

Влияние димексида и криоконсервирования на эффективность ксенотрансплантации надпочечников

Н.М. Алабедалькарим, В.Д. Устиченко, Г.В. Дудецкая, Т.П. Бондаренко
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Односторонняя адреналэктомия является одним из способов коррекции гиперкортицизма (надпочечниковый синдром Иценко-Кушинга), а также большинства поражений надпочечников, требующих хирургического лечения. При этом уровень глюкокортикоидов и минералокортикоидов поддерживается оставшейся надпочечниковой железой. Это может привести к “перенапряжению” адренокортикальной ткани и, в конечном счете, к гиперплазии гормонпродуцирующих клеток. Трансплантация ксеногенного или аллогенного материала может быть использована для предотвращения развития гипокортицизма, особенно в ранние послеоперационные сроки. Использование криоконсервирования при подготовке донорского материала рассматривается как способ формирования иммунологической толерантности и увеличения продолжительности функционирования трансплантата. Применение димексида как криопротектора, по данным некоторых авторов (Wingenfeld С., 2002), способствует ангиогенезу, а, следовательно, улучшению трофики трансплантата.

В связи с этим целью нашей работы было сравнить влияние криоконсервирования и собственно предобработки фрагментов надпочечников новорожденных поросят (Фр) в растворах димексида на их способность компенсировать состояние гипокортицизма у мышей при трансплантации.

Материалы и методы

Объектом исследования были мышцы линии С57В1/6, которых подвергали односторонней адреналэктомии (ОАЭ) под кетамин-ксилазиновой анестезией. Фр криоконсервировали с использованием димексида (Гурина Т.М., 2005). Трансплантацию 4-5 Фр под почечную капсулу производили немедленно после удаления надпочечника. На 29 день после адреналэктомии животные были умерщвлены и образцы плазмы крови использовали для измерения уровня глюкокортикоидов. Для оценки иммунологического состояния реципиентов была определена адгезивная активность перитонеальных макрофагов (ААПМ).

Адрес для корреспонденции: Алабедалькарим Н.М., 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

Результаты и обсуждение

Измерение концентрации гормонов в плазме крови проводили радиоиммунологическим методом с использованием стандартного набора РИА-КОРТИЗОЛ-СТ, перекрестная реакция которого с кортикостероном составляет 0,6%. Поскольку кортикостерон является основным глюкокортикоидом, продуцируемым кортикальными клетками надпочечных желез мышей, то наличие достоверной “добавки” кортизола в крови мышей является признаком функциональной активности ксенотрансплантата. Для проверки специфичности используемого метода была измерена концентрация кортизола в крови контрольных мышей и ОАЭ животных. Полученные значения не достигали 10 нМоль/л – минимальной, достоверно определяемой тест набором концентрации кортизола. Все выше изложенное свидетельствует о возможности применения РИА-КОРТИЗОЛ-СТ в нашей экспериментальной модели. При трансплантации нативных Фр ОАЭ животным уровень кортизола повышался и достигал $22,58 \pm 5,61$ нМоль/л. 10 минутная преинкубация Фр в растворе 10% димексида приводила к достоверному увеличению содержания кортизола до $27,35 \pm 3,85$ нМоль/л по сравнению с контрольными и ОАЭ животными. Однако, ААПМ возрастала до 43,82% (при контроле 20%), что свидетельствует об остром отторжении графта. При трансплантации культивированных Фр уровень глюкокортикоидов у ОАЭ реципиентов составлял $14,83 \pm 5,37$ нМоль/л. Отсутствие изменений в ААПМ и низкий уровень кортизола, близкий к порогу чувствительности тест набора, являются признаком деструкции трансплантата вследствие отторжения. При трансплантации данной культуры двусторонне адреналэктомированным животным (АЭ) концентрация кортизола варьировала в пределах экспериментальной группы. Однако, сам факт выживаемости мышей на протяжении 29 дней после тотальной адреналэктомии свидетельствует о компенсации надпочечниковой недостаточности, так как средняя продолжительность жизни АЭ мышей без трансплантации составляла 7-10 дней. Показатель ААПМ у АЭ животных, которым были трансплантаны культивированные Фр, достигал наиболее высоких значений и составлял 62,22%. Очевидно, что ожидаемый эффект иммуномодуляции транс-

плантата посредством культивирования не был достигнут. Более продолжительное функционирование культивированного ксеноматериала у АЭ мышей, по-видимому, обусловлено некоторым подавлением клеточного иммунитета в связи с исходно низким уровнем глюкокортикоидов (Dhabhar F.S., 1999). В настоящее время по-прежнему обсуждается возможность понижения иммуногенности трансплантата путем криоконсервирования со скоростями, превышающими 70°С/мин (Taylor M.J., 1987). Мы установили, что трансплантация криоконсервированных Фр приводила к достоверному повышению концентрации кортизола в плазме крови ОАЭ и АЭ животных и достигала 22 нМоль/л. При этом ААПМ достоверно не отличалась от контроля, составляя 15-23%.

Следовательно, хотя по показателям гормональной компенсации криоконсервированные трансплантаты уступают материалу, только преобработанному димексидом, однако обладают значительными преимуществами с иммунологической точки зрения. Кроме того, незначительное понижение секреции гормонов криографтами может быть связано с уменьшением количества гормонпродуцирующих клеток при замораживании-отогреве.

Выводы

Таким образом, наши данные показывают, что как криоконсервирование, так и собственно предобработка димексидом, оказывают позитивное влияние на “судьбу” ксенотрансплантата, но механизмы реализации этих эффектов различны. Мы предполагаем, что они могут быть обусловлены как улучшением трофики трансплантата в случае обработки димексидом, так и селективной модификацией резидентных антигенпредставляющих клеток трансплантата при замораживании с высокими скоростями.