

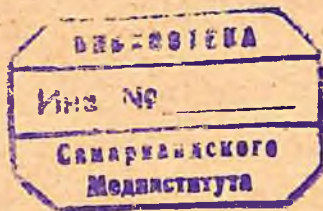
9492

Министерство здравоохранения УССР
ХАРЬКОВСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

В. Д. ЧУРАКАЕВ

**ОПЫТ ПЕРЕСАДКИ НАТИВНОЙ
И КОНСЕРВИРОВАННОЙ В УСЛОВИЯХ СВЕРХНИЗКОЙ
ТЕМПЕРАТУРЫ (-196°C) ЭМБРИОНАЛЬНОЙ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ДЕПАНКРЕАТИЗИРОВАННЫМ КРЫСАМ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук



Харьков — 1964

Министерство здравоохранения УССР
ХАРЬКОВСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

В. Д. ЧУРАКАЕВ

ОПЫТ ПЕРЕСАДКИ НАТИВНОЙ
И КОНСЕРВИРОВАННОЙ В УСЛОВИЯХ
СВЕРХНИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ (-196°C)
ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ДЕПАНКРЕАТИЗИРОВАННЫМ КРЫСАМ

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Харьков—1964

Из кафедры хирургии № 2
(зав. проф. *М. М. ЛЯХОВИЦКИЙ*)
Украинского института усовершенствования врачей
(ректор — доцент *И. И. ОВСИЕНКО*)
и отдела патофизиологии (зав. проф. *С. Г. ГЕНЕС*)
Украинского института экспериментальной эндокринологии
(директор — *С. В. МАКСИМОВ*).

Научные руководители:
профессор, доктор медицинских наук
М. М. ЛЯХОВИЦКИЙ,
профессор, заслуженный деятель науки *С. Г. ГЕНЕС*.

Официальные оппоненты:
профессор, доктор медицинских наук *М. М. ЛЕВИН*,
профессор, доктор медицинских наук *М. Г. РУДИЦКИЙ*.

Защита состоится в Харьковском государственном медицинском институте 9/11 1965 г.

Автореферат разослан 6/11 1965 г.

Больных сахарным диабетом, по данным мировой статистики, насчитывается не менее 1—2%, а во Франции даже не менее 2,5% населения. По мере накопления опыта лечения больных сахарным диабетом стали выясняться условия, в той или иной степени ограничивающие применение инсулина (С. Г. Генес, 1962).

Во-первых, на некоторых больных инсулин оказывает очень слабое гипогликемизирующее действие.

Во-вторых, на некоторых больных инсулин оказывает чрезвычайно сильное действие, даже в очень малых дозах. Его введение вызывает частые гипогликемические шоки, из-за которых приходится отказываться от инсулинотерапии.

В-третьих, у многих больных подкожное введение инсулина приводит к образованию выраженных воспалительных явлений, инфильтратов и липодистрофий в месте введения. Так как инсулин вводится ежедневно, нередко по два раза в день, на протяжении ряда лет, то естественно, что подобные последствия его введения очень болезненно переживаются больными.

Наконец, известно, что инсулин эффективен лишь при парентеральном введении. Большая часть больных реагирует на введение инсулина через иглу болезненно, а некоторые вовсе его не выносят. Особенно это касается детей, больных сахарным диабетом.

В-четвертых, у некоторых больных инсулин вызывает более или менее выраженные аллергические явления, из-за которых приходится прекращать введение инсулина.

В-пятых, у некоторых больных к инсулину вырабатываются антитела, из-за которых инсулин оказывается неактивным.

Многие из перечисленных недостатков инсулинотерапии удалось устранить антидиабетическими сульфаниламидами, поскольку они оказывают свое лечебное действие перорально. Но они более часто вызывают побочные явления и при прогрессировании диабета становятся неэффективными.

Поэтому потребность в изыскании новых путей в лечении больных сахарным диабетом очевидна и исходит из запросов клиннки.

За последнее десятилетие накоплен значительный опыт в области пересадки органов и тканей. Достигнутые ощутимые результаты по переживаемости отдельных органов и тканей после их пересадки в эксперименте дали возможность перенести некоторые успехи эксперимента в клинику.

С этой целью созданы «тканевые банки» в крупных городах Советского Союза, а также за рубежом.

