••• ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН •••
••• PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS •••

УДК: 611.631.084.089

Виживаність сім'яників новонароджених мишей при їх алотрансплантації дорослим тваринам під ниркову капсулу чи всередину сім’яника

О.В.Пахомов

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (Харків, Україна)
aleksandr.pakhomov2017@yandex.ru

У представленій роботі нами був проведений порівняльний аналіз виживаності і розвитку трансплантата сім’яників новонароджених тварин в імунопривілейованому органі, а саме у сім’янику дорослої тварини, з виживаністю в неімунопривілейованому – під нирковою капсулою. Трансплантат під нирковою капсулою не розвивався. Він відторгався за гострим механізмом упродовж перших 2–3 тижнів після операції. Сім’яник новонароджених мишей був здатний розвиватися тільки в умовах інтратестикулярної трансплантації. Через 15 діб після інтратестикулярної трансплантації в сім’яних канальцях трансплантата утворювалися сперматоцити першого порядку. В подальшому спостерігалось зростання реакцій імунологічного відторгнення, яке призводило до поступової деструкції сім’яних канальців. Судячи з картини спостереження, механізм відторгнення трансплантату був хронічний, на що вказує наявність донорських клітин через 60 діб після трансплантації та відсутність вогнищ лімфоцитарного інфільтрату. При інтратестикулярній трансплантації клітинний механізм, що характерний для гострого відторгнення, не був реалізований повністю. Цей факт вказує на можливість використання в якості місця для трансплантації сім’яника дорослої особини. Він здатен за певних умов подовжувати виживаність донорської тканини. Крім того, в роботі було показано можливість використання сім’яника новонароджених як об’єкту для трансплантації.

Ключові слова: *трансплантація, сім’яник, яєчко, імунопривілейованість, імунологічна толерантність, імунологічне відторгнення, сперматогенез.*

Выживаемость семенников новорожденных мышей при их аллотрансплантации взрослым животным под почечную капсулу или внутрь семенника

А.В.Пахомов

В представленной работе нами был проведен сравнительный анализ выживаемости и развития трансплантата семенников новорожденных животных в иммунопривилегированном органе, а именно семеннике взрослого животного, с выживанием в неиммунопривилегированном – под почечной капсулой. Трансплантат под почечной капсулой не развивался. Он отторгался по острому механизму в первые 2–3 недели после операции. Семенник новорожденных мышей был способен развиваться только в условиях интратестикулярной трансплантации. Через 15 суток интратестикулярной трансплантации в семенных канальцах трансплантата образовывались сперматоциты первого порядка. В дальнейшем наблюдалось нарастание реакций иммунологического отторжения, которое приводило к постепенной деструкции семенных канальцев. Судя по картине криза, механизм отторжения трансплантата был хронический, на что указывает наличие донорских клеток через 60 суток после трансплантации и отсутствие очагов лимфоцитарного инфильтрата. При интратестикулярной трансплантации клеточный механизм, характерный для острого отторжения, не был реализован полностью. Этот факт указывает на возможность использования в качестве места для трансплантации семенника зрелой особи. Он способен в определенных условиях продлевать выживаемость донорской ткани. Кроме того, в работе была показана возможность использования семенника новорожденных, как объекта для трансплантации.

Ключевые слова: *трансплантация, семенник, яичко, иммунопривилегированность, иммунологическая толерантность, иммунологическое отторжение, сперматогенез.*

© Пахомов О.В., 2016
© Pakhomov O.V., 2016

Survival of newborn mice testes during allotransplantation under kidney capsule or into testis of adult animals

O.V.Pakhomov

In this study, we carried out a comparative analysis of the graft survival and the development of the testes of newborn animals in immune privileged organs, such as the testes of adult animals, versus their survival in non-immune privileged organs, such as the kidney capsule. The grafts under kidney capsule did not develop. They were acutely rejected for 2 weeks after transplantation. The testis of the newborn mice developed only under the intratesticular transplantation. Fifteen days after the transplantation, the primary spermatocytes formed in the seminiferous tubules of grafts which had been transplanted into the testes. Subsequently, the growth of immunological rejection led to slow destruction of seminiferous tubules. According to the manner of the reactions, it was a chronic rejection, which was evidenced by the presence of donor cells after 60 days under the transplantation and the absence of foci of the lymphocytic infiltration. The cellular mechanism of the acute rejection was not fulfilled completely after the intratesticular transplantation. It was demonstrated that the testes of adult individuals could be used as a site for transplantation, which can prolong donor grafts survival. Moreover, the testes of newborn individuals can be used as potential objects of intratesticular transplantation.

