

ДО ВИВЧЕННЯ АНТИСПЕРМАЛЬНИХ АНТИТІЛ ТА ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ ПРИ
КРИПТОРХІЗМІ.

В. В. Желтвай, А. А. Симодейко, Н. Ф. Александрович.

При крипторхізмі спостерігаються морфофункціональні зміни, які приводять до порушення сперматогенезу та розвитку інфертильності. У значної частини хворих сперматогенез порушений і після орхіпексії [3, 5, 6, 8, 9, 12, 14, 15]. Існує гіпотеза [11], що в розвитку цих змін відіграють роль автоімунні процеси, які залежать від стану гематестікулярного бар'єру.

Проникливість останнього знаходиться в прямій залежності від стану кровообігу та лімфовідтоку яєчка, порушення яких може бути під час орхіпексії при мобілізації сім'яного канатика або при його натяжінні в післяопераційному періоді.

Відкриття" захисного бар'єру" веде за собою контакт імунокомпетентних клітин з антигеночужерідними для них елементами сім'яної залози і приводить до розвитку автоімунних реакцій, які супроводжуються утворенням антитіл та імунних комплексів [4, 10, 11].

Таким чином, визначення антиспермальних антитіл та циркулюючих імунних комплексів при крипторхізмі має практичне значення при поясненні безпліддя, яке розвивається при цій патології.

В даній роботі представлені методики визначення і результати вивчення антиспермальних антитіл (АСА), циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), холодових імунних комплексів (ХІК), сироваткового-супресорного фактору (ССФ) у тварин (160 безпорідних білих щурів-самців) з одностороннім експериментальним крипторхізмом орхіпексії в умовах порушеного кровообігу та лімфовідтоку.

Реакцію на АСА ставили паралельно з визначенням імунних комплексів по В. Гашковій (1978) в модифікації В. В. Желтвая (1989). Для визначення АСА антиген готували із сперми по методиці В. А. Комишева (1967). Для цього свіжодобуту сперму розводили 1:10 0.1 N розчином соляної кислоти і екстрагували на протязі 10 днів при температурі 4 градусів С. Кислий екстракт центрифугували при 1000 обертах і надосадкову рідину зливали в стерильний посуд (строк зберігання при T+ 4 C-1 рік). Робочий розчин антигену готували методом розведення кислого екстракту спермального антигену однаковою кількістю 0.1 нормального розчину NaOH до рН 7.2. В стерильних умовах цей маточний розчин зберігається 10 днів. Для виготовлення робочого розчину маточний розчин розводили боратним буфером 1:2.1:4 і т. д. в реакції по В. Гашковій (1978) та визначали максимальний титр антигена. Робочим титром являється розведення вдвічі більше максимального. Наприклад, якщо максимальний титр 1:64, то робочий титр-1:32.

Поскільки ми модифікували методику В. Гашкової (1978) визначення імунних комплексів та антиспермальних антитіл, то детально описуємо її.

Для проведення АСА та ІК нами використовувалися такі реактиви: 1. Боратний буфер 0,1 нормальний з рН 8.4 (борної кислоти 4.1 г, бури 4.2, дистильованої води до 1000 мл/-розчин №1. 2. Розчин поліетиленгликоля (ПЕГ) 6000 10 г ПЕГ на 240 мл боратного буферу розчин №2. 3. Спермальний антиген в робочому титрі-розчин №3.

В підготовлені три пробірки наливали по 2 мл відповідних розчинів (в першу-розчин №1, другу-розчин №2, в третю антиген в робочому титрі-розчин №3). В кожен з пробірок доливаємо по 0.2 мл досліджуваної сироватки, взбовтуємо та інкубуємо 60 хвилин при T-22 г. С. Розчини калориметрували на ФЕКу КФК-2 при зеленому світофільтрі. Екстинція першої пробірки приймалась за функцію печін- кової клітини (ФПК) в умовних одиницях (ум. од.). Від показника екстинції першої пробірки віднімали екстинцію другої (дослід з ПЕГ), а різницю приймали за ЦІК в умовних одиницях. Показник третьої пробірки по ФЕКу записувався нами в умовних одиницях. Після того пробірки залишали на 18-20 годин в холодильнику T+4 г. С і знову калориметрували. Різниця між показниками екстинції першої та другої пробірок вказувала на величину ХІК (холодові імунні комплекси), а різниця між ФПК та ХІК- величина сироваткового супресорного фактору. Нами визначався коефіцієнт відношення ЦІК та ССФ, який є показником напруги імунітету. Останній відповідає відношенню Т-хелперів та Т-супресорів в субпопуляції Т-лімфоцитів. Знімали показник третьої пробірки і записували в умовних одиницях. Різницю між показниками обох третіх пробірок (при T-4 г. С, T-22 г. С/ приймали за АСА.

Встановлено, що у тварин при односторонньому експериментальному крипторхізмі відбувається збільшення циркулюючих імунних комплексів в крові (22.1 ± 1.58 , при нормі 1.58 ± 1.5 ум. од. , ($P < 0.01$), зменшення ССФ (4.7 ± 0.89 , при нормі 9.1 ± 0.79 ум. од. , $P < 0.01$), утворення АСА (4.7 ± 0.55 , при нормі 1.9 ± 0.29 ум. од. , ($P < 0.001$).