Создание «тканевых банков» дало возможность хранить нужное количество тканей и органов и использовать их для трансплантации в клинических условиях при различных заболеваниях (кожа — при ожоговой болезни, кости — при костно-пластических операциях, кровь — общезвестный диапазон применения гемотрансфузий, железы внутренней секреции — при различного рода эндокринопатиях и т. д.).

В настоящее время можно считать доказанным, что одна из основных причин гибели гомотрансплантатов заключается в антигенной несовместимости тканей донора и реципиента, обуславливающей возникновение защитной иммунологической реакции в отношении трансплантатов (Ю. Ю. Вороной, 1930, 1936; В. П. Шапов, 1936; Г. В. Лопашов и О. Г. Строева, 1950; М. И. Ефимов, 1953, 1962, 1963; И. Н. Майский, 1959; Н. Н. Жуков-Вережников, М. М. Капичников, П. М. Чепов, Е. А. Зотиков, 1957; А. Н. Филатов, 1958, 1961; М. Гашек, 1959, 1960).

Исходя из этого, вполне оправданным является изыскание эффективных способов преодоления тканевой несовместимости при пересадке органов и тканей.

Вопрос пересадки поджелудочной железы, в силу ее анатомо-физиологических особенностей в системе эндокринных желез, занимает особое место.

Кроме общебиологических причин, ведущих к отторжению трансплантатов тканей и органов, в поджелудочной железе имеется еще и дополнительный фактор в виде внешней секреции, который приводит ее к аутолизу в процессе трансплантации.

Ряд авторов (Hedon, 1891; Mincowski, 1893; Л. В. Соболев, 1901; Cyrle, 1908; Praff, 1913) производили свободную пересадку ткани поджелудочной железы от взрослых животных, которая закончилась неудачей. Авторы считают, что железа погибает в течение короткого времени (5—7 дней) путем самопереваривания.

Аналогичные результаты были получены и более поздними исследованиями (Bottin, 1936; Н. С. Чистович, 1948; Н. Э. Еселевич, 1955, 1959).

В 1958 г. Е. А. Hause с соавторами осуществил пересадку эмбриональной поджелудочной железы в защечный мешок хомякам, у которых предварительно вызывался аллоксановый диабет. Авторами отмечено, что после пересадки через 34 дня

в трансплантатах обнаруживается нормальная грануляция В-клеток островков Лангерганса (т. е. клеток, ответственных за выработку инсулина), окруженных жировой тканью, которая полностью замещала экзокринную паренхиму.

Эмбриональная поджелудочная железа, пересаженная в переднюю камеру глаза крыс (P. Saurland, 1960), способна к истинному приживлению.

Интересным является также и тот факт, что после пересадки в трансплантате имеют место активные процессы регенерации и образования островков Лангерганса из элементов ацинарной паренхимы, что следует учитывать при оценке приживления трансплантата.

Пересадка поджелудочной железы от эмбриона несколько увеличила период переживаемости трансплантата (в среднем 30 суток) по сравнению с поджелудочной железой от взрослого организма.

Исследования последних лет показали, что степень несовместимости тканей донора и реципиента в процессах трансплантации могут быть снижены в результате воздействия на них низких температур (И. Л. Крупко, С. С. Ткаченко, Ю. И. Барков, 1958; И. Л. Крупко, С. С. Ткаченко, 1958; И. Н. Краковский, А. П. Майсюк, Е. М. Ходнев, 1959; И. И. Хворостухин, 1959; Г. В. Головин, 1958, 1962; Н. С. Пушкарь, 1961; Л. Н. Савчук, 1962; Р. Рэй, 1962; К. А. Антонян, 1963 и др.).

Это способствовало улучшению клинических результатов после гомопластических пересадок органов и тканей.

Однако применительно к поджелудочной железе, судя по данным как отечественной, так и зарубежной литературы, таких работ мы не встретили. Исходя из этого, по предложению профессора М. М. Ляховицкого трансплантация эмбриональной поджелудочной железы, консервированной в условиях сверхнизких температур (-196°C), явилась предметом нашего изучения.

МЕТОДИКА И ПОСТАНОВКА ОПЫТОВ

Опыты ставились на беспородных крысах-самках, полученных из питомника Украинского института экспериментальной эндокринологии. Все животные содержались в одной коммунитарии, площадь которого равна 24 м^2 . Комната имеет четыре окна, обращенных к югу. Циркуляция воздуха в ней производилась хорошо.