Key words: *transplantation, testis, immune privilege, immunological tolerance, immunological rejection, spermatogenesis.*

Вступ

Імунна привілейованість, що була виявлена в деяких органах і тканинах ссавців, передбачає наявність в них особового імунологічного статусу, який сприяє тривалої виживаності алло- та ксенотрансплантатів (Simpson, 2006). Типовим прикладом імунопривілейованих органів є сім'яники, яєчники, око та мозок. В цих органах імунна привілейованість підтримується завдяки ослабленню вродженої та набутої імунної відповіді. Механізм імунної привілейованості включає редукцію міграції дендритних клітин в лімфатичні вузли і селезінку через зниження кількості лімфоцитів, що проходять через них, та присутність гемато-тканинного бар'єру (Li et al., 2012), продукцію протизапальних цитокінів, наприклад ТФР-β (Chen et al., 1998), локальну експресію молекул, які індукують загибель клітин, таких як Fas-ліганд (Griffith et al., 1995), що елімінує ефекторні лімфоцити.

Імунопривілейованість в сім'яниках є побічною ланкою більш глобального механізму, який забезпечує захист аутоантигенів, що походять від гермінативного епітелію, а також системи протидії проникненню патогенної флори з боку циркулюючої крові і сечостатевого тракту. Цей механізм підтримується завдяки координованій дії анатомо-фізіологічної структури сім'яників, встановленню системної імунної толерантності і активної локальної імуносупресії. Порушення цього механізму часто призводить до катастрофічних незворотних наслідків для організму – розвитку безпліддя.

Специфічна етіологія чоловічого безпліддя включає системні захворювання, такі як ендокринопатії, інфекційні захворювання, рак, варікоцеле, обструктивний синдром, генетичні та хромосомні захворювання, гіпогонадизм, крипторхізм. Приблизно 12% випадків чоловічої дисфункції статевої системи невідомого походження або є наслідком декількох чинників (Aponte et al., 2013). У зв'язку з цим органна трансплантація сім'яників, як можливий експериментальний метод корекції порушень чоловічого безпліддя, становить значний інтерес (Li et al., 2010). У даній роботі нами був проведений порівняльний аналіз виживаності трансплантата сім'яників новонароджених тварин в імунопривілейованому органі – сім'янику дорослої тварини, з виживаністю в неімунопривілейованому місці трансплантації – під нирковою капсулою (НК). Нами була оцінена можливість сім'яника як місця для трансплантації, здатного продовжувати виживаність донорського органу.

Найбільш часті гістопатологічні зміни в біоптатах сім'яників з порушенням сперматогенезу можна класифікувати як такі: Сертолі-клітинний синдром (при якому відсутні гермінативні клітини), премейотичний арешт (при якому гермінативний епітелій представлений тільки сперматогоніями) і арешт на рівні мейотичних клітин. Тому в роботі також була оцінена можливість сім'яників статевонезрілих тварин, як донорського органу, розвиватися в умовах трансплантації і виробляти генерації сперматозоїдів.

Мета представленої роботи – дослідити виживаність трансплантованих сім'яників новонароджених мишей при органній алотрансплантації дорослим тваринам під НК або всередину сім'яника (інтратестикулярно).

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні тварини

Всі тварини були вирощені у віварії Інституту проблем кріобіології і кріомедицини. Експерименти був проведені з використанням 48 дорослих мишей відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених І Національним конгресом з біоетики та погодженими з положеннями «Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей».

Отримання донорських органів для трансплантації

Для отримання донорських органів новонароджених мишей тварин віком до 1 доби присипляли за допомогою кетамін-ксилазинової ін'єкції (кетамін – 7,5 мг/100 г, ксилазин – 1,5 мг/100 г ваги тварини). Після цього через розріз в черевній порожнині вилучали сім'яники.

