

СООТНОШЕНИЕ ТИПОВ КЛЕТОК ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОГО ПРОСТРАНСТВА СЕМЕННИКОВ ПРИ ИНТРАТЕСТИКУЛЯРНОЙ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕМЕННИКОВ НОВОРОЖДЕННЫХ МЫШЕЙ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)

aleksandr.pakhomov2017@yandex.ru

Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской темы «Структурно-функциональные свойства и пролиферативный потенциал эндокринных тканей при культивировании, криоконсервировании и трансплантации» (шифр 2.2.6.64, № государственной регистрации 0111U001196).

Вступление. Семенники млекопитающих обладают замечательным свойством иммунопривилегированности и в то же время эффективным локальным врожденным иммунитетом. Эти свойства возможны благодаря двум взаимосвязанным компонентам: морфологическому строению органа и свойству его клеток. Они обеспечивают, во-первых, защиту аутоантигенов от повреждающего действия иммунной системы, во-вторых, противодействие внедрению патогенной флоры.

Семенники млекопитающих состоят из двух основных компонентов: семенных канальцев и интерстициального пространства между ними. Соответственно, основными их функциями являются сперматогенез и стероидогенез. Интерстициальное пространство представляет собой рыхлую соединительную ткань с тонкими коллагеновыми фибриллами, а также небольшим количеством фибробластов и мезенхимальных клеток. Оно также содержит клетки иммунной системы, которые ответственны за врожденный и приобретенный иммунитет, и клетки Лейдига, локализованные в виде кластеров клеток вблизи капилляров.

Было показано, что соотношение различных типов клеток иммунной системы в интерстициальном пространстве различно при развитии воспалительного процесса в семенниках. Частным случаем воспалительной реакции является иммунологическое отторжение. В достаточно большом количестве работ была показана возможность продления срока функционирования трансплантата при условии помещения его в интерстициальное пространство. Отмечена значительная взаимосвязь между присутствием различных популяций клеток иммунной системы и выживанием трансплантата [1, 11]. Было показано, что аллотрансплантация высокоиммунных островков поджелудочной железы приводит к значительно меньшему вовлечению в иммунный ответ CD8+ Т-клеток памяти, но индуцирует появление более антигенспецифических CD4+CD25+ Т-регуляторных клеток. CD4+CD25+ клетки индуцируют супрессию аллоиммунного ответа *in vitro*

и *in vivo*. Также было показано, что введение CD8+ или элиминация CD25+ клеток приводили к нарушению толерантности к аллотрансплантату.

Макрофаги, присутствующие в интерстициальном пространстве, морфологически схожи с макрофагами/моноцитами кровяного русла, но в меньшей степени способны индуцировать провоспалительные цитокины и обладают иммуносупрессивными характеристиками *in vitro* [5]. Значение этой популяции клеток в обеспечении иммунного гомеостаза в семенниках было продемонстрировано в работе [10], где выживание аллотрансплантата паразитовидной железы не было пролонгировано ввиду очень малого количества резидентных макрофагов в семенниках барана. Кроме того, увеличение количества макрофагов, происходящих из моноцитов, при развитии аутоиммунного орхита индуцировало изменение баланса цитокинов в сторону развития воспалительного процесса [14]. Как видно из представленных работ различные физиологические и патологические процессы оказывают значительное воздействие на клеточное окружение в интерстициальном пространстве.

Цель исследования – изучить изменение соотношения типов иммунных клеток в семенниках реципиента при интратестикулярной аллотрансплантации семенников новорожденных мышей.

Объект и методы исследования. Эксперименты проведены в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике и согласованными с положениями «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей».

Для получения донорских органов новорожденных мышей для аллотрансплантации животных возрастом до 1 суток усыпляли с помощью кетамин-ксилазиновой инъекции (кетамин – 7,5 мг/ 100 г, ксилазин – 1,5 мг/ 100 г веса животного). После этого через разрез в брюшной полости извлекали семенники. Жировая ткань, эпидидимис и семявыносящий проток аккуратно отделялись от семенника. Органы в фосфатном буферном растворе, содержащем 100 ед/мл пенициллина, 200 мкг/мл стрептомицина и 5 мкг/мл амфотерицина В, немедленно помещали на лед.