Животные до операции находились в клетках по 20 штук. Подстилкой служили стружки, которые менялись два раза в неделю, после санитарной обработки клеток.

Крыс кормили в течение суток: в 10 и 13 часов дня. Они получали с пищей все ингредиенты, предусмотренные приказом Министерства здравоохранения СССР за 1953 г. № 45.

На каждую крысу выдавались концентраты (овес, ячмень, отруби, просо, подсолнух, кукуруза) — 15 г, хлеб (белый и черный пополам) — 15 г, молоко — 28 г, крупа — 5 г, корнеплоды (свекла, морковь, капуста) — 3 г, соль — 0,2 г, мел — 0,6 г, витамины А, В, С, Д и Е.

1. Методика получения реципиентов путем тотальной панкреатэктомии крыс

Для выяснения функции трансплантированной поджелудочной железы мы пересаживали ее крысам с удаленной поджелудочной железой.

Диабет у крыс получают несколькими способами: путем введения в организм аллоксана (Я. А. Лазарис и Т. Г. Угодникова, 1946; В. С. Ильин, 1946; И. М. Азбукина, 1948; С. М. Лейтес, 1950; Н. Г. Лесной, 1958; I. N. Burn, 1946; F. Graud, 1956) или дитизона (Я. А. Лазарис, 1947, 1959, 1962) и путем депанкреатизации.

Каждый из этих способов имеет свои преимущества и недостатки. Модели сахарного диабета, полученные введением фармакологических веществ, сохраняют функцию секреторной части, но инкреторная функция нередко восстанавливается под влиянием гомотрансплантации поджелудочной железы (W. Z. Hard, 1944; Н. Э. Еселевич, 1955, 1959; A. Gonet, 1962).

Модель сахарного диабета, полученная путем депанкреатизации, также имеет свои недостатки, а именно:

1) выпадает внешняя секреция поджелудочной железы, которая приводит к неполному расщеплению белка и жира в кишечнике;

2) выпадает липокаическая субстанция, устраняющая жировую инфильтрацию печени.

Если же депанкреатизированным животным давать с пищей сырую поджелудочную железу, то можно до некоторой степени предотвратить жировую инфильтрацию печени (F. N. Allen, 1924).

Преимуществом этой модели является то, что полностью устраняется функция В-клеток островкового аппарата поджелудочной железы.

Таким образом, для целей гомотрансплантации поджелудочной железы модель сахарного диабета, полученная путем тотальной панкреатэктомии, является наиболее приемлемой.

В доступной нам отечественной литературе мы не встретили работ, описывающих полное удаление поджелудочной железы у крыс.

Техника операции

После 10—18 часов голодания крыса анестезируется эфиром и фиксируется на операционном столике брюшком кверху.

Шерсть выстригается на всей брюшной стенке, кожа обрабатывается 5% раствором йода.

Разрезом по срединной линии от мечевидного отростка вниз до 2—2,5 см вскрывается брюшная полость. Края раны фиксируются зажимами с марлевой салфеткой, в которой имеется соответственно ране окно.

Желудок и селезенка вытягиваются и укладываются на грудную клетку. Поперечно-ободочная кишка и ее брыжейка осторожно оттягиваются книзу и путем тупого отделения от ткани железы вскрывается начало селезеночных сосудов и воротной вены.

Затем крыса поворачивается на 180°. Селезенка захватывается левым большим пальцем, кончик которого помещен под селезеночные сосуды.

Начиная с глубины брюшной полости, ткань железы осторожно оттесняется при помощи маленьких тампонов по направлению к селезенке и удаляется. После этого указательный палец левой кисти подводится под часть первой доли железы (расположенной в желудочно-селезеночной связке и вдоль селезеночных и желудочно-сальниковых сосудов) и оттесняется маленькими тампонами с последующим удалением ее, не повредив при этом желудочно-двенадцатиперстной артерии.

Затем крыса укладывается в первоначальное положение. Указательный палец левой кисти подводится под брыжейку двенадцатиперстной кишки, на котором производится отделение ткани железы от воротной вены и двенадцатиперстной кишки, избегая повреждения сосудов.

В отличие от методики R. Scow (1957), который удаляет вторую долю без выведения толстого кишечника, мы выводим последний из брюшной полости и укладываем слева от крысы на марлевую салфетку, смоченную теплым физиологическим раствором. Таким образом, создается возможность удаления второй доли железы у места перехода двенадцатиперстной кишки в тощую.

