

ИССЛЕДОВАНИЕ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ИНГИБИТОРОВ В ТКАНЯХ АЛЛОГРАФТОВ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Мицкевич В. Е., Спиридонов С. В.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

ГУ РНПЦ «Кардиология»,

г. Минск, Республика Беларусь

Введение. Семейство матриксных металлопротеиназ (ММПs) состоит из 20 энзимов, способных расщеплять почти все компоненты внеклеточного матрикса соединительных тканей. Активность ММПs строго контролируется и ингибируется так называемыми ингибиторами тканевых металлопротеиназ (ТИМПs). Остается невыясненным вопрос об изменении синтеза ММПs и ТИМПs в тканях аортальных аллогraftов, подвергнувшихся криосохранению что обуславливает актуальность данной работы.

Цель. Иммуногистохимическое исследование с антителами к металлопротеиназам (ММП2, ММП3 и ММП9) и их тканевым ингибиторам (ТИМП1, ТИМП2) для оценки влияния на их состояние фиксации, стерилизации, криосохранения, размораживания, длительного хранения и повторного замораживания с последующим размораживанием.

Материалы и методы. Иммуногистохимической исследование проводилось на гистологическом материале 36 аллогraftов. Аллогraftы были разделены на 4 группы. Группа № 1 – длительное хранение аллогraftов погруженных в жидкий азот; Группа № 2 – повторная криоконсервация (проводилась повторная криоконсервация и размораживание после первичной криоконсервации и размораживания); Группа № 3 – криоконсервация по предложенной методике (Температура в камере охлаждения снижается за 10 минут до температуры около -60°C , с последующим поддержанием данной температуры в течении 18 минут); Группа № 4 – длительное хранение в парах жидкого азота; Группа № 5 – фиксация в 10 %-ном нейтральном формалине (контрольная группа).

Все образцы подвергли светооптической микроскопии при стандартном исследовании с антителами окраске гематоксилином и эозином и иммуногистохимическому исследованию. Для количественной оценки уровня коллагенолиза мы рассчитали коэффициент MMP-9/TIMP-1 и MMP-2/ TIMP-2. В качестве критерия достоверности применялся двухсторонний P ($T<=t$) до 0,05.

Результаты исследования. Экспрессия MMP-2 отмечена в аллографтах группы №3 (криоконсервация по предложенной методике) и группы №5 (контрольная). Среднее значение экспрессии MMP-2 в группе №3 (криоконсервация по предложенной методике) составило $0,0043388 \pm 0,000134$. Среднее значение экспрессии MMP-2 в контрольной группе составило $0,001899361 \pm 0,000520913$. Выявлено достоверное увеличение последней в группе №3 ($p = 0,01$).

Экспрессия MMP-3 отмечена в аллографтах всех исследуемых групп. Группа №1 (длительное хранение аллографтов, погруженных в жидкий азот): $0,0143841 \pm 0,001533393$; Группа №2 (повторная криоконсервация): $0,0233333 \pm 0,0034801$; Группа №3 (криоконсервация по предложенной методике): $0,0482937 \pm 0,0064507$; Группа №4 (длительное хранение в парах жидкого азота): $0,0184138 \pm 0,0018355$; Группа №5 (контрольная группа): $0,0308958 \pm 0,0033464$. Выявлено достоверное увеличение показателя в группе №3 ($p = 0,01$).

Экспрессия MMP-9 отмечена в аллографтах группы №3 (криоконсервация по предложенной методике) и группы №5 (контрольная), неравномерная экспрессия зарегистрирована в аортальных клапанах группы №1. Группа №1 (длительное хранение аллографтов погруженных в жидкий азот): $0,0129473 \pm 0,0021334$; Группа №3 (криоконсервация по предложенной методике): $0,0262557 \pm 0,0034451$; Группа №5 (контрольная группа): $0,01314560 \pm 0,0018751$. Выявлено увеличение последней в группе №3 с высокой степенью достоверности ($p < 0,001$).

Среднее значение экспрессии TIMP-1 в группе №3 (криоконсервация по предложенной методике) составило: $0,0058548 \pm 0,0013019$. Выявлено значительное (более чем в 4 раза) увеличение среднего показателя в группе №3 с высокой степенью достоверности ($p < 0,001$).

Экспрессия TIMP-2 отмечена в аллографтах всех исследуемых групп: Группа №1 (длительное хранение аллографтов погруженных в жидкий азот): $0,0081091 \pm 0,0013254$;

Группа №2 (повторная криоконсервация): $0,0203714 \pm 0,0030324$; Группа №3 (криоконсервация по предложенной методике): $0,0220097 \pm 0,0029648$; Группа №4 (длительное хранение в парах жидкого азота): $0,0235380 \pm 0,0044292$; Группа №5 (контрольная группа): $0,0144032 \pm 0,0017413$. Выявлено достоверное увеличение показателя в группе №3 ($p = 0,02$).

Выводы.

1. В группе №1 не выявлено статистически значимой и специфической экспрессии MMP2 и TIMP1. При исследовании аллографтов из группы №2, также не удалось зарегистрировать экспрессию MMP2

и MMP9, а в группе № 4 отсутствовала специфическая реакция к MMP9 и TIMP1. Касательно групп № 3 (криоконсервация по предложенной методике) и № 5 (контрольная), не подвергавшаяся криоконсервации), можно с уверенностью утверждать о сохранности биосинтезных свойств клеточных элементов.

2. В «контрольной» группе коэффициент MMP-9/TIMP-1 составил 2,24, а в группе № 3 «криоконсервация по предложенной нами методике» – 0,92. Однако коэффициент MMP-2/ TIMP-2 в контрольной и опытной группе № 3 практически не изменился (0,13 и 0,19 соответственно). Другими словами, даже при существенном повышении синтеза матричных металлопротеиназ, уровень коллагенолиза может быть в норме за счет роста уровня синтеза тканевого ингибитора.