

- на вегетативные показатели у животных разного возраста. — В кн.: Старение клетки. — Киев: Б. и., 1971, с. 137—152.
10. (Фролькис Б. В., Безруков В. В., Синицкий В. Н.) Frolkis V. V., Bezrukov V. V., Sinitsky V. N. Sensitivity of central nervous structures to humoral factors in aging. — *Exp. Geront.*, 1972, 7, N 3, p. 185—194.
 11. Cooper R. L. Sexual receptivity in aged female rats. Behavioral evidence for increased sensitivity to estrogen. — *Hormones & Behav.*, 1977, 9, N 3, p. 321—333.
 12. Fijikova E., Marsala J. Stereotaxie podkorovych struktur mozku krysy, kralika a kocky. — Praha: Statni zdravotnicke nakladatelstvi, 1906.—116 p.
 13. Lipton J. M., Whisenunt J. D., Gean J. T. Hypothermia produced by peripheral and central injections of chlorpromazine in aged rabbits. — *Brain Res. Bull.*, 1979, 4, N 5, p. 631—634.
 14. Peluso J. J., Steger R. W., Hafez E. S. E. Regulation of LH secretion in aged female rats. — *Biol. Reprod.*, 1977, 16, N 2, p. 212—215.
 15. Pirke K. M., Geiss M., Sintermann R. A quantitative study on feedback control of LH by testosterone in young adult and old male rats. — *Acta endocrinol.*, 1978, 89, N 4, p. 789—795.

Ин-т геронтологии АН СССР, Киев

Поступила 25.08.83

УДК 615.365.631:616

Н. В. Ильчевич, Т. М. Зеленская,
Н. Стошич-Богданович, В. Пантич

ГЕМАТО-ТЕСТИКУЛЯРНЫЙ БАРЬЕР И АУТОИММУННЫЕ РЕАКЦИИ В ОНТОГЕНЕЗЕ

В литературе много данных о широком участии иммунных процессов в осуществлении нормальных воспроизводительных функций животных и человека, в развитии патологических процессов в половой сфере, в старении организма. Появление аутоиммунных реакций при старении объясняют возрастными изменениями антигенного состава тканей или мутациями клеток лимфатической системы и как результат — образованием «запрещенных» клонов лимфоцитов.

Семенник так же как щитовидная железа, хрусталик, мозг является «забарьерным» органом и потому — естественным или первичным аутоантигеном, по отношению к которому в организме отсутствует иммунологическая толерантность. Полагают [5], что аутоантигенными могут быть лишь те клетки семенника, которые появились и дифференцировались после завершения формирования иммунной системы, а именно — сперматоциты, сперматиды, сперматозоиды.

Однако [6] считают, что аутоантигенны только сперматозоиды, поскольку они по мере формирования и созревания в извитых канальцах приобрели гаплоидность и только им присущий набор протеинов. Существенно отличаясь от предшествующих генераций клеток сперматогенного эпителия и клеток других органов, сперматозоиды становятся «чужими» для своего организма.

Будучи крупномолекулярными соединениями, антигены сперматозоидов в нормальных условиях не проникают в кровь через стенки сосудов, являющиеся составной частью гисто-гематических барьеров вообще и гемато-тестикулярного барьера в частности (ГТБ).

ГТБ — широкое биологическое понятие — гисто-гематическая система, локализованная на границе между кровью и клетками семенников, регулирующая поступление в кровь продуктов метаболизма, тканевых и клеточных антигенов, гормонов, а в ткани — питательных веществ, форменных элементов крови, гуморальных антител [6].

Однако при некоторых физико-химических и биологических воздействиях, при старении происходит нарушение структурных компонентов барьера, что приводит к нарушению изоляции ранее «скрытых» антигенов и их контакту с иммунокомпетентными клетками с после-

дующим включением аутоиммунных механизмов патологического процесса в органе.