Трансплантацию проводили под общей кетамин-ксилазиновой анестезией (кетамин – 2,5 мг/ 100 г,

ксилазин – 0,5 мг/ 100 г веса животного). При трансплантации использовали операционный микроскоп с оптическим увеличением 12, холодное освещение операционного поля, микрохирургический офтальмологический инструментарий (скальпель, пинцеты, ножницы), иглодержатель с хирургической иглой, анатомические и хирургические пинцеты, шовный материал. Область операционного поля – переднюю стенку брюшной полости, обрабатывали 70% медицинским спиртом. Через разрез в брюшной полости левый семенник выводили наружу. С помощью хирургической иглы аккуратно делали прокол в верхнем полюсе белочной оболочки семенника в месте, где отсутствовали крупные сосуды. Через этот прокол в толщу паренхимы яичка помещали донорские органы. После этого семенник вновь помещали в брюшную полость. Операционную полость промывали 0,9%-м раствором NaCl, содержащим 100 ед/мл пенициллина и 200 мкг/мл стрептомицина, послойно сшивали края раны брюшной полости. Место разреза обрабатывали 3%-м спиртовым раствором йода. По истечении срока эксперимента животных умерщвляли с помощью инъекции кетамина и ксилазина (кетамин – 7,5 мг/ 100 г, ксилазин – 1,5 мг/ 100 г веса животного).

Получение клеток для фенотипирования проводили следующим образом. После экстирпации семенник животного освобождали от оболочек. К семенным канальцам с заключенными между ними клетками интерстициального пространства добавляли раствор коллагеназы с концентрацией 0,25 мг/мл и ДНКзы – 0,1 мг/мл, приготовленный на фосфатном буферном растворе объемом 1 мл. После этого семенник диссоциировали в течение 10 минут при 34°C и постоянном встряхивании 90 циклов в минуту на водяной бане. Затем к полученной массе семенных канальцев и клеток добавляли фосфатный буферный раствор и фильтровали через двойной слой нейлонового сита с ячейками диаметром около 100 мкм. Фильтрат был собран и центрифугирован при 325g 3 минуты. После этого надосадочную жидкость удаляли, а осевшие клетки разводили фосфатным буферным раствором до рабочей концентрации 5×10^6 кл/мл. Популяции клеток были получены из семенников животных с трансплантатом семенников новорожденных мышей через 15, 30 и 60 суток после трансплантации. Контролем служили ложнопериоперированные животные, с которыми

мы проводили все описанные выше манипуляции, за исключением введения донорских органов.

Фенотипирование клеток проводили методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре «FACS Calibur» («Becton Dickinson», США) с использованием реагентов «BD» (США) и FITS- или PE-меченных моноклональных антител по общепринятому международному ISHAGE протоколу. При количественной оценке популяций клеток интерстиция семенников были использованы следующие маркеры: CD11b, CD11c, NLDC-145, Ly6g, CD3, CD45, CD4, CD8, CD25 («Abcam», Великобритания). Данные проточной цитометрии обрабатывали с помощью программного обеспечения «CellQuestPro».

Данные представлены в виде среднего, достоверность различий между выборками оценивали с помощью U критерия Манна-Уитни с уровнем значимости 0,05. При множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони при уровне значимости 0,01. Объем выборки составлял не менее 5 экспериментов.

Результаты исследований и их обсуждение.

Достоверных изменений в популяциях интерстициальных клеток в контрольной группе за весь период наблюдения не происходило (табл.).

Для животных с трансплантатами было характерно увеличение количества CD11b+ клеток на всех сроках наблюдения почти в 2 раза по сравнению с контрольными значениями. Маркер CD11b является частью гетеродимера, известного как рецептор к C3 компоненту комплемента. CD11b участвует в различных адгезивных взаимодействиях моноцитов, макрофагов и гранулоцитов, а также опосредует захват частиц, покрытых комплементом. У мышей этот маркер, экспрессируемый в семенниках, характерен в основном для моноцитов/макрофагов. Правда, слабая экспрессия может быть присуща гранулоцитам, натуральным киллерам, некоторым субпопуляциям В-клеток и дендритных клеток.

