

На правах рукописи

Александров Николай Юрьевич

**Влияние "мягкой" иммуносупрессивной терапии на
ткань интактных и пересаженных семенников:
(Эксперим. исслед.)**

Специальность 14.00.41

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени к.м.н.

Москва - 2004

Александров Николай Юрьевич

**ВЛИЯНИЕ «МЯГКОЙ» ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ
НА ТКАНЬ ИНТАКТНЫХ И ПЕРЕСАЖЕННЫХ СЕМЕННИКОВ**

Ркспериментальное исследование)

**14.00.41- трансплантология и
искусственные органы**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена на кафедре оперативной хирургии и клинической анатомии с курсами андрологии и трансплантология медицинского факультета Российского университета дружбы народов

Научный руководитель

доктор медицинских наук,

Смирнова Элионора Дмитриевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,

профессор

Кирпатовский Владимир Игоревич

доктор медицинских наук,

профессор

Черняев Андрей Львович

Ведущая организация

Научно - исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов
МЗРФ

Защита состоится « _ » _____ 2004 года в _____ часов

на заседании диссертационного совета Д212.203.09

в Российском Университете дружбы народов

(117298, ГСП, ул. Коиклухо-Маклая, дб)

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы народов

(117198, ГСП, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, дб).

Автореферат разослан « _ >> _____ 2004 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Э.Д

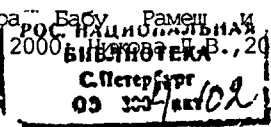
Смирнова

Актуальность проблемы

Проблема восполнения гормонального дефицита при недостаточности гормонов мужской половой - железы является сложной и на сегодняшний момент не до конца решенной. Наиболее широко с этой целью применяется заместительная гормональная терапия. Однако, наблюдаемое при длительном применении привыкание и, в некоторых случаях слабый ответ на проводимую терапию (S.Kitahara et al. 1998; A.Parker, M.Armitage 1999) принуждают к продолжению поиска оптимального лечения. Многочисленные данные о побочных действиях и осложнениях синтетических гормонов, из которых необходимо особо отметить повреждающее действие таких препаратов на печень пациентов (K.Soe et al., 1994) только подтверждают необходимость новых подходов к терапии таких видов нарушений.

В то же время, достижения микрохирургической техники- и трансплантологии позволяют проводить органную пересадку практически всех органов и тканей организма, в том числе и мужской половой железы. Трансплантация семенника на сосудистой ножке была проведена даже на таких мелких лабораторных животных как крысы (Lee с соавторами в 1972 году была разработана единственная известная на сегодняшний день модель пересадки семенника на крысах. Однако, пожалуй самым большим препятствием на пути широкого внедрения подобных методик в клиническую практику является реакция иммунного отторжения, для блокирования которой в настоящее время общепринята практика применения иммуносупрессивной терапии (Y.F.Wang et al. 1992; И.Д.Кирпатовский с соавт. 1994; A.Arce et al. 1997; и другие). Необходимо отметить, что мужская половая железа является необычайно чувствительной к введению в организм любых токсических веществ, к которым относятся и иммуносупрессанты, применяемые в дозе, достаточной для подавления иммунного ответа. Также не следует забывать и об отрицательном воздействии этих препаратов на организм реципиента.

Исходя из принципа применения иммуносупрессивных препаратов в схеме без суммации их токсического воздействия, Кирпатовским И.Д. была предложена схема, которая включает в себе три препарата - преднизолон,, хориогонический гонадотропин и гепарин, являющиеся естественными для организма и биологически активными препаратами. Данная схема применяется в клинике кафедры оперативной хирургии и клинической анатомии РУДН при пересадке органов гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и оказалась эффективной как для профилактики, так и для борьбы с кризом отторжения (Кирпатовский И. Д.,1977-2003; Васильев В.И.,1983; Чандра Бару Рамеш др. 1983,Жаныбеков Д.Е., 1991; Дендеевров Е.С., 2000; Высокотетов Р.,2002).



Однако оставалось неясным, какое действие оказывает такая комплексная иммуносупрессивная схема на экзокринную и эндокринную составляющую ткани интактного и пересаженного семенника.

Цель работы : изучить воздействие «мягкой» иммуносупрессивной терапии (гепарин, преднизолон, хорионический гонадотропин) на ткань интактных и пересаженных семенников крыс.

Задачи исследования :

1. Изучить влияние «мягкой» иммуносупрессивной терапии (гепарин, преднизолон, хорионический гонадотропин) на ткань семенников интактных крыс и фертильность.
2. Разработать модель аллотрансплантации семенника на сосудистой ноже на белых нелинейных крысах.
3. Изучить морфологические изменения в ткани семенника после его аллотрансплантации.
4. Изучить влияние «мягкой» иммуносупрессивной терапии на ткань пересаженных семенников крыс.
5. Провести сравнительную оценку морфологических изменений семенника при его пересадке с применением «мягкой» иммуносупрессивной терапии и без нее.

