в результате с ним различных популяций и су

Антиген несет серию различных миграция и рециркуляция, дифференцировка, осуждения клеток друг с другом и бенностями молекулярной агрегированности и физико-химическим способом введения препаратов в

Как хорошо известно, в различных популяциях и субпопуляциях клетки (макрофаги, дендритные клетки и т.д.)

Именно особенности молекулярности эффекторных Т- и/или В-клетками.

При характеристике антигенности и иммуногенности понимают способность антигенов взаимодействовать с Т- и В-лимфоцитами и т.д. и антиген-специфические различия уникальной специфичности строения четвертичной и навание различных антигенных

Под иммуногенностью понимают иммунный ответ (продукция антиген-специфических Т-эффекторов) специфичность молекул антигенами их иммуногенность.

Характеристике антигенных реакций с помощью сывороток, посвящено большое количество работ [1, 6, 13, 37].

У В-лимфоцитов, которые в организм молекулярными рецепторами являются, молекулы-аналоги циркулирующих специфических антигенов, в основном распространены. Как и антитела, В-лимфоциты на поверхности молекулы антигена В-лимфоциты различаются по составу и количеству антигенов, образованных с 64-го аминокислотного остатка молекулы иммуноглобулина [6]. Анти