Третья доля (расположенная вдоль всей длины желчного протока) удаляется путем фрагментации специально приготовленными пинцетами.

На отдельных этапах операции, с целью контроля за полным удалением поджелудочной железы, мы рекомендуем пользоваться лупой.

Наконец, рассматриваем область задней поверхности воротной вены, начало селезеночных сосудов и, особенно, вдоль брыжеечного края двенадцатиперстной кишки. Оставшиеся ча-

сти удаляются, если таковые обнаружатся, и брюшная полость промывается теплым физиологическим раствором.

Органы укладываются в физиологическое положение. Брюшная полость зашивается наглухо капроновыми лигатурами. Операция проходит в условиях строгой асептики.

После операции крысы находятся в обменных клетках. Им дается с пищей сырая поджелудочная железа животных и производится инъекция инсулина два раза в сутки по 0,7—7,0 ЕД на 1 кг веса тела.

2. Методика получения трансплантата эмбриональной поджелудочной железы

Мы решили использовать эмбриональную поджелудочную железу главным образом по трем причинам:

Во-первых, ацинарная часть ее в этом периоде находится на стадии префункциональной дифференцировки, а в условиях трансплантации быстро дегенерирует, что исключает переваривающее ее действие (Р. Саурланд, 1960; А. Гонет, 1961; З. Н. Варфаломеева, 1962).

Островковый аппарат в этом периоде времени более мощный и находится в стадии функциональной активности (А. Н. Студицкий, 1947; Л. Г. Лейбсон; 1962, Я. И. Лешене, 1963; А. Гонет, 1961).

Во-вторых, эмбриональные ткани вообще обладают, как известно, высокой пролиферационной активностью (Г. Н. Гинсбург, 1951; Л. Д. Лиознер, 1958, 1959; В. В. Теодорович, 1959; А. Н. Студицкий, 1961) и поджелудочная железа в частности (Сугле, 1908; К. З. Кан, 1951; Н. Б. Христолюбова, 1955; Л. Н. Моралева, 1958; Ю. Н. Копаева, 1958; Л. Н. Кулешова, 1958, 1961).

В условиях трансплантации эмбриональной поджелудочной железы возможно новообразование островкового аппарата из элементов ацинарной паренхимы (А. С. Суглицкий, 1937; А. А. Фейгина, 1953; Р. Саурланд, 1960).

В-третьих, мы рассчитывали использовать метаболическую приспособляемость, присущую эмбриональным тканям, обмен веществ которых изменяется в направлении обмена веществ другой особи, в рамках вида (Г. И. Косицкий, 1961; А. Н. Студицкий, 1961; Р. Клен, 1962) с тем, чтобы «включить» эмбриональную поджелудочную железу после пересадки в обменные процессы реципиентов и добиться, если не приживления, то увеличения периода переживаемости трансплантатов.

Техника операции

Крыса 17—18-суточной беременности анестезируется эфиром, затем укладывается брюшком вверх. Средним разрезом

зом вскрывается брюшная полость. В рану выводится матка с эмбрионами и отсекается. После промывания теплым физиологическим раствором вскрываются маточные оболочки и извлекаются эмбрионы.

Затем на стерильную салфетку укладывается эмбрион брюшком вверх, конечности которого прикалываются иглами к операционному столу.

Обработав кожу эмбрионов 5% раствором йода и спиртом, циркулярным разрезом удаляют переднюю брюшную стенку на всем протяжении. Поджелудочная железа определяется по характерному белесоватому цвету. Она расположена в желудочно-селезеночной связке и брыжейке двенадцатиперстной кишки.

Захватывая специальными пинцетами ткань железы, удаляют ее путем фрагментации на всем протяжении и переносят в стерильный физиологический раствор при температуре $+37-38^{\circ}\text{C}$. Операция проходит в условиях строгой асептики.

Извлеченная указанным способом ткань железы доводится специальными ножницами примерно до размеров одного миллиметра. После промывания физиологическим раствором железа может быть использована для трансплантации.

3. Методика консервации трансплантата эмбриональной поджелудочной железы

Полученные вышеописанной методикой трансплантаты эмбриональной поджелудочной железы помещаются в стеклянные пробирки с 15% глицерином, приготовленным на физиологическом растворе. Пробирки закрываются резиновыми пробками.