Научная новизна:

- Разработана новая модель аллотрансплантации семенника крысы с использованием в качестве основных питающих сосудов наружной семенной артерии и вены и артерии и вены семявыносящего протока.
- Впервые изучено влияние «мягкой» иммуносупрессивной терапии на морфологическое состояние ткани интактного и пересаженного семенника и фертильность животных.
- Показано выживание клеток сперматогенного эпителия и клеток Лейдига семенника после его аллотрансплантации с введением иммуносупрессивных препаратов по схеме «мягкой» иммуносупрессии.

Практическая значимость.

Отсутствие значительного воздействия на морфофункциональные показатели сперматогенного эпителия и сохранение фертильности дает основание предлагать использование схемы «мягкой» иммуносупрессивной терапии в клинической практике, в том числе, и при операциях органной трансплантации семенника с сохранением фертильности.

Апробация работы.

Основные разделы диссертации доложены и обсуждены на научно-практических конференциях «Новые технологии и организация медицинской помощи на современном уровне» (Москва. 2000-2003), 1-й международной медицинской выставке «Мужское здоровье и долголетие» (Москва 2003), на итоговых конференциях кафедры оперативной хирургии и

клинической анатомии с курсами андрологии и трансплантологии РУДН (Москва 1999-2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 работы, из них 1 в центральной печати.

Структура и объем диссертации.

Диссертация, включая список литературы, изложена на 171 странице и содержит введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение собственных результатов исследования в 3 главах, общее заключение, выводы, практические рекомендации, указатель литературы. Содержит 91 рисунок и 4 таблицы. Библиография включает 193 отечественных и 80 зарубежных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 220 белых нелинейных крысах средним весом 250 г. В качестве доноров при органной трансплантации семенника служили половозрелые самцы крыс. При оценке фертильности использовались половозрелые самки.

Выполнено 3 серии экспериментов и контрольных к ним наблюдений, представленные в таблице:

ОСНОВНЫЕ СЕРИИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ		КОЛИЧЕСТВО ЭКСПЕРИМЕНТОВ НА СРОК ИССЛЕДОВАНИЯ (В ДНЯХ)										КОЛИЧЕСТВО ЖИВОТНЫХ
		3	5	7	14	21	28	35	42	49	63	
1	Иммуносупрессивная терапия	-	-	5	5	5	5	5	5	5	5	40 самцов
	Биологический тест	-	-	-	-	5	-	-	5	-	5	15 самцов 75 самок
2	Алло-трансплантация семенника	5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	15 доноров 15 реципиентов
3	Алло-трансплантация семенника с иммуносупрессивной терапией	-	-	5	5	5	5	5	5	-	-	30 доноров 30 реципиентов
Интактные животные		5										5 самцов
ВСЕГО		220										

Гистологическое исследование семенников проводилось на 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 и 63 дни с начала введения иммуносупрессивных препаратов.

Биологический тест спаривания проводился на 21, 42 и 63 дни с начала введения препаратов.

Метода исследования.

1. Экспериментальный метод

1а. Аллотрансплантация семенника на артериально - венозной ножке.

Для проведения статистически достоверного количества экспериментов по аллотрансплантации семенника решено было использовать таких доступных животных, как белые нелинейные крысы. Однако, при проведении микрохирургической аллотрансплантации семенника по технологии, описанной Lee et al. в 1972 году, для крыс мы не получили стабильных результатов операции вследствие частого тромбоза и малого диаметра A.Spermatica interna у имеющих в нашем распоряжении животных. Для решения этой проблемы нами были проведены более подробные исследования кровоснабжения семенника у белых нелинейных крыс, на основании которых нами, совместно с сосудистым хирургом В. Ю. Волковым была разработана новая модель органной трансплантации семенника на артериально-венозной ножке у крыс, которая и применялась в настоящей работе. Модель была разработана во время 40 экспериментов, из них только 15 были использованы для дальнейшего изучения ткани пересаженного семенника. Из анализа в связи с тромбозом сосудистой ножки было исключено 15 экспериментов. 10 экспериментов были исключены вследствие смерти реципиентов в ближайший послеоперационный период вследствие передозировки эфирного наркоза.

Операция осуществляется с применением операционного микроскопа и микрохирургического инструментария на всех этапах оперативного вмешательства.

Операция на доноре

Первый этап - срединная лапаротомия.

Второй этап - Выведение семенника в рану. Перевязка и пересечение семявыносящего протока на уровне предстательной железы, дистальнее анастомоза с сосудами, кровоснабжающими семенные пузырьки и мочевого пузыря.

Третий этап - Выделение сосудистой ножки трансплантата. В сосудистую ножку трансплантата включается общая подвздошная артерия с частью аорты и отходящими от нее ветвями наружной семенной артерии и артерии семявыносящего протока и общая подвздошная вена с частью задней полой вены и впадающими в нее ветвями наружной семенной вены и вены семявыносящего протока. Забор трансплантата и помещение его в физраствор.