Жирова тканина, епідідіміс і сім'явивідна протока акуратно видалялися із сім'яника. Органи негайно поміщали на лід у фосфатний буферний розчин, що містив 100 од/мл пеніциліну, 200 мкг/мл стрептоміцину та 5 мкг/мл амфотерицину В.

Трансплантація донорських органів

Трансплантацію проводили 5–6-місячним, дорослим тваринам під загальною кетамін-ксилазиновою анестезією (кетамін – 2,5 мг/100 г, ксилазин – 0,5 мг/100 г ваги тварини). При трансплантації використовували операційний мікроскоп з оптичним збільшенням 12, холодне освітлення операційного поля, мікрохірургічний офтальмологічний інструментарій (скальпель, пінцети, ножиці), голкотримач з хірургічною голкою, анатомічні та хірургічні пінцети, шовний матеріал.

Для інтратестикулярної (ІТ) трансплантації область операційного поля (передню стінку черевної порожнини) обробляли 70%-м етиловим спиртом. Через розріз в черевній порожнині лівий сім'яник виводили назовні. За допомогою хірургічної голки, акуратно, робили прокол у верхньому полюсі білкової оболонки сім'яника, в місці, де були відсутні великі судини. Через цей прокол в товщу паренхіми сім'яника поміщали два донорських органа. Після цього сім'яник знову повертали в черевну порожнину.

Для трансплантації під НК область операційного поля (передню і ліву стінку черевної порожнини) обробляли 70%-м етиловим спиртом. Робили невеликий розріз черевної порожнини близько 1 см над позицією лівої нирки. Ліву нирку виводили назовні. Через невеликий розріз НК сім'яники новонароджених тварин поміщали безпосередньо під капсулу за допомогою офтальмологічного пінцету, для уникнення ризику подальшої втрати донорського органу через розріз. Нирку повертали назад на своє місце в черевній порожнині.

Операційну порожнину після обох типів трансплантацій промивали 0,9%-м розчином NaCl, що містив 100 од/мл пеніциліну і 200 мкг/мл стрептоміцину. Пошарово зшивали краї рани черевної порожнини. Місце розрізу обробляли 3% -м спиртовим розчином йоду.

Після закінчення терміну експерименту тварин умертвляли за допомогою ін'єкції кетаміну та ксилазину (кетамін – 7,5 мг/100 г, ксилазин – 1,5 мг/100 г ваги тварини).

Гістологічний аналіз

Сім'яники та нирки з трансплантатом були фіксовані в 10%-му формаліні протягом 2-х діб. Після занурення органів у парафін були зроблені їх серійні зрізи з трансплантатом (і без нього) товщиною близько 5 мкм і забарвлені гематоксиліном Маєра та еозином (ГЕ). Ступінь запалення на зрізах трансплантатів була оцінена за шкалою від 0 до 5. Ступінь 0 – запалення відсутнє; ступінь 1 – випадкові осередки лімфоцитарної інфільтрації; ступінь 2 – множинні осередки лімфоцитарної інфільтрації, поєднані з деякою деструкцією сім'яних канальців; ступінь 3 – злиття осередків лімфоцитарної інфільтрації; ступінь 4 – злиття множинних осередків лімфоцитарної інфільтрації, що призводить до формування великого ареалу інфільтрату; ступінь 5 – лімфотична інфільтрація і/або некроз всієї тестикулярної тканини. Дані представлені у вигляді середнього значення. Було досліджено функціональний розвиток донорських тканин, який оцінювався за наявністю найбільш розвинутих генерацій сперматозоїдів (сперматогоній, сперматоцитів і сперматид/сперматозоїдів).

Результати

Гістологічний стан донорської тканини і здатність клітин диференціюватися було оцінено на різних етапах трансплантації. На рис. А показана гістологічна структура сім'яників новонароджених тварин перед трансплантацією. У базальному шарі характерною була наявність сперматогоній і підтримуючих клітин (примітивні клітини Сертолі). У центрі канальців були помічені поодинокі

гоноцити/проспермatогонії. Між канальцями розташований широкий інтерстиційний шар, який сформований, головним чином, рихлою сполучною тканиною. Клітини Лейдіга залишалися незрілими.

Аналіз трансплантата через 15 діб після операції.

