

Функциональная активность криоконсервированной органотипической культуры щитовидной железы при ксенотрансплантации

Г.А. Божок¹, Е.И. ЛЕГАЧ¹, Н.М. АЛАБЕДАЛЬКАРИМ¹, С.Б. БИЛЯВСКАЯ², Н.П. БОРОДИНА¹, Т.П. БОНДАРЕНКО¹

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

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

Криоконсервированию клеток/ткани щитовидной железы уделялось немало внимания на протяжении всего периода развития криобиологии, прежде всего как методу, дающему возможность сохранения данного биологического материала для трансплантации. Были разработаны способы криоконсервирования с применением различных криопротекторов (глицерина, поливинилпирролидона, димексида) и замораживания, выполняемого в один либо два этапа. Наиболее успешные способы характеризовались сохранением структуры и функций щитовидной железы после размораживания, включая захват и органификацию иодида, синтез белков, секрецию Т3 и Т4. Как правило, скорость замораживания, использованная в этих случаях составляла 1-3°C/мин, а в качестве криопротектора был выбран димексид.

Однако трансплантология ставит задачи, касающиеся не только хранения ткани железы, но и ее посттрансплантационного приживания. Криоконсервирование, как было показано в [1], может явиться также и методом, уменьшающим иммунногенность трансплантата за счет селективного удаления антигенпредставляющих клеток и, таким образом, увеличивающим срок функционирования последнего. Основным требованием для достижения подобного эффекта является увеличение скорости замораживания до 45°C/мин и выше. При этом основной криобиологической проблемой становится сохранение структурно-функциональной целостности замороженной при таких скоростях ткани.

Целью данного исследования явилось изучение функциональной активности криоконсервированной при скорости замораживания 85-100°C/мин органотипической культуры щитовидной железы (ОКЩЖ) при ксенотрансплантации экспериментальным животным с послеоперационным гипотиреозом.

Материалы и методы

Щитовидные железы новорожденных поросят измельчали на фрагменты размером 0,5-1 мм³.

Адрес для корреспонденции: Божок Г.А., 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

Культивировали при 37°C на среде RPMI, обогащенной 10%-й сывороткой КРС, йодидом калия (75 мкг/л) и антибиотиками.

Полученную ОКЩЖ инкубировали с 7% димексидом при 22°C в течение 30 минут, далее замораживали над зеркалом жидкого азота со скоростью 85-100°C/мин на протяжении 3 мин, после чего погружали в жидкий азот. Деконсервацию образцов ОКЩЖ перед рекультивированием и трансплантацией осуществляли на водяной бане при 40-42°C. Некоторые образцы были рекультивированы после деконсервации по методу [2].

Тиреоидэктомию крысам-самкам 3 месячного возраста выполняли по методу [3]. Трансплантацию ОКЩЖ в дозе 30-35 мг проводили под почечную капсулу непосредственно после тиреоидэктомии. На 30 сутки после трансплантации в плазме крови животных определяли уровень Т4 и ТТГ радиоиммунологическим методом.

Были использованы следующие группы экспериментальных животных: 1) контроль; 2) тиреоидэктомия; 3) ксенотрансплантация нативных фрагментов ЩЖ; 4) ксенотрансплантация ОКЩЖ; 5) ксенотрансплантация криоконсервированной ОКЩЖ; 6) ксенотрансплантация криоконсервированной и рекультивированной ОКЩЖ.

Результаты и обсуждение

Уровень тироксина плазмы крови у контрольных животных составлял 61,71±6,1 мМоль/л, у тиреоидэктомированных – 18,26 мМоль/л. После трансплантации нативных фрагментов щитовидной железы новорожденных поросят концентрация Т4 возрастала до 27,81±2,33 мМоль/л (P<0,05). Культивирование ткани щитовидной железы не приводило к значимым различиям в секреторной активности по сравнению с нативными образцами (29,03±5,48), в то время, как криоконсервирование в вышеописанном режиме угнетало продукцию Т4 ксенографтом ОКЩЖ (17,05±0,62). Двухсуточное рекультивирование ОКЩЖ после деконсервации приводило к восстановлению гормональной активности трансплантата (29,52±5,83).

Изменение уровня ТТГ во всех случаях наблюдалось по принципу обратной зависимости

от уровня тироксина. Это свидетельствовало о функционировании трансплантатов в пределах гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси.

Выводы

Ксенотрансплантация нативных фрагментов и органотипической культуры щитовидной железы новорожденных поросят крысам с послеоперационным гипотиреозом приводит к достоверному увеличению уровня Т4 в плазме крови.

Ксенотрансплантация криоконсервированной при скорости замораживания 85-100°С/мин ОКЦЖ не приводит к возрастанию уровня тироксина в плазме крови реципиентов с послеоперационным гипотиреозом.

Ксенотрансплантация криоконсервированной и рекультивированной в течение 2 суток ОКЦЖ позволяет достичь уровня гормональной секреции, характерной для нативных фрагментов железы и незамороженных образцов культуры. Таким образом, при использовании вышеописанного способа замораживания рекультивирование является необходимым этапом подготовки криоконсервированной ОКЦЖ для трансплантации.

Литература

1. *Taylor M.J., Bank H.L., Benton M.J.* Selective killing of leucocytes by freezing: potential for reducing the immunogenicity of pancreatic islets // *Diabetes Res.* – 1987. – Vol. 5. – P. 99-103.
2. *Легач Е.И.* Ретроградный способ тиреоидэктомии крыс как адекватная модель гипотиреоза // *Трансплантология.* – 2005. – Т. 8, N2. – С.92-94.
3. *Патент №4845 України МПК⁷ №12N5/08 А61К35/55* Спосіб підготовки криоконсервованої органотипової культури надниркової залози для трансплантації / Н.М. Алабедалькарім, Г.А. Божок, Є.І. Легач, Т.П. Бондаренко Публ. 15.02.05 Бюл. №2, 2005. – С. 1.25