Операция на реципиенте

Первый этап - Срединная лапаротомия.

Второй этап - Мобилизация сегментов брюшной аорты и задней полой вены и подготовка их к соединению с сосудами трансплантата.

Третий этап - Формирование сосудистых анастомозов.

Венозный анастомоз. Формируется между задней поллой веной реципиента и общей подвздошной веной трансплантата по типу конец - в - бок.

Артериальный анастомоз накладывается между аортой реципиента и проксимальным концом общей подвздошной артерии с участком аорты трансплантата по типу конец - в - бок.

Четвертый этап- Ушивание раны передней брюшной стенки.

Время тепловой ишемии трансплантата составляло в среднем 30 минут.

16. Введение иммуносупрессивных препаратов

Введение препаратов экспериментальным животным проводилось согласно схеме «мягкой» иммуносупрессивной терапии, предложенной И.Д.Кирпатовским и используемой в Научно-клиническом центре андрологии и пересадки эндокринных органов, адаптированной для крыс :

Преднизалона ацетат 0,008 в сутки в мышцу, Гепарин 600 ЕД подкожно через день, чередуя с хорионическим гонадотропином - 50 ЕД в мышцу в течение 42 дней в соответствии с продолжительностью цикла сперматогенеза у крыс.

2. Клиническое наблюдение за животными. Клиническое наблюдение осуществлялось ежедневно после начала эксперимента. При этом обращали внимание на поведение животных, уровень общей активности и аппетита-, состояние послеоперационного шва.

3. Морфологические исследования

3а. Гистологическое исследование ткани семенников проводилось в лаборатории патологоанатомического отделения КБ № 31 (Заведующая отделением Л.М.Михалева). Серийные парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм, окрашивались гематоксилином и эозином.

3б.Морфометрическое исследование ткани семенника.

Морфометрическое исследование сперматогенного эпителия проводилось в лаборатории нарушений генетики репродукции ГУ Медико-генетическом научном центре РАМН (Рук. лаб. проф. Л.Ф.Курило). Ткань семенника исследовалась по методике, предложенной Ю.И. Уховым и А. Ф. Астраханцевым в 1983 году.

Оценивались 100 канальцев под световым микроскопом 40x10 (по 50 канальцев в двух срезах) в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. При проведении морфометрического исследования ткани семенника изучались следующие показатели:

- Число исследованных семенных канальцев с наличием или отсутствием в них половых клеток разных стадий развития (наличие 4, 3, 2, 1 стадий созревания или отсутствие клеток сперматогенного эпителия в просвете). Весь пласт

герминативных клеток в исследованных семенных канальцах (ИСК) делился на 4 стадии: 1-сперматогонии, 2-сперматоциты (первичные и вторичные), 3-сперматиды, 4-сперматозоиды.

- Слущивание половых клеток в исследованных семенных канальцах
- Запустевание исследованных семенных канальцев. Означает полное отсутствие как клеток сперматогенного эпителия, так и клеток Сертоли в просвете канальцев.
- Индекс сперматогенеза вычислялся по формуле:

$I = \sum a / N$ где *a*-количество слоев зародышевых клеток, обнаруженных в каждом канальце, *N*-количество подсчитанных канальцев.

- Диаметр семенных канальцев. Измерялось два размера в 20 случайно выбранных канальцах в поперечном сечении и вычислялась полученная средняя величина.
- Толщина перитубулярной мембраны. При измерениях под перитубулярной мембраной понимался комплекс из собственно перитубулярной мембраны и миоидных клеток.
- Площадь интерстициальной ткани, вычислялась с помощью окулярной измерительной сетки подсчетом точек пересечения линий сетки, совпадающей с изображением измеряемой площади и умножением числа таких точек на цену деления сетки.
- Абсолютное количество клеток Лейдига подсчитывалось в 20 межканальцевых промежутках выбранных случайным образом и находилось их среднее значение.

5. Оценка фертильности животных.

Один самец подсаживался к 5 самкам. На каждый срок спаривалось по 5 самцов. Оценивалось количество покрытых самок. (Западнюк И.П. с соавт. 1974).

6. Анатомическое исследование, выяснялись варианты кровоснабжения правого и левого семенника белых нелинейных крыс.

7.. Контрастная ангиография. При контрастировании артериальной системы в аорту, выше уровня отхождений почечных артерий по ходу кровотока инсулиновым шприцем вводилось 0,01-0,02 мл урографина. При контрастировании венозного кровотока контраст вводился в количестве 0,02-0,04 мл в заднюю полую вену на уровне трифуркации. Снимки выполнялись через 30 секунд после введения препарата.

8. Статистический метод.