Через 15 діб після ІТ трансплантації в сім'яних канальцях спостерігалося значне збільшення найбільш просунутих генерацій гермінативних клітин (рис. Б). Базальний відділ характеризувався наявністю зрілих сперматогоній типу А і клітин Сертолі. Наявність пахітенових сперматоцитів в центрі канальця вказує на вступ клітин в ранні стадії мейозу. У деяких канальцях спостерігалося формування адлюмінального відділу. Відзначено потоншення інтерстицію у порівнянні з сім'яником перед трансплантацією, яке більш характерно для статевозрілого організму. Кластери клітин Лейдіга розташовувалися між сім'яними канальцями.

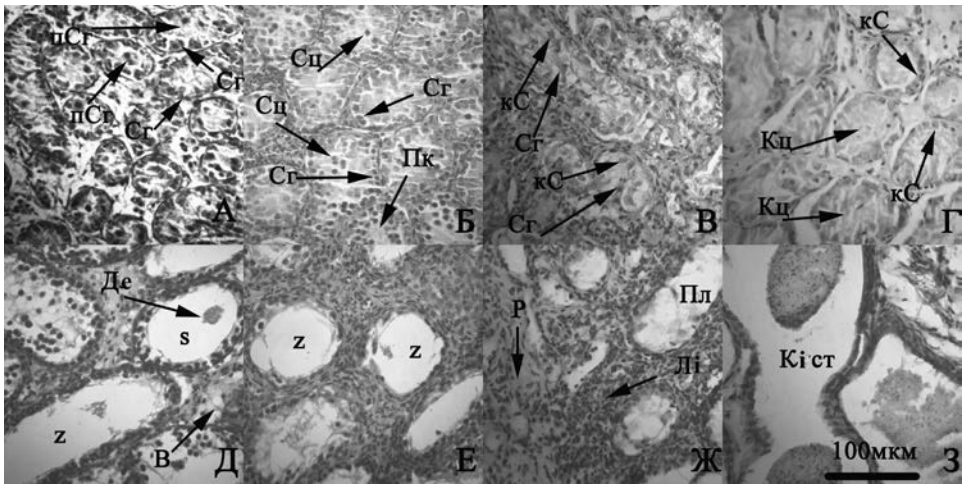

Рис. Сім'яники новонароджених мишей на різних етапах трансплантації:

А – сім'яник новонародженої тварини перед трансплантацією. Показані сперматогонії (Сг), розташовані на базальній мембрані, і проспермatогонії (ПСГ). Б – ІТ трансплантат через 15 діб. Показані сперматогонії типу А (Сг), сперматоцити (Сц), формування просвіту канальця (Пк). В – ІТ трансплантат через 30 діб. Показані клітини Сертолі (кС) і сперматогонії (Сг). Г – ІТ трансплантат через 60 діб. Показані кальцифікація сім'яних канальців (КЦ) і клітини Сертолі (Кс). Д – трансплантат під НК через 15 діб. Показані канальці, вистелені клітинами Сертолі (s), залишки канальців з повною загибеллю гермінативного епітелію (z), десквамація епітелію в просвіт канальця (Де), вакуолі (В). Е – трансплантат під НК через 30 діб. Показані залишки канальців з повною загибеллю гермінативного епітелію (z). Ж і З – трансплантат під НК через 60 діб. Показані генералізовані осередки лімфоцитарного інфільтрату (Лі), формування рубця (Р), невеликі порожнини на місці сім'яних канальців (Пл), кісти (Кіст).

Ступінь запальної реакції в ІТ трансплантаті була оцінена як 0,3. Навколо деяких сім'яних канальців спостерігалися скупчення епітеліоїдних клітин. Діаметр канальців незначно збільшився.

Зовсім інша реакція спостерігалася на 15-ту добу при трансплантації під НК (рис. Д). Сім'яні канальці трансплантата були складені, в основному, з клітин Сертолі або клітин Сертолі із залишками сперматогоній. Спостерігалася десквамація гермінативного епітелію всередину сім'яного канальця, збільшення просвіту канальця за рахунок загибелі клітин гермінативного епітелію. У деяких випадках відмічено проникнення лімфоцитарного інфільтрату всередину сім'яного канальця, повна відсутність клітин гермінативного епітелію і формування свого роду кісти.