Поскольку в литературе высказываются противоречивые мнения о способности антител проходить через сложный физиологический механизм, каким является гемато-тестикулярный барьер, конкретной задачей настоящей работы явилось изучить, во-первых, особенности структур ГТБ в онтогенезе, во-вторых — содержание аутоантител к ткани семенников и других органов у интактных половозрелых животных и у крыс на поздних этапах онтогенеза, а также — состояние сперматогенеза у неполовозрелых и половозрелых крыс после введения тестикулярных антител в виде иммуноглобулина класса G, имитируя тем самым процесс аутоиммунизации с того момента, когда в организме по тем или иным причинам появляются аутоантитела. Изменения в половых и других железах эндокринной системы изучены нами ранее при введении тестикулярной антисыворотки [2, 7].

Методика. Иммуноглобулины класса G (IgG) выделяли из тестикулярной антисыворотки методом гель-фильтрации на сефадексе G-200 по [10].

Исследования проведены на 110 лабораторных белых крысах линии Вистар четырех возрастных групп: I—10, II—20 дней жизни, III—5—7 мес и IV—24—27 мес. По методу [9] исследовали содержание циркулирующих аутоантител к ткани семенника, мозга, печени, почки, селезенки, легких в сыворотке крови интактных половозрелых крыс (5—7 мес), и у крыс на поздних этапах онтогенеза (24—27 мес), а также у половозрелых крыс — после пятикратного (ежедневно) внутривенного введения IgG (0,5—2 мг белка/100 г массы тела на одно введение).

Параллельно изучали морфо-функциональное состояние семенников. Неполовозрелые крысы 10-дневного возраста массой 18 ± 3 г получали однократно внутривенно 0,1 мл IgG ($2 \cdot 10^{-4}$ мг/10 г), крысы 20-дневного возраста массой 25 ± 3 г — однократно внутривенно — 0,2 мл IgG ($8 \cdot 10^{-2}$ мг белка/10 г). Белок определяли по [14].

Ткань семенника исследовали гистологически, морфометрически, а также с помощью электронной микроскопии в динамике через 3, 10, 17, 21 день после окончания введения IgG половозрелым самцам и через 10 дней — неполовозрелым самцам. Для световой микроскопии ткань фиксировали в растворе Буэна, срезы окрашивали гематоксилин-эозином, азаном. Для электронной микроскопии — отдельные семенные каналцы фиксировали в 6 % растворе глutarальдегида на фосфатном буфере, дофиксировали в 2 % растворе OsO_4 . Срезы толщиной 70 нм контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали на микроскопе типа BS-613 при различных увеличениях.

Исследовали абсолютную и относительную массу семенников (%) к массе тела. У крыс 10 дней жизни изучали содержание (%) сперматозоидов в зиготенной и пахитенной стадиях, у животных 20 дней жизни — число семенных каналцев (%), содержащих сперматиды. У крыс обеих групп подсчитывали количество дегенеративных форм клеточек на 100 семенных каналцев. У взрослых и старых животных измеряли диаметр семенных каналцев, ширину межканалцевой соединительной ткани, количество glanduloцитов и диаметр их ядер. Подсчитывали количество семенных каналцев (%), содержащих определенные клеточные ассоциации, исходя из классификации [13]. Во всех исследованиях в качестве контроля были использованы интактные животные соответствующего возраста.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что в сыворотке крови интактных половозрелых крыс 5—7 мес выявляются антитела к тканям органов, содержащих «скрытые» антигены (семенник), и к тканям селезенки, печени, почки, легких. Ткани по количеству антител к ним можно расположить в такой последовательности: наибольшее количество комплемента, выраженное в условных единицах (усл. ед.), связывается в реакции сыворотки крови с тканью селезенки ($18,7 \pm 1,9$), затем печени ($9,9 \pm 0,3$), семенника ($8,8 \pm 1,0$), почки ($7,5 \pm 1,4$), легкого ($6,1 \pm 0,4$). Ткань головного мозга дает отрицательную реакцию, что может свидетельствовать о том, что в сыворотке крови подопытных животных антитела к ткани мозга отсутствуют. Полученный факт объясняется наличием гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) препятствующего контакту антигенов ткани мозга с антителообразующими клетками.