Статистическая обработка данных производилась с помощью программы MINITAB STATISTICAL SOFTWARE v.4.04 © SAS. Для средних величин (средняя арифметическая \bar{M}) проводился подсчет статистической ошибки $\pm m$. Различия средних величин признавались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
ЮРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНИ СЕМЕННИКА
ПОД ВЛИЯНИЕМ «МЯГКОЙ» ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ

Перед проведением экспериментальных исследований было выполнено исследование морфометрических параметров у интактных самцов крыс:

Наличие канальцев с четырьмя клеточными стадиями в интактном контроле составило $61 \pm 1,9$; канальцев с тремя клеточными стадиями – $32,4 \pm 8,0$; канальцев с двумя клеточными стадиями – $0,6 \pm 0,4$; канальцы с одной стадией, а также отсутствие в канальце клеток сперматогенного эпителия в интактном контроле не отмечалось. Запустевания исследованных семенных канальцев в интактном контроле также не наблюдалось. Индекс сперматогенеза в интактном контроле составил $3,7 \pm 0,07$.

Абсолютное количество клеток Лейдига в интактном контроле составило в среднем $6,29 \pm 0,13$.

Количество канальцев с 4 стадиями снижается через неделю после начала введения иммуносупрессивных препаратов более чем вдвое ($32,6 \pm 5,7$) по сравнению с контролем и примерно настолько же повышается число канальцев с 3 стадиями ($67,2 \pm 14,5$), что говорит об отрицательном влиянии применяемых в схеме препаратов, прежде всего на сперматозоиды (Рис. 1).

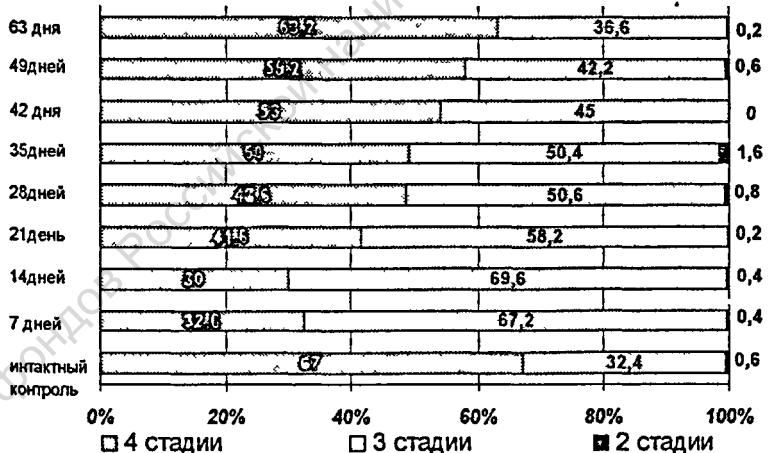


Рис. 1 Динамика соотношения исследованных, семенных канальцев с 4, 3 и 2 клеточными стадиями сперматогенного эпителия белых нелинейных крыс на разные сроки с начала применения «мягкой» иммуносупрессивной терапии.

Эта отрицательная динамика достигает максимума к 14 дню применения иммуносупрессивной схемы, а далее происходит постепенное повышение количества исследованных семенных канальцев (ИСК) с 4 стадиями на каждый срок, и к окончанию наблюдения на 63 день можно говорить о

практически полной нормализации этих показателей ($63,4 \pm 8/9$). Уровень ИСК с 2 стадиями созревания сперматогенного эпителия во время всего срока наблюдения значительно не менялся по сравнению с контролем, что говорит о щадящем воздействии применяемых препаратов на незрелые формы сперматогенного эпителия.

Индекс сперматогенеза изменялся следующим образом (Рис. 2):



Рис.2. Динамика индекса сперматогенеза при применении «мягкой» иммуносупрессивной терапии (Преднизалон, гепарин, хорионический гонадотропин).

Наблюдалось резкое снижение индекса сперматогенеза в течение первых двух недель после начала введения препаратов. Минимальный уровень индекса сперматогенеза наблюдался на 14 сутки ($3,28 \pm 0,03$), затем этот показатель постепенно увеличивался и на 63-й день наблюдения приближался к контрольному ($3,65 \pm 0,05$).

Абсолютное количество клеток Лейдига значительно не менялось, однако можно отметить, что самый низкий уровень этого показателя приходился на 28 день ($5,98 \pm 0,14$) применения иммуносупрессивной терапии и после окончания введения препаратов постепенно повышался и к 63 дню наблюдения составил $6,32 \pm 0,07$.

В результате биологического теста на фертильность подопытных самцов на 21, 42 и 63 день с начала введения иммуносупрессивных препаратов, покрытие самок составило 100%. Было получено потомство в количестве от 8 до 13 крысят от каждой самки.

Анализируя эти данные, можно сказать, что даже самое большое снижение индекса сперматогенеза (на 21 день) не приводило к снижению фертильности у крыс.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ
В ТКАНИ ПЕРЕСАЖЕННОГО СЕМЕННИКА

При гистологическом исследовании на третий день после аллотрансплантации семенника операции отмечается очаговая периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, которая постепенно сливается в сплошную к 5-7 дню. К седьмому дню в трех препаратах содержимое канальцев было представлено клеточным детритом, и только в двух обнаруживались единичные клетки Сертоли. Клетки сперматогенного эпителия отсутствовали во всех случаях, оболочка извитых канальцев была полностью или частично разрушена. Межканальцевые пространства заполнены полиморфно-ядерными лейкоцитами и лимфоцитами. На фоне массивной инфильтрации лимфоцитами единичные клетки Лейдига были обнаружены в трех препаратах.