У інтерстиційному просторі повсюдно формувалися незначні осередки лімфоцитарної інфільтрації. Потовщення простору відбувалося за рахунок присутності інфільтрату, епітеліоїдних клітин, накопичення рідини і формування сполучної тканини. Як усередині сім'яного канальця, так і в інтерстиційному просторі виявлялися наслідки некрозу тканин і формування вакуолей. Ступінь запальної реакції в трансплантаті в даному випадку була оцінена як 2,2.

Аналіз трансплантата через 30 діб після операції.

На 30-ту добу після ІТ трансплантації відзначено відсутність клітин, що вступають у мейоз (рис. В), а також зменшення кількості як сперматоцитів 1-го порядку, так і сперматогоній. Сім'яні канальці сформовані з клітин Сертолі і сперматогоній. При цьому просвіт канальців був заповнений клітинами, люмінальний простір був відсутній. Інтерстиційний простір збільшувався за рахунок появи незначних осередків інфільтрації, епітеліоїдних клітин і фібробластів/фіброцитів. Ступінь запальної реакції в трансплантаті була оцінена як 1,1.

У трансплантаті під НК відмічалося повсюдне зростання осередків масованої лімфоцитарної інфільтрації, проникнення лімфоцитарного інфільтрату всередину канальців, присутність епітеліоїдних клітин і майже повна загибель клітин донора (рис. Е). Лише окремі сім'яні канальці містили тільки клітини Сертолі. Ступінь запальної реакції в трансплантаті була оцінена як 4,2.

Аналіз трансплантата через 60 діб після операції

На 60-ту добу після ІТ трансплантації сім'яні канальці донора складалися в основному з клітин Сертолі (рис. Г). Просвіт канальців був заповнений кальцифікатом. У інтерстиційному просторі переважали клітини фібробластичного ряду, що формували рубець. Осередків лімфоцитарної інфільтрації майже не спостерігалося. Ступінь запальної реакції в трансплантаті була оцінена як 0,2.

У трансплантаті під НК на 60-ту добу в донорській тканини були виявлені генералізовані вогнища лімфоцитарного інфільтрату і вогнища повністю сформованого рубця зі сполучної тканини (рис. Ж).

На місці сім'яних канальців, серед лімфоцитарного інфільтрату і сполучної тканини, спостерігалися як невеликі, так і значні кістоподібні порожнини (рис. З), що були вистелені сполучною тканиною. Донорські клітини і тканини були відсутні. Ступінь запальної реакції в трансплантаті була оцінена як 5,0.

Обговорення

Алотрансплантат ініціює розвиток реакції імунологічного відторгнення, яке за своєю клінічною картиною поділяють на надгостре, гостре і хронічне. Механізм надгострого відторгнення обумовлений пресенсибілізацією організму реципієнта до антигенів донора. Цей механізм зазвичай реалізується в перші хвилини або години після операції. У нашій роботі трансплантат мав більш тривалий період виживання, тому в нашій моделі такий механізм не міг бути реалізований.

У патогенезі гострого відторгнення, як правило, основну роль відіграє клітинна ланка імунітету. За допомогою неї відбуваються процеси розпізнавання антигенів головного комплексу гістосумісності (у мишей Н2) і знищення чужорідної клітини-мішені. Залежно від шляху представлення антигену, цей процес може реалізуватися як на 1, так і на 2 або 3 тижні, але не більше. Якщо він не реалізується, то можна говорити про хронічний механізм, в якому головну участь беруть гуморальні антитіла до головного комплексу гістосумісності. Як правило, цей механізм реалізується протягом декількох місяців або років після трансплантації. Для наших моделей трансплантації найбільш характерні два останніх механізми. При порівнянні двох типів трансплантацій спостерігалися принципово різні механізми відторгнення і шляхи розвитку донорської тканини.

Через 15 діб після операції в ІТ трансплантаті показано формування структури сім'яника, подібної дорослому організму. Широко відомо, що тестостерон, який дифундує в сім'яні канальці, необхідний для індукції сперматогенезу, стимулювання поділу сперматогоніїв, мейозу сперматоцитів в пубертатному періоді та його підтримки в зрілому віці. Формування більш компактного інтерстиційного простору, а також сім'яного канальця, характерного для більш зрілих тварин, вказує на наявність стероїдогенних клітин саме в інтерстиційному просторі трансплантата. Після трансплантації в ІТ трансплантаті були показані фази поділу та росту сперматогенних клітин. Наявність пахітенових сперматоцитів підтверджує вступ клітин в стадію мейозу.