Порушення кровообігу та лімфовідтоку в дистопному сім'янику після орхіпексії приводить до більш виражених змін в імунному статусі тварин. Спостерігалось збільшення в крові ЦІК до 29.3 ± 1.75 та $27.80.59$ ум. од. та 4.7 ± 0.47 ($P < 0.01$, $P_1 < 0.01-0.05$), а рівень АСА досягав 8.1 ± 0.85 ум. од. ($P < 0.01$, $P_1 < 0.01-0.05$). Таким чином, у тварин при односторонньому крипторхізмі

порушення імуногенезу проходить по 2 типу негайної гіперчутливості, а у тварин після орхіпексії в умовах порушеного кровообігу та лімфовідтоку спостерігається третій тип негайної гіперчутливості.

Застосування гелій-неонового лазера та хоріонічного гонадотропіна при крипторхізмі в післяопераційному періоді сприяє стабілізації аутоімунних реакцій організму тварин (ССФ- 18.3 ± 1.38 ум. од. , ЦІК- 18.4 ± 2.45 ум. од. , ХІК - 36.4 ± 2.09 ум. од. , АСА- 1.2 ± 0.42 ум. од. (P>0.05). При цьому не знижується реактивність організму, гальмується в тій чи іншій мірі розвиток аутоімунних процесів в дистопному та контрлатеральному сім'яниках.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гашкова В. , Матл И. , Кашлик И. Определение иммунных комплексов. Чехословакия, Чехословацкая медицина. 1978. Т.2, №2, С. 117-122.
2. Желтвай В. В. , Туряница С. М. , Гела А. А. К изучению иммунных комплексов при вирусном гепатите. В. кн. : Санаторно-курортное лечение больных заболеванием гепато-биллиарной системы. Моршин.- 1989.- С. 72-74.
3. Жуковский М. А. , Кураева Т. А. О тактике ведения больных крипторхизмом. Педиатрия.- 1980.- №10.- С. 63-65.
4. Каган С. А. , Шубик В. М. , Бреслер В. М. , Сираздинов В. Г. , Новиков И. Ф. О патогенезе некоторых форм мужского бесплодия // Урология.- 1978.- №3.- С. 43-48.
5. Кирпатовский И. Д. Очерки по хирургической андрологии. Москва.- 1989.- С. 125.
6. Кирпатовский И. Д. , Васильев В. И. , Приходько И. В. Влияние длительного перегревания яичка при крипторхизме на его инкреторную и репродуктивную функции. В кн. : Физиологические и клинические проблемы адаптации человека и животных к гипертермии, гипоксии, гиподинамии. М.- 1975, С.82-85.
7. Комышев В. А. Методы выделения антигенов, основанные на экстракции и фракционированном осаждении. В кн. : Лабораторные методы исследования в неинфекционной иммунологии. Под ред. О. Е. Вязовой .-М.: Медицина.- 1967.- С. 272-299.
8. Куц Н. Л. , Грона В. Н. , Орлов Н. Е. Непосредственные и отдаленные результаты оперативного лечения крипторхизма //Клиническая хирургия.- 1981.- №8.- С. 61-63.
9. Куклина М. А. , Миروهова И. И. , Чуваков Г. И. Изучение эякулята больных крипторхизмом // Лаб. дело.- 1981.- №5.- С. 271-274.
10. Николовски Н. , Цветков Д. , Попов А. , Друмчева М. Иммунологические исследования при крипторхизме, сопровождающемся инфертильностью // Урология и нефрология.- 1990.- №4.- С. 48-50.
11. Подрабинек Т. Р. Аутоиммунные реакции при развитии экспериментального крипторхизма у крыс. В кн. :Иммунология репродукции. Труды 5 международного симпозиума, г. Варна, Болгария.- 1982.- С. 106-108.
12. Brenda G. , Tamai A. , Xansa D. , Gherardi L. , Silvestre P. , Citton P. , Monfreda G. Criptorchidismo e fertilita. Revisione di 32 casi sottoposti a orchidopessi// Urologia.- 1987, 54.- №6.- P. 723-727.
13. Mengel V. Klinik und problematik des mal descensus testis Kinderaist.- 1980, 11.- P. 334-340.
14. Scheiber K. , Oefner P. , Bartsch G. Criptorchidism and fertility Wld // J. Urol. Teaz.4.- №2.- P. 100-104.
15. Fallon B. , Kennedy T. Long term follow up of fertility.-1985, 25. №5.-P. 502-504.

SUMMARY

ON STUDY OF ANTISPERMAL ANTIBODIES AND IMMUNECOMPLEXES IN CRYPTORCHIDISM

V. Zheltway, A. Simodeiko, N. Aleksandrovich

In experiment it has been determined that the broken blood circulation and outflow of lymph in undescended testis led to the increase in blood of CIC, ASA and decrease of SSF. Use of helium-neon lazer and chorionic gonadotropin during the postoperational period promotes the stabilization of autoimmune reactions in organism of animals.

2. Покращення: зменшення болі і тривалості ранкової скованості, зменшення суглобного