Морфометрически, в пересаженном семеннике на 3, 5 и 7 день после трансплантации отмечались канальцы, содержащие не больше одного клеточного слоя (рис.3).

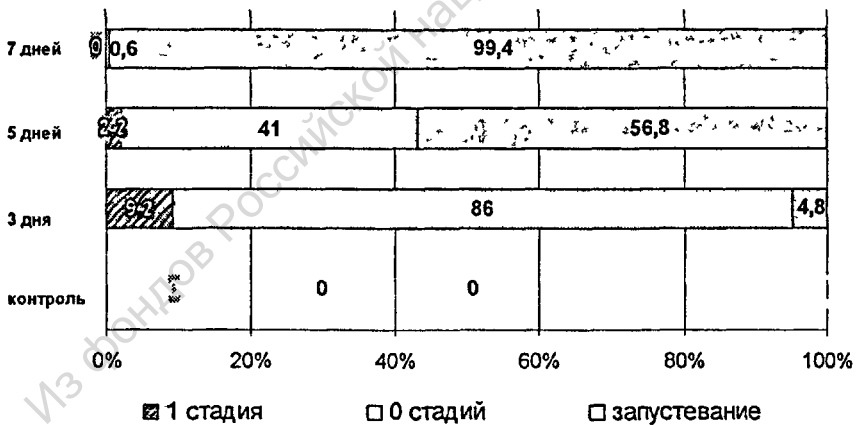


Рис.3. Динамика соотношения исследованных семенных канальцев с 1, 0 клеточными стадиями сперматогенного эпителия и запусеванием канальцев на разные сроки после аллотрансплантации семенника на артериально-венозной ножке.

Запустевание семенных канальцев, как самый тяжелый признак поражения семенника, начинало проявляться с третьего дня после трансплантации ($4,8 \pm 1,9$), к пятому дню увеличилось до ($56,8 \pm 13,3$), а к седьмому дню было максимальным и составляло $99,4 \pm 0,8$.

Индекс сперматогенеза на третий день после операции по сравнению с интактным контролем уменьшился почти в 30 раз и составил $0,11 \pm 0,06$, к пятому дню он снизился еще больше ($0,022 \pm 0,017$) и к седьмому дню был равен нулю.

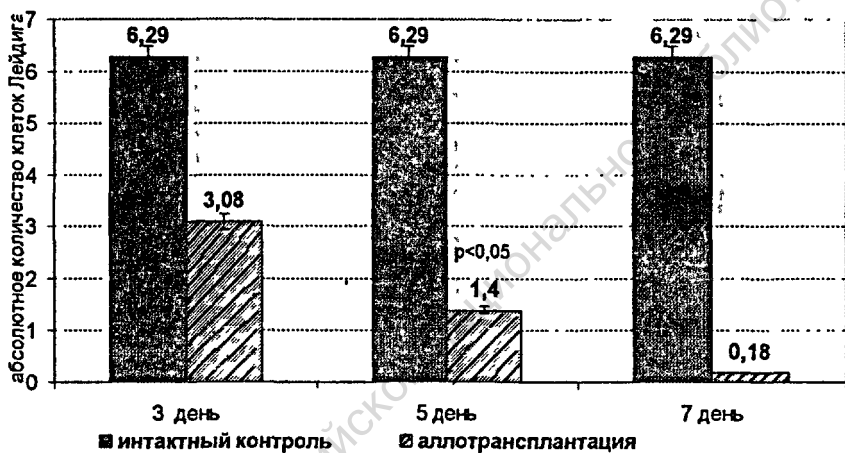


Рис.4. Динамика абсолютного количества клеток Лейдига на разные сроки после аллотрансплантации семенника на артериально-венозной ножке.

Абсолютное количество клеток Лейдига (Рис. 4) на третий день после трансплантации уменьшилось почти в два раза и составило $3,08 \pm 0,41$, на пятый день оно уменьшилось до $1,4 \pm 0,37$, а к седьмому дню наблюдалось самое низкое значение - $0,18 \pm 0,19$.

Таким образом, аллотрансплантация семенника на артериально - венозной ножке приводит к нарушению морфологического строения и гибели пересаженного органа в течение ближайших семи дней после операции.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕРЕСАЖЕННОМ СЕМЕННИКЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ «МЯГКОЙ» ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ

Наличие ИСК, содержащих в просвете клетки сперматогенного эпителия (Рис. 5) к концу первой недели после операции составляет всего $1+0,89$, затем количество таких канальцев постепенно возрастает и к 42 дню составляет уже $5\pm 2,0$. Это говорит о возможности активных регенеративных процессов со стороны сперматогенного эпителия пересаженного семенника при применении «мягкой» иммуносупрессивной терапии. Большая часть канальцев во все сроки наблюдения содержала в просвете только клетки Сертоли (0 стадий), количество таких ИСК составило от $85,8\pm 8,75$ на 7 день наблюдения до $91,6\pm 2,15$ концу наблюдения.