Формування просвіту канальців вказує на формування адлюмінального простору, який створює специфічне оточення для сперматогенезу. Процес формування просвіту канальців також залежить від наявності зрілих клітин Сертолі (Cheng et al., 2012). Поява зрілих клітин Лейдіга і Сертолі вказує на включення трансплантата в загальну схему регуляції гормонами гіпофіза і гіпоталамуса реципієнта, а також про цілком сформовані сім'яні канальці, що складаються з перитубулярних міоїдних клітин, зрілих клітин Сертолі і сформованої між ними базальної мембрани. Формування люмінальної порожнини також вказує на наявність гемато-тестикулярного бар'єру, який сформований, головним чином, щільними і десмосомоподобними контактами клітин Сертолі. Вони ізолюють високоімуногенний

компонент трансплантата – гермінативний епітелій – від імунної системи реципієнта (Cheng et al., 2012). Це робить свій внесок у механізм пролонгування виживаності трансплантата.

На 30-ту добу після операції в сім'яних канальцях ІТ трансплантатів, у порівнянні з 15-ою добою, знижувалася загальна кількість сперматоцитів, що свідчить про згасання сперматогенної функції. Значна частина гермінативного епітелію була сформована клітинами Сертолі і сперматогоніями. Збільшення інтерстиційного простору відбувалося, в основному, за рахунок формування сполучної тканини, епітеліоїдних клітин і незначної кількості інфільтрату. Незважаючи на це, до 60-ї доби спостереження сім'яні канальці залишалися, але були сформовані, головним чином, клітинами Сертолі з просвітом, заповненим кальцифікатом. Присутність клітин донора на тлі відсутності клітинного інфільтрату вказує на хронічний характер відторгнення трансплантата і його здатність виживати в організмі реципієнта після ІТ трансплантації тривалий період.

До 15-ої доби у трансплантаті під НК спостерігалося руйнування гермінативного шару стінок сім'яного канальця, що свідчить про нездатність трансплантата до функціонування і розвитку. Наявність великої кількості інфільтрату вказує на те, що при трансплантації під капсулу нирки реакція відторгнення трансплантата йде за гострим шляхом, в якому задіяні механізми як прямого, так і опосередкованого розпізнавання молекул головного комплексу гістосумісності. До 30-ої доби ці процеси наростали. Значно знижувалася кількість канальців, вистелених донорськими клітинами Сертолі. До 60-ої доби проникнення інфільтрату в сім'яні канальці призводило до повної відсутності клітин донора в трансплантаті і формування сполучнотканинного рубця.

Порівняння цих двох місць для трансплантації показує, що місце трансплантації в даній моделі визначає виживаність трансплантата. У роботі (Matoba, Ogura, 2010) була показана реконструкція сім'яних канальців при трансплантації примордіальних гермінативних клітин і гонадальних соматичних клітин під НК. При цьому було показано формування серед трансплантованої тканини ранніх сперматид. Крім того, введення цих сперматид в зрілий ооцит призводило до народження нормального потомства. Таким чином, показана принципова можливість для повноцінного ектотопічного сперматогенезу при трансплантації у дорослих лінійних мишей. При алотрансплантації серед нелінійних та/або неімунодефіцитних особин виникає реакція імунологічного відторгнення, яка створює перешкоди для розвитку донорських клітин.

Відомо, що сім'яник як сайт трансплантації має здатність пролонгувати виживаність донорських тканин (Head et al., 1983). В основі цієї властивості, мабуть, лежать механізми встановлення толерантності стосовно аутоантигенів, які продукуються власними гермінативними клітинами в процесі розвитку (Wakabayashi et al., 1997). Здатність сім'яника пролонгувати виживаність трансплантата забезпечується множинними факторами: фізіологічною структурою органа, місцевим імуносупресивним оточенням і системною імунологічною толерантністю (Meinhardt, Hedger, 2011).