Выявленным у интактных особей «нормальным» антителам к тканям различных органов отводится существенная роль в поддержании постоянства внутренней среды организма, в силу их способности из-

менять прони-
ливать проник
условиях есте
растворенные
дальнейшем ф
действие прод
организм обла



Рис. 1. Уль-
а — оболочка (фрагм
(фрагмент) sustentor
каналца (d), $\times 30 000$

фигурацией дет
группам тканей
тканевых проду
Исследован
ных старых кры
шее количество
акции с тканью
($8,2 \pm 0,4$), пече
зом, в сыворотк
возраста, нами
чество к ткани
перестройками
одного из ведуш
нее убедительно
с возрастом в с
компонентами [1

При морфо-
у крыс 28—30 д
рованы и предс

еского про-
е мнения о
ский меха-
етной зада-
ости струк-
д к ткани
вотных и у
сперматоге-
ия тестику-
гируя тем
ганизме по
ия в поло-
ранее при

лярной анти-

и Вистар че-
—24—27 мес.
ткани семен-
ных полово-
мес), а так-
ого введения

Неполово-
тно внутри-
ассой 25 г±
елок опреде-

также с по-
осле оконча-
лым самцам.
окрашивали
ые семенные
буфере, до-
и уранилаце-
при различ-

к массе тела.
ой и пахитен-
(%), содер-
генеративных
ых измеряли
кани, коли-
ных канал-
классифика-
ны интактные

сыворотке
антитела к
, и к тка-
антител к
ольшее ко-
(усл. ед.),
(18,7±1,9),
(4), легкого
ю, что мо-
ытных жи-
т объясня-
епятствую-
азующими

там к тка-
ддержании
бности из-

т. 30, № 1

менять проницаемость тканей, влияя на транспорт электролитов, усиливать проникновение лекарств через барьеры [12]. При определенных условиях естественные аутоантитела связывают клеточные продукты, растворенные в лимфе или крови, образуя с ними комплекс, который в дальнейшем фагоцитируется и, тем самым, прекращается вредное воздействие продуктов клеточного метаболизма [4, 11]. По мнению [11], организм обладает способностью продуцировать аутоантитела с кон-