Относительное содержание CD11b+CD11c+ клеток возрастало на 30 сутки почти в 6 раз и составляло до 0,91%, а затем снижалось до 0,31% на 60 сутки. Относительное содержание CD11b-CD11c+ клеток значительно увеличивалось на 30 и 60 сутки по сравнению с контролем. Следует отметить, что маркер CD11c у мышей экспрессируется преимущественно дендритными клетками. CD11c – интегрин α X мембранный белок, гликопротеин из надсемейства интегринов, продукт гена ITGAX (CD11C),

Таблица.

Относительное содержание клеток, полученных из семенников взрослых мышей после трансплантации, %

	CD11b+	CD11b+ CD11c+	CD11b- CD11c+	NLDC+	CD45+	Ly6g+	CD3+	CD4+	CD8+	CD4+ CD25+
Контроль	10.10	0.13	0.03	0.00	4.47	1.13	2.72	0.95	0.64	0.01
15 суток	17.63*	0.11	0.02	1.16*	3.10	2.82*	2.89	1.49	0.93	0.10*
30 суток	18.67*	0.91*	0.1*	0,00	14.12*	10.99*	11.87*	4.28*	2.69*	0,10*
60 суток	20.70*	0.31*	0.27*	0.11	3.58	3.63*	3.16	1.52	1,19*	0.08*

Примечание: * – различия достоверны относительно контрольных значений ($P \leq 0,05$)

альфа-субъединица интегрин $\alpha\text{X}\beta 2$, рецептора фибриногена. Он синтезируется дендритными клетками и небольшой популяцией миелоидных клеток. Созревание дендритных клеток тесно связано с развитием Т-клеточноопосредованного иммунитета.

Исследование относительного содержания другого типа дендритных клеток с маркером NLDC-145, а именно нелимфоидных дендроцитов, показало появление их только на 15 сутки после трансплантации.

Исследование относительного содержания клеток, несущих общий для лейкоцитов маркер CD45, у животных с трансплантатами показало достоверное его увеличение более чем в 3 раза только на 30 сутки наблюдения. К 60 суткам содержание этих клеток достоверно не отличалось от контрольных значений.

Похожая ситуация наблюдалась и для $\text{Ly}6\text{g}^+$ клеток. Маркер $\text{Ly}6\text{g}$ временно экспрессируется на моноцитах в процессе их созревания и коррелирует с дифференцировкой и созреванием гранулоцитов. Содержание этих клеток возрастало к 15 и 30 суткам с 1.13 до 2.82 и 10.99%, соответственно, а к 60 суткам снижалось до 3.63%.

Относительное содержание клеток, несущих маркер CD3, расположенный на одной из цепей Т-клеточного рецептора, увеличивалось только на 30 сутки почти в 5 раз у животных с трансплантатами. Это также коррелировало с увеличением количества клеток, несущих на своей поверхности маркер цитотоксических Т-лимфоцитов CD8, и клеток с маркером CD4, который характерен для субпопуляции Т-лимфоцитов хелперов. Относительное количество $\text{CD}4^+$ клеток возрастало почти в 4 раза на 30 сутки у животных с трансплантатами. Среди этой популяции $\text{CD}4^+$ клеток появлялись клетки, несущие маркер CD25. CD25, или IL2 α -рецептор, может присутствовать на активированных Т- и В-клетках, пре-В-клетках и Т-регуляторных клетках. CD25 также характерен для популяции $\text{CD}4^+\text{CD}25^+$ Т-лимфоцитов, обладающих иммунорегуляторными свойствами. Количество $\text{CD}4^+\text{CD}25^+$ клеток составляло около 1% на всех сроках наблюдения у животных с трансплантацией.