Про роль гемато-тестикулярного бар'єра у обмеженні гермінативних клітин від імунної системи господаря нами було сказано вище. Однак гемато-тестикулярний бар'єр не забезпечує повної ізоляції антигенів як в нормальних умовах, так і в умовах трансплантації, тим більше, що сперматогонії знаходяться із зовнішнього боку бар'єру (Setchell, 1990). Крім того, було показано, що наявність власних антигенів, особливо на певних етапах розвитку, багато в чому забезпечує механізм формування толерантності та імунопривілейованості (Wakabayashi et al., 1997). Встановлено, що гермінативні клітини можуть секретувати різні цитокіни, включаючи ІЛ1α і ФНОα (De et al., 1993). Було показано, що гермінативні клітини експресують Fas-ліганд, який може запускати апоптоз лімфоцитів (D'Alessio et al., 2001). Однак, цього механізму недостатньо як для забезпечення толерантності (Filippini et al., 2001), так і для виживання трансплантата сім'яників, особливо, під НК.

При ІТ трансплантації донорська тканина знаходиться у специфічному оточенні інтерстиційного простору реципієнта, яке містить велику кількість імунокомпетентних клітин, що мають специфічні властивості. Наприклад, тестикулярні макрофаги, які є однією з основних клітинних популяцій інтерстиційного простору, мають відносно низькі здібності брати участь у запаленні і високі імуносупресивні властивості в порівнянні з макрофагами з інших тканин (Kern et al., 1995). Макрофаги сім'яників здатні продукувати протизапальні цитокіни (Winnall et al., 2011). Т-лімфоцити також представлені в інтерстиційному просторі переважно CD8+ клітинами. В-лімфоцити в нормі дуже рідкісні. При запальних процесах в сім'яниках їх кількість значно зростає (El-Demiry et al.,1987). Також в сім'яниках показано наявність особливої популяції клітин – CD4+CD25+ регуляторних Т-лімфоцитів, які характеризуються потужними імуносупресивними властивостями, сприяють підтримці та контролю периферичної толерантності (Wheeler et al., 2011). В роботі (Dai et al., 2005; Nasr et al., 2005) була

показана ліквідація CD8+ клітин пам'яті при трансплантації острівців Лангерганса в сім'яник і збільшення кількості CD4+CD25+ регуляторних Т-лімфоцитів в селезінці і лімфатичних вузлах. Це сприяло збільшенню виживаності алотрансплантата не тільки в імунопривілейованому місці трансплантації, що вказує на системний характер формування імунологічної толерантності.

У нашому випадку наявність лімфоцитарного інфільтрату не була чинником, що визначає механізм відторгнення. При ІТ трансплантації не реалізовується клітинний механізм, який характерний для гострого відторгнення. Замість цього реалізовувався один або декілька з описаних вище механізмів імунологічного стримування запалення. Реакція відторгнення переходила в хронічний характер, про що свідчать розвиток трансплантата і його тривалі терміни виживання в сім'яниках реципієнта.

Висновки

1. ІТ трансплантація призводить до більш тривалої виживаності донорських тканин в організмі реципієнта у порівнянні з трансплантацією під ПК. При ІТ трансплантації не реалізовується повною мірою клітинний механізм, характерний для гострого відторгнення.

2. Формування в донорському органі гемато-тестикулярного бар'єру і структури тканин, характерної для паренхіми сім'яників більш зрілих тварин, не призводило до повної імуноізоляції донорських антигенів в організмі реципієнта. Наслідком цього був розвиток реакцій імунологічного відторгнення, швидкість яких залежала від місця трансплантації.

3. Сім'яник новонароджених мишей був здатний розвиватися тільки в умовах ІТ алотрансплантації і давати генерації сперматозоїдів до сперматоцитів першого порядку через 15 діб після трансплантації. Подальше наростання реакцій імунологічного відторгнення призводило до деструкції сім'яних канальців. За клінічною картиною механізм відторгнення був хронічний, на що вказує наявність донорських клітин і відсутність осередків лімфоцитарного інфільтрату через 60 діб після трансплантації. Трансплантат під НК не розвивався. Він відторгався за гострим механізмом в перші 2–3 тижні після операції.

Список літератури

Aponte P.M., Schlatt S., Franca L.R. Biotechnological approaches to the treatment of aspermatogenic men // Clinics (Sao Paulo). – 2013. – Vol.68. – P. 157–167.