Для поддержания низкой температуры (-196°C) был изготовлен медный сосуд типа Дьюара высотой 160 см и диаметром 15 см, который вмещает 15 литров жидкого азота. Пробирки с трансплантатами, укрепленные на свинцовой пластинке (с целью погружения) марлевой салфеткой в вертикальном положении, опускаются в сосуд, наполненный жидким азотом.

По мере испарения азота его пополняют (путем заливания из транспортного сосуда Дьюара), поддерживая низкую температуру на нужный период времени.

Время охлаждения определялось по периоду от начала погружения пробирок в жидкий азот до прекращения кипения азота. Сроки хранения составляли одни и шесть суток. После извлечения пробирок из азота они переносились в помещение, температура которого $+26^{\circ}\text{C}$, где находились в течение 10 минут, затем переносились на водяную баню при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ до полного оттаивания.

В стерильных условиях пробирки открываются, раствор глицерина сливается и поджелудочная железа, трижды промытая физиологическим раствором, может быть использована для трансплантации.

4. Методика трансплантации поджелудочной железы

Крыса-реципиент анестезируется эфиром и фиксируется на операционном столике брюшком кверху. Операционное поле обрабатывается 5% раствором йода, производится параректальная лапаротомия.

Трансплантат переносится из пробирки в брюшную полость к салнику с последующим послойным ушиванием наглухо. Крыса помещается в обменную клетку и получает прежнее питание.

Критерии приживания трансплантата

Оценку результатов трансплантации эмбриональной поджелудочной железы мы производили с помощью схемы, разработанной М. Г. Рудицким (1960), которая наиболее полно отражает критерии приживания трансплантатов эндокринных желез.

М. Г. Рудицкий пишет: «Самым убедительным тестом, безусловно свидетельствующим о полноценности приживания пересаженного органа, является выживание реципиентов после трансплантации жизненно важного органа (надпочечника, почки и др.) при отсутствии этих органов «in situ». Подобные утверждения мы находим в работе Р. Клена (1962). Однако при этом нужно иметь уверенность, что речь идет не о комплексном возбуждающем действии пересаженной железы на остатки или эктолическую часть железы реципиента, страдавшего недостаточной секрецией.

Известно, что выражением недостаточности инсулярного аппарата поджелудочной железы является сахарный диабет, тяжесть которого пропорциональна степени этой недостаточности.

В результате недостаточности функции В-клеток инсулярного аппарата поджелудочной железы повышается содержание сахара в крови и сахар появляется в моче.

При абсолютном недостатке функции В-клеток инсулярного аппарата организм погибает в короткие сроки, которые могут быть увеличены или введением инсулина, или пересадкой трансплантата, синтезирующего инсулин.

В-клетки инсулярного аппарата поджелудочной железы являются жизненно необходимым органом внутренней секреции. Если инкреторная функция поджелудочной железы исключается полностью, то крысы погибают.

Исходя из вышеуказанного, мы в своей работе использовали следующие тесты, характеризующие функциональную активность трансплантата:

1. Выживание тотально-депанкреатизированных крыс.

2. Состояние гипергликемии и глюкозурии, являющихся патномоническими симптомами экспериментального диабета.

Сахар крови у реципиентов определяется по способу Хагедорна—Иенсена в 0,1 мл крови, которая бралась путем насечек вены хвоста (последний предварительно распаривался для большей выраженности сосудов на водяной бане при температуре +45, +50°C).

Сахар мочи определялся в суточном ее количестве ежедневно поляриметрическим способом.

3. Вес животных. Взвешивание крыс производилось один раз в 7—10 дней до и после пересадки эмбриональной поджелудочной железы.

4. Микроскопическая оценка морфологической структуры как свежей, так и консервированной эмбриональной поджелудочной железы.

Для окраски специфической зернистости в наших опытах использовался модифицированный метод азан (А. С. Бреславский).

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

Полная депанкреатизация проведена у 256 животных. Из них:

1. У 60 — изучалась хирургическая анатомия и техника операции.

2. У 20 — (серия I — контрольная группа) исследовалось течение сахарного диабета.

3. У 23 — (серия II) изучалось влияние пересадки свежей эмбриональной поджелудочной железы на течение экспериментального сахарного диабета:

а) группа 1 — 12 животных. Пересадка поджелудочной железы от двух эмбрионов в различные места реципиента (подкожно и в брюшную полость);

б) группа 2 — 11 животных. Пересадка поджелудочной железы от двух эмбрионов в одно и то же место реципиента (в брюшную полость или подкожно).