Интерстициальное пространство представляет только малую часть семенников, но состоит из большого числа клеточных типов. Здесь находится большое количество различных видов иммунных клеток. Одним из основных клеточных типов являются макрофаги. По данным некоторых авторов [5] они составляют около 20% общего количества клеток интерстициального пространства. Макрофаги выполняют важную функцию – поддерживают и регулируют стероидогенез [6]. Кроме того, макрофаги принадлежат к семейству антигенпрезентирующих клеток. Однако рядом авторов показано, что тестикулярные макрофаги обладают свойствами, которые идут вразрез с общим представлением о них, как о клетках, участвующих в развитии воспаления и элиминации антигена. Совершенно очевидно, что в нормальных условиях тестикулярные макрофаги обладают относительно низкими провоспалительными и достаточно высокими иммуносупрессивными

свойствами по сравнению с макрофагами других органов [8]. Было показано, что они постоянно продуцируют противовоспалительные цитокины [15]. Такие фенотипические проявления являются частью сложного механизма привелегированности. В противоположность этому циркулирующие в кровяном русле макрофаги при попадании в интерстициальное пространство способствуют развитию воспалительной реакции. Клинические наблюдения показывают высокое количество макрофагов в семенниках пациентов с нарушением сперматогенеза и infertility [3].

В нашем эксперименте было показано относительное увеличение числа $\text{CD}11\text{b}^+$ клеток в семенниках с трансплантатом. Очевидно, что постоянное присутствие трансплантата приводит к экссудативным процессам и постепенному проникновению в интерстициальное пространство клеток из кровяного русла, в частности моноцитов/макрофагов. Увеличение количества этих клеток способствует, по-видимому, постепенному переключению иммунного ответа с иммунопривилегии на иммунологическое отторжение.

Дендритные клетки в норме существуют в интерстициальном пространстве. Они представляют собой малую, но очень интересную популяцию интерстициальных клеток. При хроническом воспалении их количество значительно возрастает [12]. Дендритные клетки – наиболее мощные антигенпредставляющие клетки, индуцирующие активацию и дифференцировку лимфоцитов в ответ на аллоантигены, а также минимизирующие аутоиммунный ответ на аутоантигены. При нормальном состоянии дендритные клетки семенников обладают незрелым фенотипом. Они не способны активировать лимфоциты в физиологических условиях. Поэтому предполагают, что они способствуют иммунологической толерантности, а при воспалении приобретают фенотип зрелых клеток [4].

Нами было показано увеличение количества $\text{CD}11\text{c}^+$ клеток на 30 и 60 сутки после трансплантации. Причем часть этих клеток несли также и $\text{CD}11\text{b}$ маркер, поэтому они скорее могут рассматриваться как один из маркеров дальнейшего созревания макрофагов. В статье [7] их называли подобными дендритным клеткам. Но как бы то ни было, к 30 и, особенно, 60 суткам увеличивалось количество клеток, несущих только $\text{CD}11\text{c}$. При этом наличие клеток, несущих NLDC-145 маркер, характерный для нелимфоидных дендритных клеток, было показано на 15 сутки после трансплантации. Эти данные косвенно говорят о медленном постепенном развитии иммунного ответа на аллотрансплантат [13], особенно к 60 суткам.

Увеличение количества $\text{CD}3^+$ клеток на фоне увеличения числа $\text{CD}45^+$ клеток в течение первого месяца эксперимента, а также увеличенное содержание $\text{Ly}6\text{g}^+$ клеток говорит о переключении на клеточный иммунный ответ, в котором в основном задействованы Т-хелперы 1 типа. Они в свою очередь способствуют запуску процесса созревания Т-лимфоцитов-киллеров в сенсibilизированные Т-лимфоциты. В нашем случае на это указывает уве-

личение числа CD8+ клеток в интерстициальном пространстве на 30 сутки после трансплантации. Содержание CD4+ клеток в семенниках также повышалось на 30 сутки после трансплантации, что подтверждает вовлечение Т-лимфоцитов-хелперов в процесс созревания эффекторных клеток иммунной системы. Снижение содержания CD4+ и CD8+ клеток к 60 суткам наблюдения, по-видимому, говорит о снижении участия клеточного звена в процессе отторжения.

Следует отметить, что лимфоциты всегда обнаруживаются в интерстициальном пространстве при обычном физиологическом состоянии. Большинство тестикулярных лимфоцитов – это Т-клетки. В-клетки не обнаруживаются в нормальном состоянии. При развитии воспалительного процесса у животных и человека количество лимфоцитов значительно увеличивается [2,9].