Chen J.J., Sun Y., Nabel G.J. Regulation of the proinflammatory effects of Fas ligand (CD95L) // Science. – 1998. – Vol.282. – P. 1714–1717.

Cheng C.Y., Mruk D.D. The blood-testis barrier and its implications for male contraception // Pharmacol. Rev. – 2012. – Vol.64, no 1. – P. 16–64.

Dai Z., Nasr I.W., Reel M. et al. Impaired recall of CD8 memory T cells in immunologically privileged tissue // J. Immunol. – 2005. – Vol.174, no 3. – P. 1165–1170.

D'Alessio A., Riccioli A., Lauretti P. et al. Testicular FasL is expressed by sperm cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol.98, no 6. – P. 3316–3321.

De S.K., Chen H.L., Pace J.L. et al. Expression of tumor necrosis factor-alpha in mouse spermatogenic cells // Endocrinology. – 1993. – Vol.133, no 1. – P. 389–396.

El-Demiry M.I., Hargreave T.B., Busuttil A. et al. Immunocompetent cells in human testis in health and disease // Fertil. and Steril. – 1987. – Vol.48, no 3. – P. 470–479.

Filippini A., Riccioli A., Padula F. et al. Control and impairment of immune privilege in the testis and in semen // Hum. Reprod. Update. – 2001. – Vol.7, no 5. – P. 444–449.

Griffith T.S., Brunner T., Fletcher S.M. et al. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege // Science. – 1995. – Vol.270. – P. 1189–1192.

Head J.R., Neaves W.B., Billingham R.E. Immune privilege in the testis. I. Basic parameters of allograft survival // Transplantation. – 1983. – Vol.36, no 4. – P. 423–431.

Kern S., Robertson S.A., Mau V.J., Maddocks S. Cytokine secretion by macrophages in the rat testis // Biol. Reprod. – 1995. – Vol.53, no 6. – P. 1407–1416.

Li J., Savolainen H., Tan F., Zheng S. Orthotopic testicular transplantation in mice // Reproduction. – 2010. – Vol.139, no 2. – P. 447–452.

Li N., Wang T., Han D. Structural, cellular and molecular aspects of immune privilege in the testis // Front Immunol. – 2012. – Vol.152. – P. 1–11.

Matoba S., Ogura A. Generation of functional oocytes and spermatids from fetal primordial germ cells after ectopic transplantation in adult mice // Biol. Reprod. – 2011. – Vol.84, no 4. – P. 631–638.
Meinhardt A., Hedger M.P. Immunological, paracrine and endocrine aspects of testicular immune privilege // Mol. Cell Endocrinol. – 2011. – Vol.335, no 1. – P. 60–68.
Nasr I.W., Wang Y., Gao G. et al. Testicular immune privilege promotes transplantation tolerance by altering the balance between memory and regulatory T cells // J. Immunol. – 2005. – Vol.174, no 10. – P. 6161–6168.
Setchell B.P. The testis and tissue transplantation: Historical aspects // J. Reprod. Immunol. – 1990. – Vol.18. – P. 1–8.
Simpson E.A. historical perspective on immunological privilege // Immunol Rev. – 2006. – Vol.213. – P. 12–22.
Wakabayashi A., Eishi Y., Nakamura K. Regulation of experimental autoimmune orchitis by the presence or absence of testicular antigens during immunological development in SCID mice reconstituted with fetal liver cells // Immunology. – 1997. – Vol.92, no 1. – P. 84–90.
Wheeler K., Tardif S., Rival C. et al. Regulatory T cells control tolerogenic versus autoimmune response to sperm in vasectomy // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011. – Vol.108, no 18. – P. 7511–7516.
Winnall W.R., Muir J.A., Hedger M.P. Rat resident testicular macrophages have an alternatively activated phenotype and constitutively produce interleukin-10 in vitro // J. Leukoc. Biol. – 2011. – Vol.90, no 1. – P. 133–143.

Представлено: К.В.Мілентьєва / Presented by: K.V.Milentyeva
Рецензент: Ю.Г.Кот / Reviewer: Yu.G.Kot
Подано до редакції / Received: 27.01.2016