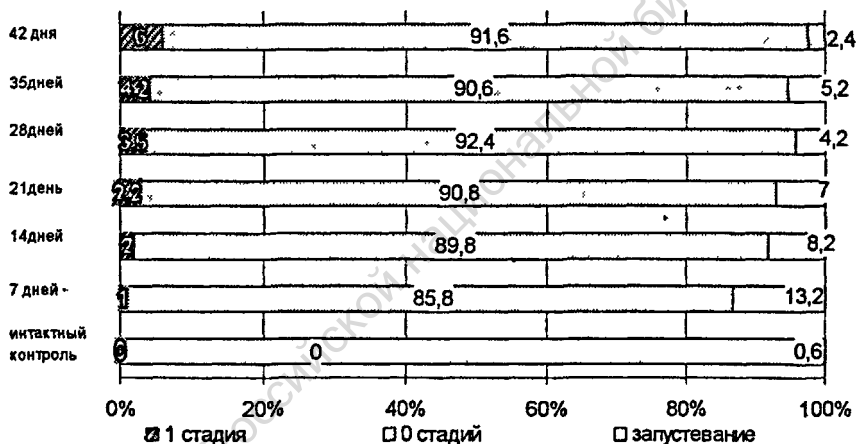


Рис.5. Динамика соотношения исследованных семенных канальцев с I стадией клеток сперматогенного эпителия, 0 стадией (только клетками Сертоли в просвете) и запусеванием ИСК после пересадки семенника на артериально-венозной ножке при применении «мягкой» иммуносупрессивной терапии.

Этот показатель, по нашему мнению, отражает потенциальную возможность последующей регенерации сперматогенного эпителия, так как без контакта с поддерживающими клетками (клетками Сертоли) функционирование клеток сперматогенного ряда невозможно.

Индекс сперматогенеза на все сроки наблюдения в данной серии был очень низким (на седьмой день был минимальным и составлял $0,01\pm 0,01$; затем постепенно повышался и к концу наблюдения составил $0,06\pm 0,02$), что было связано в первую очередь с крайне небольшим наличием ИСК, содержащих клетки сперматогенного эпителия (Рис.6).

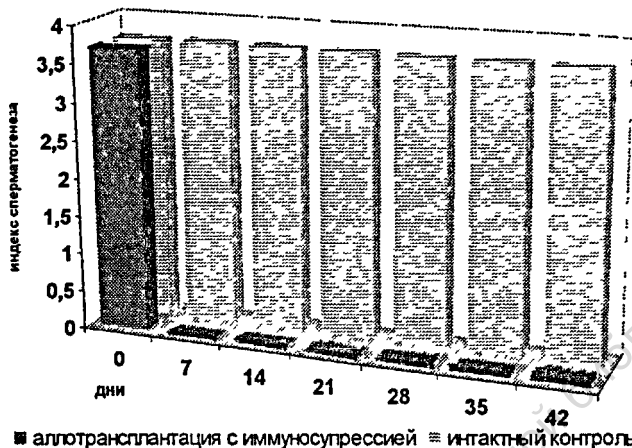


Рис.6. Динамика индекса сперматогенеза после пересадки семенника на артериально-венозной ножке при применении «мягкой» иммуносупрессивной терапии.

По сравнению с интактным контролем он был ниже примерно в 300 раз. При таких цифрах индекса -сперматогенеза (ИС), вероятная репродуктивная функция аллотрансплантатов семенника весьма проблематична.

Абсолютное количество клеток Лейдига снижалось по сравнению с интактным контролем не более, чем в два раза (Рис.7).



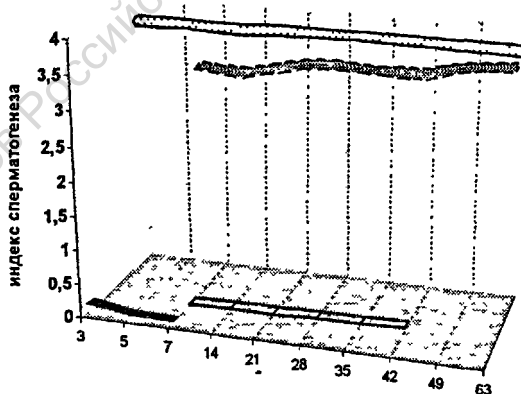
Рис.7. Динамика абсолютного количества клеток Лейдига после пересадки семенника на артериально-венозной ножке при применении «мягкой» иммуносупрессивной терапии.