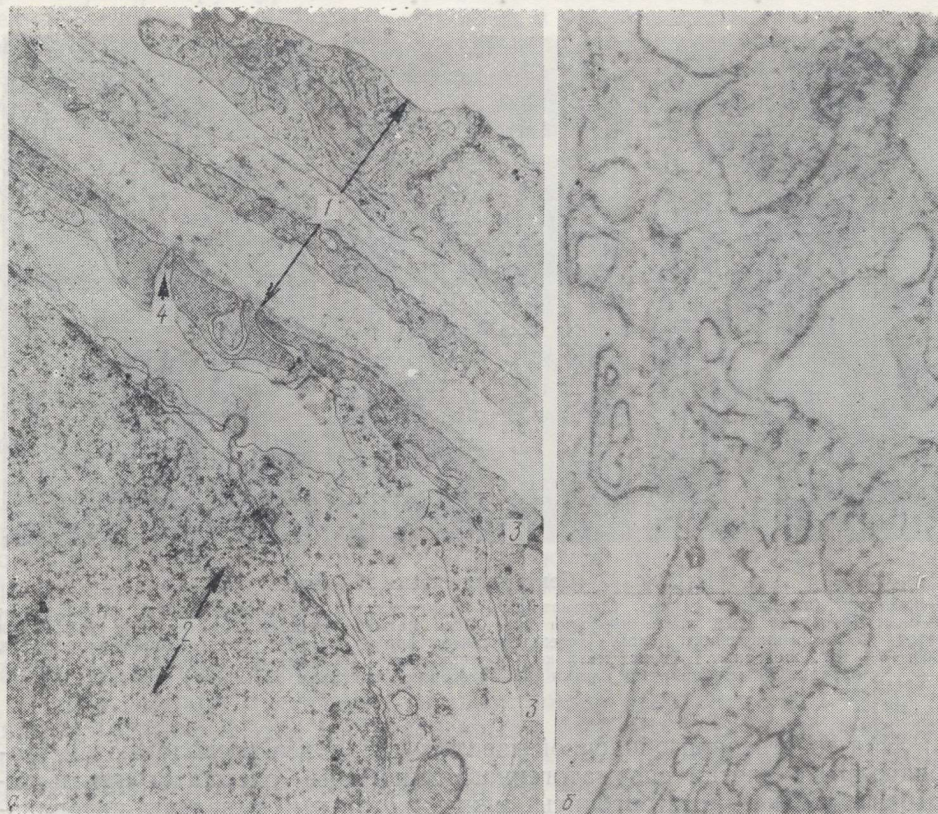


Рис. 1. Ультраструктура клеток семенника интактного самца 28 дней.

а — оболочка (фрагмент) семенного канальца (1), прилегающая сперматогония (2), цитоплазма (фрагмент) sustentоцита (3), контакт цитоплазмы сперматогонии с внутренним слоем оболочки канальца (4), $\times 30\ 000$; б — цитоплазма (фрагмент) клетки оболочки семенного канальца с микропиноцитозными пузырьками. $\times 44\ 000$.

фигурацией детерминантных групп, соответствующих детерминантными группам тканевых эндогенных веществ, что способствует элиминации тканевых продуктов из тока крови.

Исследования содержания аутоантител в сыворотке крови интактных старых крыс на поздних этапах онтогенеза показали, что наибольшее количество усл. ед. комплемента потребляет сыворотка крыс в реакции с тканью семенника ($11,7 \pm 0,8$), почки ($9,1 \pm 1,0$), селезенки ($8,2 \pm 0,4$), печени ($7,5 \pm 0,3$), головного мозга ($6,9 \pm 0,5$). Таким образом, в сыворотке крови старых крыс, в отличие от животных молодого возраста, нами выявлены антитела к ткани мозга и большее их количество к ткани семенника, что, по-видимому, обусловлено возрастными перестройками как органоспецифических структур ГТБ и ГЭБ, так и одного из ведущих компонентов барьеров — стенки капилляров. Последнее убедительно показано в литературе [8]. Есть данные об увеличении с возрастом в сыворотке крови антител к клеткам и их структурным компонентам [1].

При морфо-функциональном исследовании ГТБ нами показано, что у крыс 28—30 дней органоспецифические компоненты барьера сформированы и представлены сложным комплексом структур, включающих

собственную оболочку извитых канальцев и sustentocytes — клетки «мосты» между базальной мембраной и половыми клетками. Собственная оболочка извитых канальцев состоит из клеточных и неклеточных структур (рис. 1, а), содержащих гомогенные и электронносветлые зоны, в которых видны отдельные нити коллагеновых волокон. В клеточном слое определяются удлиненные клетки, в цитоплазме которых видно большое количество микропиноцитозных пузырьков (рис. 1, б), что указывает на участие клеток в транспорте веществ.