Предполагают, что семенники содержат достаточно большое количество Т-регуляторных клеток (Tregs) с фенотипом CD4+CD25+, которые обладают мощным иммуносупрессивным эффектом и способствуют развитию периферической толерантности. В работах [1,11] было показано, что интратестикулярная аллотрансплантация островков поджелудочной железы у мышей приводила к элиминации Т-клеток памяти и появлению Tregs. Мы наблюдали увеличение содержания CD4+CD25+ клеток уже на 15 сутки после трансплантации. Повышенное их содержание по сравнению с контрольными животными сохранялось в течение всего периода проведения эксперимента. Не смотря на увеличение количества CD8+ клеток, которые являются эффекторами при клеточной иммунной реакции, следует отметить, что трансплантат все же сохранялся на 60 день проведения эксперимента.

Распознавание антигенов при трансплантации происходит двумя способами. Первый – прямое распознавание, когда антигены донора представляются антигенпредставляющими клетками самого донора, так называемыми «лейкоцитами-пассажирами». Стимуляция этого пути привела бы к отторжению трансплантата уже на первой неделе после трансплантации, особенно ввиду наличия «лейкоцитов-пассажиров» в донорском семеннике. Второй

тип распознавания антигенов – не прямое распознавание, при котором донорские антигены представляются антигенпредставляющими клетками реципиента. Дальнейшая судьба трансплантата при этом зависит от вовлеченности в иммунный ответ Т-хелперов определенного типа. В связи с этим может развиваться либо клеточный, либо гуморальный ответ.

В нашем случае интересно отметить, что, не смотря на увеличение количества моноцитов/макрофагов, гранулоцитов, лимфоцитов и дендритных клеток в интерстициальном пространстве, иммунный ответ идет в основном не по острому, а по хроническому пути отторжения, в патогенезе которого в основном принимают участие гуморальные антитела к антигенам главного комплекса гистосовместимости (у мышей H2). Об этом говорят и продолжительные сроки выживания трансплантата после пересадки. Вокруг трансплантата постепенно формировалась прослойка соединительной ткани, при этом значительных очагов инфильтрации макрофагами и сегментоядерными клетками, которые характерны для острого криза отторжения, в период проведения эксперимента не наблюдалось.

Выводы

1. Интратестикулярная аллотрансплантация семенников новорожденных мышей значительным образом влияет на изменение популяций клеток в интерстициальном пространстве реципиента.

2. Изменения популяционного состава клеток сдерживают процесс прямого распознавания антигенов донора, клеточный иммунный ответ и, соответственно, развитие острых реакций отторжения, что способствует более длительному выживанию интратестикулярного трансплантата семенников.

Перспективы дальнейших исследований

В дальнейшем целесообразно изучить воздействие трансплантации семенников при различных состояниях гипогонадизма и способы преодоления иммунологической несовместимости при интратестикулярной трансплантации, а также оценить возможность создания нового материала для клеточной трансплантации.

