



УДК 616.447-008.64-089.87-092.9:579.233:612.392.63

© 2010

І. П. Пастер

Порівняльна оцінка ефективності ало- і ксенотрансплантації мікроінкапсульованої тканини прищитоподібної залози щурам з експериментальним гіпаратиреозом

(Представлено членом-кореспондентом НАН України М. Д. Троньком)

*Мікроінкапсульовані тканини прищитоподібної залози як щура, так і людини зберігають високу функціональну активність в умовах *in vivo* і здатні чинити виразний позитивний вплив на рівні загального та вільного кальцію у щурів з експериментальним гіпаратиреозом, що свідчить про перспективність їх застосування як ало- і ксенотрансплантатів для компенсації гіпофункціонального стану паратиреоїдної системи.*

Трансплантація як метод лікування зіткнулась сьогодні з великою проблемою: недостатньою кількістю донорських органів і тканин [1–3]. Багато дослідників намагаються вирішити це питання, вважаючи, що ксенотрансплантація (пересадка органів і тканин від тварин людині) у комбінації із сучасною імуносупресивною терапією є цілком реальним виходом з цього становища. Однак застосування імуносупресивної терапії протягом тривалого часу може призводити до таких серйозних наслідків, як зростання частоти інфекційних захворювань та злоякісних новоутворень.

На сьогодні найперспективнішим методом запобігання реакції відторгнення і продовження терміну функціонування ало- або ксенотрансплантату прищитоподібної залози (ПЩЗ) в організмі реципієнта із сталим гіпаратиреозом (ГПТ) без необхідності призначення імуносупресивної терапії є мікроінкапсуляція ендокринної тканини в біополімерні капсули з напівпроникними мембранами, які проникні для гормонів, поживних речовин і кисню, але не проникні для компонентів імунної системи [4]. Для виготовлення мікрокапсул найчастіше застосовують біополімер альгінат, який отримують з морських водоростей або вирощують в біореакторі з використанням бактерій [4].

Крім основного призначення, альгінатні мікрокапсули служать також перешкодою можливій передачі патогенних агентів, зокрема ендегенних ретровірусів при ксенотрансплан-

тації мікроінкапсульованих неонатальних острівців підшлункової залози поросят пацієнтам з цукровим діабетом першого типу [5]. Мікрокапсули забезпечують ізоляцію трансплантованих ембріональних стовбурових клітин, як потенційного джерела формування тератом, від організму-реципієнта [6]. Не виключена також перспектива трансплантації в мікрокапсулах тканин аденом ендокринних залоз, оскільки зберігається технічна можливість повного їх видалення у випадку злоякісного переродження.

Метою роботи було провести порівняльну оцінку ефективності ало- і ксенотрансплантації мікроінкапсульованої тканини прищитоподібної залози (МІТПЩЗ) щурам з експериментальним гіпаратиреозом.

Для проведення експериментальних досліджень ПЩЗ щурів лінії Вістар масою тіла 100–150 г видаляли в асептичних умовах під ефірним наркозом і під контролем стереомікроскопа МБС-1 при 8-кратному збільшенні, а тканину ПЩЗ людини отримували в хірургічному відділі клініки Державної установи “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України”. Паратиреоїдну тканину промивали декілька разів стерильним 0,9%-м розчином хлориду натрію з антибіотиками (з розрахунку 100 Од бензилпеніциліну натрієвої солі та 100 мкг стрептоміцину сульфату на 1 мл розчину), очищали від жирової та сполучної тканин, після чого сікли на шматочки розміром до 1 мм³ та знову промивали кілька разів стерильним 0,9%-м розчином хлориду натрію з антибіотиками. Шматочки тканини ПЩЗ людини переносили в 1%-й розчин альгінату (“Fluka”, Норвегія) і здійснювали мікроінкапсуляцію тканини ПЩЗ за стандартним методом [7].

Для створення моделі експериментального ГПТ у щурів-самців масою тіла 100–150 г, які утримувалися в звичайних умовах віварію на стандартному раціоні харчування, в асептичних умовах під ефірним наркозом і під контролем стереомікроскопа МБС-1 при 8-кратному збільшенні видаляли ПЩЗ. Трансплантацію МІТПЩЗ людини в 2 мл стерильного 0,9%-го розчину хлориду натрію проводили тваринам під ефірним наркозом в підшкірну жирову основу черевної стінки або внутрішньочеревно.

На 7-му, 14-ту і 28-му добу після ало- і ксенотрансплантації МІТПЩЗ у щурів відбирали аліквоти сироватки крові для кількісного визначення загального кальцію (ЗК) та білка відповідно спектрофотометричним методом з використанням метилтимолового синього на фотометрі “BTS-330” (“Biosystems S. A.”, Іспанія) і за допомогою біуретової реакції; розрахунок вільного кальцію (ВК) за результатами визначення ЗК і білка проводили згідно із загальноприйнятою формулою. На всіх етапах мікроінкапсуляції та в усі строки після трансплантації паратиреоїдної тканини проводили світломікроскопічний контроль за допомогою мікроскопа “Біолам” (“ЛОМО”, Росія).

До початку дослідження було отримано позитивне рішення Комісії з етики Державної установи “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України”, а також інформована згода від кожного пацієнта. Усі маніпуляції з тваринами виконували відповідно до положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985) і національних норм з біоетики (I Національний конгрес з біоетики; Київ, 2001).

Обробку даних здійснювали стандартними методами варіаційної статистики із застосуванням *t*-критерію Стьюдента.

Результати функціональних досліджень кальцієвого гомеостазу показали адекватність запропонованої моделі експериментального ГПТ. Так, рівень ЗК і ВК у сироватці крові щурів вірогідно знижувався (порівняно з контролем, який було прийнято за 100,0%) після тотальної паратиреоїдектомії та становив відповідно 49,1–57,6 і 54,0–66,3% (табл. 1 і 2).