По сравнению с аллотрансплантацией без иммуносупрессивного воздействия, где абсолютное количество клеток Лейдига снижалось до $0,18 \pm 0,19$, в группе животных, которым после пересадки аллогенного семенника проводили иммуносупрессивную терапию на седьмой день этот показатель составил $3,1 \pm 0,63$, затем несколько увеличился и к 42 дню составил $4,24 \pm 0,38$. Этот факт говорит о хорошей резистентности эндокринной составляющей ткани семенника к различным повреждающим факторам в процессе трансплантации/ а следовательно и о реальной возможности применения трансплантации семенника при проведении «мягкой» иммуносупрессивной терапии с гормонзамещающей целью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изолированное применение комплексной иммуносупрессивной терапии, включающей в себя гепарин, преднизолон и хорионический гонадотропин оказывает негативное воздействие в первую очередь на сперматозоиды, однако не вызывает тяжелых поражений сперматогенного эпителия, что отражается в сравнительно небольшом и проходящем снижении индекса сперматогенеза. После отмены препаратов наблюдается постепенное восстановление нормальной морфологической картины сперматогенного эпителия в течение ближайших трех недель. Результаты спаривания в данной группе не показали какого-либо отрицательного влияния применяемых в схеме препаратов на фертильность у крыс.

С точки зрения влияния препаратов, входящих в схему «мягкой» иммуносупрессии, на эндокринную часть семенника наиболее информативен индекс сперматогенеза (Рисунок 8).



■ аллотрансплантация

■ аллотрансплантация с иммуносупрессией

■ иммуносупрессивная терапия

■ интактный контроль

Рисунок 8. Динамика индекса сперматогенеза в разных, экспериментальных, группах по сравнению с интактным контролем.

По данным индекса сперматогенеза можно сказать, что наихудшие показатели наблюдались в группе животных с аллотрансплантацией семенника без применения иммуносупрессивных препаратов. Вероятнее всего это связано с многочисленными отрицательными факторами влияния пересадки на трансплантат, из которых нужно особо отметить фактор тепловой ишемии, денервацию органа и иммунное отторжение организмом реципиента. Индекс сперматогенеза в этой группе достигал нуля к седьмому дню наблюдения.

Применение «мягкой» иммуносупрессивной терапии при аллотрансплантации семенника позволяет выживать клеткам сперматогенного эпителия, правда в очень небольшом количестве, что отражается в снижении индекса сперматогенеза по сравнению с интактным контролем примерно в 300 раз. Следует однако, отметить небольшую положительную динамику индекса сперматогенеза в более поздние сроки наблюдения (на 35 и 42 дни после операции).

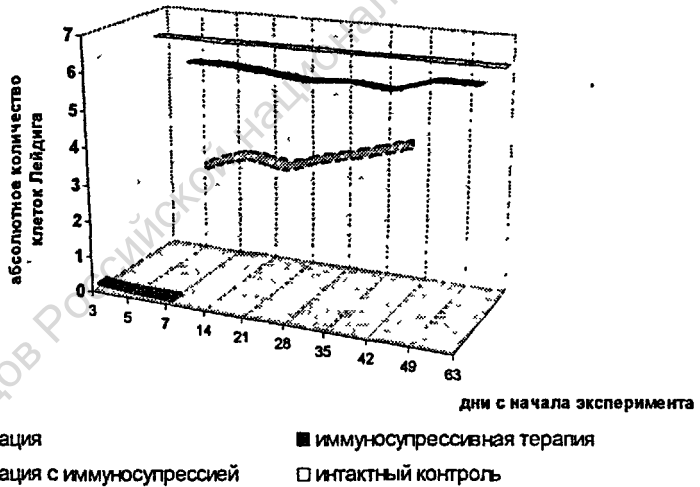


Рисунок 9. Динамика абсолютного количества клеток Лейдига в разных экспериментальных группах по сравнению с интактным контролем.

Показателем, отражающим состояние инкреторной ткани семенника является абсолютное количество клеток Лейдига (Рис.9).

Как оказалось, введение гепарина, хорионического гонадотропина и преднизалона не оказывает выраженного влияния на состояние инкреторной части семенника интактных крыс в течение всего срока наблюдения.

При аллотрансплантации семенников на артериально-венозной ножке количество клеток Лейдига прогрессивно снижается и к концу наблюдения практически не определяется.

Применение комплексной иммуносупрессивной терапии, включающей в себя гепарин, преднизолон и хорионический гонадотропин после аллотрансплантации на артериально-венозной ножке позволяет защитить инкреторную ткань семенника от иммунного отторжения. Наблюдается сохранение клеток Лейдига и уменьшение их количества по сравнению с интактным контролем только в два раза, а к концу наблюдения отмечается даже некоторая положительная динамика.

Таким образом, органная аллотрансплантация семенника на артериально-венозной ножке с применением «мягкой» иммуносупрессивной схемы позволяет сохранить структурную организацию пересаженной гонады, в первую очередь ее инкреторную часть. Воздействие этой схемы на интактный семенник не приводит к значительным структурным изменениям, и что самое главное, не отражается на фертильности животных.