Литература

1. Dai Z. Impaired recall of CD8 memory T cells in immunologically privileged tissue / Z. Dai, I. W. Nasr, M. Reel [et al.] // J Immunol. – 2005. – Vol. 174 (3). – P. 1165-1170.
2. el-Demiry M. I. Immunocompetent cells in human testis in health and disease / M. I. el-Demiry, T. B. Hargreave, A. Busuttill [et al.] // Fertil Steril. – 1987. – Vol. 48 (3). – P. 470-479.
3. Frungieri M. B. Number, distribution pattern, and identification of macrophages in the testes of infertile men / M. B. Frungieri, R. S. Calandra, L. Lustig [et al.] // Fertil Steril. – 2002. – Vol. 78 (2). – P. 298-306.
4. Guazzone V. A. Characterization of dendritic cells in testicular draining lymph nodes in a rat model of experimental autoimmune orchitis / V. A. Guazzone, S. Hollwegs, M. Mardirosian [et al.] // Int J Androl. – 2011. – Vol. 34 (3). – P. 276-289.
5. Hedger M. P. Macrophages and the immune responsiveness of the testis / M. P. Hedger // J Reprod Immunol. – 2002. – Vol. 57 (1-2). – P. 19-34.
6. Hutson J. C. Physiologic interactions between macrophages and Leydig cells / J. C. Hutson // Exp Biol Med (Maywood). – 2006. – Vol. 231 (1). – P. 1-7.
7. Kadowaki T. Galectin-9 prolongs the survival of septic mice by expanding Tim-3-expressing natural killer T cells and PDCA-1+ CD11c+ macrophages / T. Kadowaki, A. Morishita, T. Niki [et al.] // Crit Care. – 2013. Vol. 17 (6). – P. 284.
8. Kern S. Cytokine secretion by macrophages in the rat testis / S. Kern, S. A. Robertson, V. J. Mau, S. Maddocks // Biol Reprod. – 1995. – Vol. 53. – P. 1407-1416.
9. Lustig L. Phenotypic characterization of lymphocytic cell infiltrates into the testes of rats undergoing autoimmune orchitis / L. Lustig, L. Lourttau, R. Perez, G. F. Doncel // Int J Androl. – 1993. – Vol. 16 (4). – P. 279-284.

10. Maddocks S. The rejection of thyroid allografts in the ovine testis / S. Maddocks, B. P. Setchell // *Immunol Cell Biol.* – 1988. – Vol. 66 (1). – P. 1-8.
11. Nasr I. W. Testicular immune privilege promotes transplantation tolerance by altering the balance between memory and regulatory T cells / I. W. Nasr, Y. Wang, G. Gao [et al.] // *J Immunol.* – 2005. – Vol. 174 (10). – P. 6161-6168.
12. Rival C. Identification of a dendritic cell population in normal testis and in chronically inflamed testis of rats with autoimmune orchitis / C. Rival, L. Lustig, R. Iosub [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2006. – Vol. 324 (2). – P. 311-318.
13. Rival C. Expression of co-stimulatory molecules, chemokine receptors and proinflammatory cytokines in dendritic cells from normal and chronically inflamed rat testis / C. Rival, V. A. Guazzone, W. von Wulffen [et al.] // *Mol Hum Reprod.* – 2007. – Vol. 13 (12). – P. 853-861.
14. Rival C. Functional and phenotypic characteristics of testicular macrophages in experimental autoimmune orchitis / C. Rival, M.S. Theas, M. O. Suescun [et al.] // *J Pathol.* – 2008. – Vol. 215 (2). – P. 108-117.
15. Winnall W. R. Rat resident testicular macrophages have an alternatively activated phenotype and constitutively produce interleukin-10 in vitro / W. R. Winnall, J. A. Muir, M. P. Hedger // *J Leukoc Biol.* – 2011. – Vol. 90 (1). – P. 133-143.

УДК: 612.616.014.089.085.2

СПІВВІДНОШЕННЯ ТИПІВ КЛІТИН ІНТЕРСТИЦІЙНОГО ПРОСТОРУ СІМ'ЯНИКІВ ПРИ ІНТРАТЕСТИКУЛЯРНІЙ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ СІМ'ЯНИКІВ НОВОНАРОДЖЕНИХ МИШЕЙ

Пахомов О. В., Сидоренко О. С., Легач Є. І., Божок Г. А.

Резюме. Сім'яники ссавців є органом, в якому існує специфічне імунологічне оточення. В фізіологічних умовах воно забезпечує несприйнятливості до аутоантигенів і в той сам час здійснює локальну імунну відповідь на проникнення патогенної мікрофлори. При інтратестикулярній трансплантації ці властивості можуть сприяти більш тривалій виживаності трансплантата. Багато в чому ці властивості зобов'язані клітинами імунної системи сім'яників. У нашій роботі ми дослідили зміни складу клітин імунної системи в інтерстиційному просторі сім'яників дорослих мишей при алотрансплантації сім'яників новонароджених. Було показано, що алотрансплантація значним чином позначається на клітинному складі інтерстиційного простору, що в свою чергу сприяє більш тривалій виживаності трансплантата.

