

Морфофункциональные характеристики криоконсервированной органотипической культуры семенников новорожденных поросят после ксенотрансплантации

А.В. ПАХОМОВ¹, Г.А. БОЖОК¹, Е.И. ЛЕГАЧ¹, Н.Ф. ГУБИНА¹, Б.И. МАРКОВ², Т.П. БОНДАРЕНКО¹

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, г. Харьков

Трансплантация клеток и тканей является на сегодняшний день одним из альтернативных методов лечения патологий, связанных с нарушением функционирования различных систем организма. Вместе с тем развитие и внедрение данного метода побуждает к разработке способов хранения трансплантационного материала, что дает возможность проводить тестирование образцов на предмет тканевой совместимости и микробиологической контаминации. Развитие современной криобиологии способствует решению значительной части этих проблем.

В представленной работе было проведено исследование морфологических и функциональных характеристик ксенотрансплантатов нативных и криоконсервированных органотипических культур семенников новорожденных поросят (ОКСНП).

Донорами эндокринного материала явились новорожденные поросята, реципиентами 3-х месячные беспородные крысы самцы. Органотипическое культивирование фрагментов тестикулярной ткани осуществляли на среде RPMI с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота. Ксенотрансплантация 30-35 мг ОКСНП под почечную капсулу проводилась непосредственно после орхиэктомии. Операцию осуществляли под комбинированным наркозом (кетамин – 2,5 мг, ксилазин – 1 мг/100 г). Криоконсервировали ОКСНП с использованием 10% димексида в качестве криопротектора и скорости замораживания 85-100°C/мин. В ходе работы были изучены следующие группы животных: 1) контрольные животные, 2) орхиэктомированные животные, 3) животные с трансплантацией нативной ОКСНП, 4) животные с трансплантацией криоконсервированной ОКСНП, 5) животные, с трансплантацией ОКСНП, которая после размораживания была рекультивирована на протяжении 2 суток. Концентрацию тестостерона в сыворотке крови измеряли радиоиммунологическим методом на 29-30 день после ксенотрансплантации. Почки с трансплантатом фиксировали в 10% формальдегиде и после соответствующей обработки заливали в парафин. Парафиновые

срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Уровень тестостерона в крови орхиэктомированных животных составлял $0,20 \pm 0,06$ нМоль/л, что достоверно и значительно отличалось от контрольных значений ($5,98 \pm 2,12$ нМоль/л). Во всех образцах сыворотки, полученной от животных с трансплантатами, определялся низкий уровень тестостерона, что было связано с небольшим количеством трансплантированной ткани, которая даже в условиях возможной гиперстимуляции не могла обеспечить должным образом потребности организма. Вместе с тем было обнаружено достоверное ($P < 0,05$) повышение уровня тестостерона у крыс с трансплантатами нативной и криоконсервированной ОКСНП ($0,67 \pm 0,18$ и $0,41 \pm 0,05$ нМоль/л соответственно). Трансплантат криоконсервированной и рекультивированной ОКСНП не был успешен в продукции тестостерона ($0,23 \pm 0,04$ нМоль/л).

Характерной особенностью гистологических препаратов всех ксенографтов является то, что на 29-30 день после трансплантации не сохраняется структура неонатальных семенных канальцев, присущая нативной тестикулярной ткани новорожденного поросенка. На препаратах нативной ОКСНП наблюдается массивная воспалительная инфильтрация, особенно на границе трансплантата и почечной паренхимы. В центре фрагментов наблюдается некроз и замещение тестикулярной ткани соединительнотканью элементами, которое характерно для органотипической культуры. Ксенотрансплантаты криоконсервированной и рекультивированной ОКСНП практически не были инфильтрованы лейкоцитами, сохранялись элементы интерстициальной ткани. В образцах трансплантатов рекультивированной ОКСНП наблюдались обширные зоны замещения соединительнотканью.

Сопоставляя данные измерения тестостерона и гистологического анализа, можно утверждать, что на 29-30 день трансплантат нативной ОКСНП находится в стадии продуктивного воспаления, которое в конечном итоге должно завершиться формированием рубца и падением уровня гормона в связи с деструкцией гормонпродуцирующих элементов. В то же время, образцы криоконсер-

Адрес для корреспонденции: Пахомов А.В., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-30-07, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

вированной ОКСНП, хотя и не сохраняют канальцевые структуры, остаются богатыми интерстициальными элементами, продуцирующими тестостерон. Рекультивирование после криоконсервирования угнетающе влияет на ОКСНП, что проявляется в снижении гормональной секреции и практически полном замещении канальцевых и интерстициальных элементов соединительной тканью.