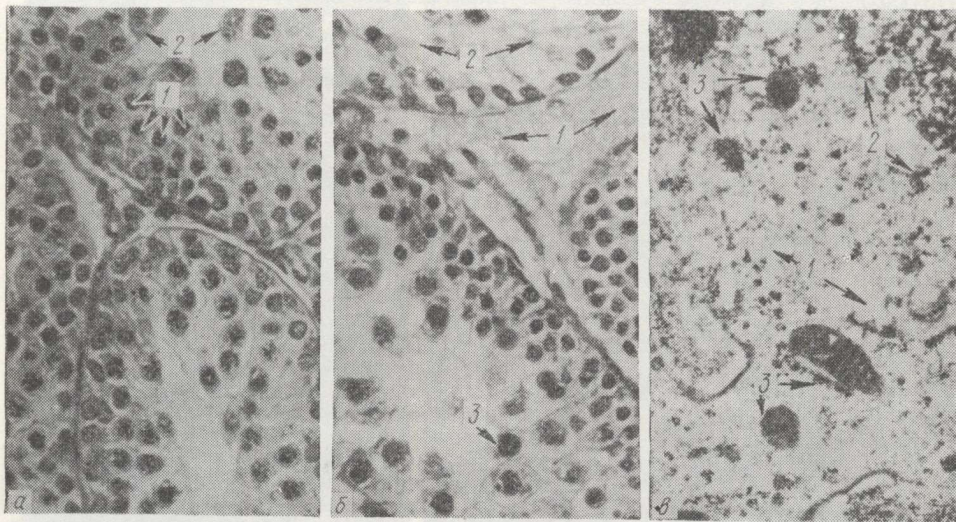


Рис. 2. Семенники крыс 20 дней.

а — контроль (интактный самец). Сперматоциты в зиготенной (1) и пахитенной стадиях (2); б — опыт (через 10 дней после введения IgG. Отек межканальцевых прослоек (1), деструкция клеток (2) герминативного слоя, дегенеративные формы клеток (3). Гематоксилин-эозин, $\times 500$; в — тот же опыт. Лизис матрикса цитоплазмы (1), ядерной мембраны (2), гомогенизация митохондрий (3) клетки сперматогенного эпителия (фрагмент). $\times 27\,000$.

Под собственной оболочкой извитых канальцев располагаются родоначальные клетки сперматогенного эпителия — сперматогонии и неполовые клетки — sustentocytes, между которыми выявлены цитоплазматические контакты. Нами показано, что между собственной оболочкой и сперматогонией, цитоплазма которой в виде узкого мостика проникает к оболочке между фрагментами цитоплазмы двух sustentocytes, также имеется контакт (рис. 1, а), однако менее широкий, чем у sustentocита, который на большом протяжении контактирует с оболочкой и разветвленными отростками окружает развивающиеся половые клетки, что позволяет рассматривать их как активные транспортные системы. Но нельзя не учитывать возможность сперматогоний, благодаря контакту с собственной оболочкой семенника, непосредственно получать питательные вещества.

У крыс 5—7 мес структуры, характеризующие ГТБ, принципиально не отличаются от структур у одномесячных крыс. У крыс на поздних этапах онтогенеза выявляется фиброз собственной оболочкой семенных канальцев. Sustentocytes выполнены жировыми включениями. Стенки капилляров дистрофичны.

Таким образом, измененные в связи с возрастом клеточные и неклеточные структуры, во-первых, могут стать аутоантигенами, во-вторых, вследствие этих изменений нарушается селективная проницаемость барьера и, тем самым, увеличивается возможность контакта аутоантигенов с иммунокомпетентными клетками и в результате этого может развиваться аутоиммунный процесс.

Исследования влияния антител на семенники показали, что в семенниках крыс, которые в десятидневном возрасте получали IgG (барьер еще не сформирован), через 10 дней после введения выявляется отек и

расширенные м
слоя; лежащие
ми ядрами, ли
цев, содержащи
пахитенной (33,
неративных фот
цитоплазмой по
уровне ультраст
тели — сперма
лены гомогениза
жение количест
ческого ретикул
на ядра (рис. 2,
изменения приво
невозможности
довательно, к н

В семеннике
(барьер в стадии
выявлены сперм
полиплоидные к
свидетельствует
личество дегенер
лена гомогениза
герминативных к
В семеннике
в различные сро
браны, нарушени
тогенеза, в цито
представляющие
граммах в виде
видны инфильтра
чается увеличени

На основании
лярные антитела
вреждать специф
сформированности

Выводы. В се
поздних этапах с
ника (у старых —
других органов (п
рых крыс определ

Структурные
дно достигают сте
У старых крыс все
теля структурно и

Тестикулярные
повреждение стру
и нарушение спер
дней, 5—7 мес, 24-
функционального с