Ключові слова: сім'яник, алотрансплантація, інтерстиційний простір, імунопривілейованість, імунологічна толерантність.

УДК: 612.616.014.089.085.2

СООТНОШЕНИЕ ТИПОВ КЛЕТОК ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОГО ПРОСТРАНСТВА СЕМЕННИКОВ ПРИ ИНТРАТЕСТИКУЛЯРНОЙ АЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕМЕННИКОВ НОВОРОЖДЕННЫХ МЫШЕЙ

Пахомов А. В., Сидоренко О. С., Легач Е. И., Божок Г. А.

Резюме. Семенники млекопитающих являются органом, в котором существует специфическое иммунологическое окружение. В физиологических условиях оно обеспечивает невосприимчивость к аутоантигенам и в тоже время осуществляет локальный иммунный ответ на проникновение патогенной микрофлоры. При интратестикулярной трансплантации эти свойства могут способствовать более продолжительному выживанию трансплантата. Во многом эти свойства обязаны клеткам иммунной системы семенников. В нашей работе мы исследовали изменения состава клеток иммунной системы в интерстициальном пространстве семенников взрослых мышей при аллотрансплантации семенников новорожденных. Было показано, что аллотрансплантация значительным образом сказывается на клеточном составе интерстициального пространства, что в свою очередь способствует более длительному сроку выживания трансплантата.

Ключевые слова: семенник, аллотрансплантация, интерстициальное пространство, иммунопривилегированность, иммунологическая толерантность.

UDC: 612.616.014.089.085.2

THE PROPORTION OF INTERSTITIAL CELLS' TYPES OF TESTES BY THE INTRATESTICULAR ALLOTRANSPLANTATION OF NEWBORN MURINE TESTES

Pakhomov O. V., Sidorenko O. S., Legach E. I., Bozhok G. A.

Abstract. The development of methods of transplantations in andrology was associated with the creation and clinical approbation of different variants of testis transplantation. However, one of the main problems for using different types of transplantations is immunological rejection.

There is a specific immunological environment in testes of mammalian. First of all, it provides the protection of autoantigenes from the damaging impact of immune system as well as the counteraction to the invasion of pathogenic flore. The interstitial space is presented as a loose connective tissue with thin collagenous fibers, few fibroblasts and mesenchymal cells. There are cells of immune system that are in charge for innate and adoptive immunity, and the Leydig cells, which are located in form of clusters next to the capillaries. It has been shown that the proportions of various immune cells in the interstitial space may differ under the development of inflammation in the testes. One of the cases of inflammatory reaction is immunological rejection. The possibility of grafts' functioning prolongation as long as they were placed into the interstitial space has been described. The interaction between the present of different population of immune cells and graft's survival has been registered.

The aim of this work is the investigation of the changes in the immune cells' proportion under the intratesticular allotransplantation of newborn murine testes.

It has been shown that notwithstanding the great number of monocytes/macrophages, granulocytes, lymphocytes and dendritic cells in the interstitial space, the immune response is performed rather like chronic than acute rejection. The vast quantity of T-regulatory cells with CD4+CD25+ phenotype, which have powerful immunosuppressive effect and contribute in the developing of the peripheral tolerance, has been represented. We observed the increasing of number of CD4+CD25+ cells by day 15 after the transplantation. The quantity of these cells has remained heightened, when compared with control group. Pathogenesis of chronic rejection occurs basically at the expense of participation of humoral antibodies to the main histocompatibility complex, although, we observed the cells of the immune system in the tissue which surrounded grafts. However, the chronic response has been confirmed by long term of grafts' survival after the transplantations. The layer of connective tissue was formed around the grafts. Moreover, the significant foci of granulocytic and macrophage infiltration, which are inherent for acute rejection, were not observed over a period of observation.

Thus, the intratesticular allotransplantation of new born murine testes has significant impact on the cells' population in the interstitial space. These changes are in charge for the deterrence of the direct antigen recognition as well as the acute rejection and facilitate the long grafts' under intratesticular transplantation.

Keywords: testis, allotransplantation, interstitial space, immune privilege, immune tolerance.

Рецензент – проф. Бабійчук Г. А.

Стаття надійшла 01.02.2016 року