ВЫВОДЫ

- 1.«Мягкая» иммуносупрессивная терапия (Гепарин, Преднизолон, Хорионический гонадотропин) не оказывает на ткань семенника интактных- белых- нелинейных крыс выраженного негативного воздействия, а происходящие изменения являются проходящими.
- 2.«Мягкая» иммуносупрессивная терапия у интактных белых нелинейных крыс вызывает только незначительное снижение индекса сперматогенеза и не влияет на фертильность.
- 3.Модель аллотрансплантации семенника на сосудистой ножке, включающей ветви наружной семенной артерии и вены и артерии и вены семявыносящего протока, позволяет осуществлять пересадку этого органа у белых нелинейных крыс.
- 4.Аплотрансплантация семенника на артериально - венозной ножке без иммуносупрессивного воздействия приводит к нарушению морфологического строения и гибели пересаженного органа в течение ближайших семи дней после операции.
- 5.Применение «мягкой» иммуносупрессивной терапии после аллотрансплантации семенника на артериально - венозной ножке позволяет сохранить клетки Лейдига трансплантата и сперматогенный эпителий в виде сперматогоний до 42 дней (срок наблюдения).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Методика аллотрансплантации семенника крысы с использованием в качестве основных питающих сосудов наружной семенной артерии и вены и артерии и вены семявыносящего протока может быть рекомендована в эксперименте для изучения аспектов, связанных с органной трансплантацией мужской половой железы.

2. Схема «мягкой» иммуносупрессивной терапии может быть рекомендована для использования в клинической практике, в том числе при операциях органной трансплантации семенника с сохранением фертильности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Модель микрохирургической органной трансплантации семенника крыс на артерио-венозной ножке. Н. Ю. Александров, В. Ю. Волков. В кн.: «Актуальные вопросы андрологии» июнь 1999 г. Материалы конференции, С. 33-34.

2. Применение комплексной иммуносупрессивной терапии при пересадке семенника в клинике и эксперименте. Н. Ю. Александров, В кн.: «Новые оперативные технологии (анатомические, экспериментальные и клинические аспекты) Москва, 27-28 июня 2002. Материалы конференции. С.210-212.

3. Влияние комплексной иммуносупрессивной терапии на ткань семенника и фертильность у крыс. Александров Н. Ю., Смирнова Э.Д. В кн.: «Мужское здоровье и долголетие», Москва, 20-21 февраля 2003 г., Материалы форума. С. 31.

4. Влияние комплексной иммуносупрессивной терапии (преднизолон, хорионический гонадотропин, гепарин) на ткань семенника и фертильность у крыс. Александров Н. Ю., Смирнова Э.Д.// Вестник трансплантологии и искусственных органов.- 2003.- №1. С.27-30.

Александров Николай Крѳевич

Влияние «мягкой» иммуносупрессивной терапии на ткань интактных и пересаженных семенников (экспериментальное исследование).

Диссертация посвящена изучению воздействия «мягкой» иммуносупрессивной терапии (гепарин, преднизолон, хорионический гонадотропин) на ткань интактных и пересаженных семенников крыс и выполнена на 220 нелинейных животных.

На основании результатов собственных исследований установлена возможность аллотрансплантации семенника крысы с использованием в качестве основных питающих сосудов наружной семенной артерии и вены, а также артерии и вены семявыносящего протока.

Установлено, что «мягкая» иммуносупрессивная терапия вызывает только незначительное временное снижение индекса сперматогенеза у интактных белых нелинейных крыс и на фертильность не влияет.

Применение «мягкой» иммуносупрессивной терапии после аллотрансплантации семенника на артериально - венозной ножке позволяет сохранить клетки Лейдига трансплантата и сперматогенный эпителий в виде сперматогоний до 42 дней (срок наблюдения).

Hick U. Alexandrov

The influence of the «Soft» immunosuppressive therapy on the intact testicular tissue and testicular tissue after allotransplantation (experimental investigation).

The aim of the work was to investigate influence of the "Soft" immunosuppressive therapy (prednisolon, horionic gonadotropin and heparin) on the intact testicular tissue and testicular tissue after allotransplantation (on 220 non-lined rat's was perfomed).

Results of the investigation shows possibility testicular allotransplantation on non-lined rat's with semenal external arteria & vien and arteria & vien of deference duct used.

The "Soft" immunosuppressive therapy don't have absence of considerable influence on morphometric proof and fertility.

Using of the "Soft" immunosuppressive therapy with testicular allotransplantation on rat's make it possible to propose transplant Leidig cell's and basic cell of spermatogonal epithelium (in 42 day of observation) safe-keeping.

№ - 2534

Из фондов Российской национальной библиотеки

Подписано в печать 9.01.04. Формат 60×84/16.
Тираж 100 экз. Усл. печ. л. 1 . Заказ 103

Типография Издательства РУДН
117923, ГСП-1, г. Москва, ул. Орджоникидзе, д. 3