N. V. Ilchevich,

AND AI

The following item
structure in animals at
tissue of the testis and
ontogenesis stages (24-2

расширенные межканальцевые прослойки, деструкция герминативного слоя; лежащие у базальной мембраны сперматогонии — с пикнотичными ядрами, лизированной цитоплазмой. Увеличивается число канальцев, содержащих сперматоциты в зиготной (66,9 %) и снижается — в нахитенной (33,1 %) стадиях. В четыре раза увеличивается число дегенеративных форм клеток с пикнотичным ядром и резко эозинофильной цитоплазмой по сравнению с интактными животными (рис. 2, а, б). На уровне ультраструктур во всех генерациях клеток сперматогенного эпителия — сперматогониях, сперматоцитах, а также в сустентоцитах выявлены гомогенизация митохондрий, разрыхление цитоплазмы клеток, снижение количества свободных рибосом, вплоть до атрофии эндоплазматического ретикула, лизиса ядерной мембраны и деструкции хроматина ядра (рис. 2, в) в отдельных канальцах. Подобные морфологические изменения приводят к нарушению функционального состояния клеток и невозможности осуществления их дальнейшей дифференциации и, следовательно, к нарушению сперматогенеза [15].

В семенниках крыс, которым к началу эксперимента было 20 дней (барьер в стадии формирования), через 10 дней после введения IgG выявлены сперматоциты на различных стадиях дегенерации, а также полиплоидные клетки; 60,3 % канальцев не содержат сперматид, что свидетельствует о задержке сперматогенеза; в 3,2 раза увеличено количество дегенеративных форм клеток. На уровне ультраструктур выявлена гомогенизация митохондрий, разрыхление матрикса цитоплазмы в герминативных клетках и в сустентоцитах.

В семенниках крыс 5—7 мес (барьер сформирован), исследуемых в различные сроки после введения IgG, выявлены отек базальной мембраны, нарушение проницаемости сосудистой стенки, задержка сперматогенеза, в цитоплазме клеток определяются бесструктурные тяжи, представляющие собой иммунные комплексы, видимые на электронограммах в виде депозитов [3]. Под соединительнотканной капсулой видны инфильтраты, состоящие из нейтрофилов и гистиоцитов. Отмечается увеличение количества glanduloцитов и объема их ядер.

На основании полученных данных можно заключить, что тестикулярные антитела в виде IgG, введенные в больших дозах, способны повреждать специфические структуры семенника независимо от степени сформированности гемато-тестикулярного барьера.

Выводы. В сыворотке крови половозрелых крыс (5—7 мес) и на поздних этапах онтогенеза выявляются аутоантитела к ткани семенника (у старых — в большем количестве, чем у молодых животных) и других органов (печени, почки, селезенки, легких). Кроме того, у старых крыс определяются аутоантитела к ткани головного мозга.

Структурные компоненты гемато-тестикулярного барьера к 28—30 дню достигают степени зрелости, присущей взрослым крысам 5—7 мес. У старых крыс все компоненты барьера и клетки сперматогенного эпителия структурно изменены.

Тестикулярные антитела в виде IgG (большие дозы) вызывают повреждение структурных компонентов гемато-тестикулярного барьера и нарушение сперматогенеза у крыс всех возрастных групп (10, 20 дней, 5—7 мес, 24—27 мес), независимо от степени дифференциации и функционального состояния барьера.

N. V. Ilchevich, T. M. Zelenskaya, N. Stoshich-Bogdanovich,
V. Pantich

HEMATOTESTICULAR BARRIER AND AUTOIMMUNE RESPONSES IN ONTOGENESIS

The following items are studied: properties of the hematotesticular barrier (HTB) structure in animals at different ontogenesis stages; content of autoantibodies to the tissue of the testis and other organs of mature intact animals (5-7 months) and at late ontogenesis stages (24-27 months); spermatogenesis state in mature and immature (10,