Таблиця 1. Вплив алотрансплантації мікроінкапсульованої тканини прищитоподібної залози щура на рівень загального та вільного кальцію в сироватці крові тварин з експериментальним гіпаратиреозом

Група	Загальний кальцій, ммоль/л	Вільний кальцій, ммоль/л
Контроль	2,12 ± 0,02(3)	0,95 ± 0,02(3)
Паратиреоїдектомія	1,22 ± 0,23(5)*	0,63 ± 0,14(5)**
Паратиреоїдектомія і трансплантація		
7-ма доба	1,65 ± 0,13(6)	0,88 ± 0,06(6)
14-та доба	1,78 ± 0,14(5)	0,88 ± 0,07(5)
28-ма доба	2,22 ± 0,22(2)***	1,14 ± 0,10(2)***

Примітка. Тут і в табл. 2 у дужках вказано кількість спостережень. * $P < 0,01$ порівняно з контролем. ** $P < 0,05$ порівняно з контролем. *** $P < 0,05$ порівняно з паратиреоїдектомією.

Таблиця 2. Вплив ксенотрансплантації мікроінкапсульованої тканини прищитоподібної залози людини на рівень загального та вільного кальцію в сироватці крові щурів з експериментальним гіпаратиреозом

Група	Загальний кальцій, ммоль/л	Вільний кальцій, ммоль/л
Контроль	2,28 ± 0,05(7)	1,11 ± 0,03(7)
Паратиреоїдектомія	1,12 ± 0,13(4)*	0,60 ± 0,04(4)*
Паратиреоїдектомія і трансплантація		
7-ма доба	1,33 ± 0,10(4)	0,67 ± 0,06(4)
14-та доба	1,65 ± 0,18(7)***	0,93 ± 0,06(7)**
28-ма доба	2,10 ± 0,29(3)***	1,02 ± 0,14(3)***

* $P < 0,001$ порівняно з контролем. ** $P < 0,01$ порівняно з паратиреоїдектомією. *** $P < 0,05$ порівняно з паратиреоїдектомією.

Після алотрансплантації МІТПЩЗ тиреоїдектомованим щурам рівень ЗК підвищувався і через 7, 14 і 28 дів після підсадки становив відповідно 77,8, 84,0 і 104,7% порівняно з контролем (див. табл. 1). Більш виразна динаміка змін була характерна для рівня ВК: через 7 дів після підсадки цей показник становив 92,6%, через 14 дів — 92,6% і через 28 дів — 120,0%.

На відміну від алотрансплантації при ксенотрансплантації МІТПЩЗ людини тиреоїдектомованим щурам повної нормалізації рівня ЗК і ВК не відбувалося. Так, рівень ЗК через 7, 14 і 28 дів після підсадки становив відповідно 58,3, 72,4 і 92,1% порівняно з контролем (див. табл. 2), а рівень ВК — 60,4, 83,8 і 91,9%.

Відомо, що життєздатність і функціональна активність трансплантату залежать від антигенної спорідненості донора і реципієнта. Однакова динаміка відновлення рівня ЗК і ВК у сироватці крові щурів-реципієнтів з експериментальним ГПТ після ало- і ксенотрансплантації свідчить про ефективність методу мікроінкапсуляції тканини ПЩЗ.

Таким чином, мікроінкапсульовані тканини прищитоподібної залози як щура, так і людини зберігають високу функціональну активність в умовах *in vivo* і здатні чинити виразний позитивний вплив на рівні загального та вільного кальцію у щурів з експериментальним гіпаратиреозом. Після додаткових експериментальних досліджень трансплантація мікроінкапсульованої тканини прищитоподібної залози може бути рекомендована для терапії сталого гіпаратиреозу в клінічній практиці.

1. Rowicki W. Future of transplantation medicine // Ann. Transplant. – 2007. – 12, No 1. – P. 5–10.
2. Schuurman H. J., Pierson R. N. Progress towards clinical xenotransplantation // Front Biosci. – 2008. – 1, No 13. – P. 204–220.

3. Weiss M. J., Ng C. Y., Madsen J. C. Tolerance, xenotransplantation: future therapies // Surg. Clin. North. Am. – 2006. – **86**, No 5. – P. 1277–1296.
4. Zimmermann U., Mimiets S., Zimmermann H. et al. Hydrogel-based non-autologous cell and tissue therapy // BioTechniques. – 2000. – **29**, No 3. – P. 564–581.
5. Elliott R. B., Escobar L., Garkavenko O. et al. No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of encapsulated porcine islet xenografts // Cell Transplant. – 2000. – **9**, No 6. – P. 895–901.
6. Dean S. K., Yulyana Y., Williams G. et al. Differentiation of encapsulated embryonic stem cells after transplantation // Transplantation. – 2006. – **82**, No 9. – P. 1175–1184.
7. Figliuzzi M., Plati T., Cornolti R. et al. Biocompatibility and function of microencapsulated pancreatic islets // Acta Biomaterialia. – 2006. – **2**, No 2. – P. 221–227.

Державна установа “Інститут ендокринології
та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка
АМН України”, Київ

Надійшло до редакції 13.01.2010

I. P. Pasteur

Comparative estimation of efficiency of allo- and xenotransplantation of microencapsulated parathyroid tissue to rats with experimental hypoparathyroidism

Microencapsulated parathyroid tissues of rats and human preserve the high functional activity in vivo and have a marked positive effect on the levels of total and free calcium in rats with experimental hypoparathyroidism, which suggests good prospects of their use as allo- and xenotransplants in the compensation of a hypofunctional state of the parathyroid system.