4. У 17 животных (серия III) изучалось влияние пересадки эмбриональной поджелудочной железы, консервированной в 15% глицерине, приготовленном на физиологическом растворе при температуре —196°C в течение одних суток.

5. У 11 животных (серия IV) изучалось течение сахарного диабета после пересадки им поджелудочной железы, консервированной в 15% глицерине, приготовленном на физиологическом растворе при температуре —196°C в течение шести суток.

Из 256 оперированных животных только 71 были использованы в качестве подопытных. Остальные (63,8%) погибли по различным причинам, связанным с оперативным вмешательством.

Операция удаления поджелудочной железы для целей трансплантации произведена на 143 эмбрионах (47 — для микроскопического исследования и 96 — для пересадки реципиентам).

Нам, как и другим авторам (N. M. Hord, 1944; A. Gonet, 1961; P. Caupland, 1961), удалось обнаружить при микроскопических исследованиях, что инсулярный аппарат эмбрионов в возрасте 17—18-дневного внутриутробного развития достигает морфологической дифференцировки. Вместе с тем необходимо учитывать тот факт, что в отдельных случаях встречаются дистрофические, а местами атрофические изменения в клеточном составе островков Лангерганса поджелудочной железы в этом периоде развития.

Оценивая результаты микроскопического исследования эмбриональной поджелудочной железы, консервированной в 15% глицерине, приготовленном на физиологическом растворе при температуре -196°C (сроки пребывания в глицерине перед замораживанием 20—30 минут), следует отметить, что островковый аппарат эмбриональной поджелудочной железы в этих условиях претерпевает глубокие патологические изменения.

Дифференцировать А и В-клетки практически не представляется возможным.

После того как длительность пребывания эмбриональной поджелудочной железы в 15% глицерине перед замораживанием увеличивалась до одного часа, с последующим увеличением срока оттаивания, микроскопические исследования выявляли также дистрофические изменения А и В-клеток.

Островковые клетки представляли собой сплошные бесструктурные гомогенные конгломераты без ядер, что могло соответствовать начавшимся некробиотическим изменениям клеточных структур.

Характерно, что центральные участки паренхимы эмбриональной поджелудочной железы подвержены большим патологоанатомическим изменениям, чем периферические. Это, по-видимому, отражает степень проникновения раствора глицерина в ткань эмбриональной поджелудочной железы.

Наряду с этим встречаются отдельные островки Лангерганса, В-клетки которых претерпели весьма незначительные изменения. Границы клеток хорошо контурируются, обнаруживаются крупные, округлой формы, несколько уплотненные ядра.

Следовательно, результаты опытов серии III в отличие от результатов опытов серии II (где островковый аппарат претерпевал глубокие патологоанатомические изменения) показывают, что степень повреждения островкового аппарата значительно уменьшилась.

И, наконец, когда период пребывания эмбриональной поджелудочной железы в 15% глицерине перед замораживанием увеличен до 2,5 часов, то структура островкового аппарата по-

сте оттаивания представлялась мало измененной. Удастся дифференцировать А и В-клетки, которые имеют четкие границы (серия IV, препараты №№ 2—10) и соответствуют структуре островков неконсервированной эмбриональной поджелудочной железы.

Указанные изменения можно объяснить тем, что, по-видимому, период пребывания эмбриональной поджелудочной железы в 15% глицерине в течение 20—30 минут и одного часа перед замораживанием явно недостаточен для глубокого проникновения глицерина в толщу железы, что, естественно, исключает его защитное действие на структуру эмбриональной поджелудочной железы.

В серии V, когда оттаивание эмбриональной поджелудочной железы производилось немедленно после извлечения ее, путем погружения пробирок в водяную баню при температуре +37°C, в структуре железы наблюдались также глубокие морфологические изменения, соответствующие структуре эмбриональной поджелудочной железы, описанной во второй серии микроскопических исследований.

Следовательно, важным этапом в процессе консервации эмбриональной поджелудочной железы в условиях низких температур (—196°C) является не только длительность пребывания ее в 15% глицерине перед замораживанием, но также и скорость оттаивания.

Таким образом, результаты микроскопических исследований свежей и консервированной в 15% глицерине при температуре —196°C эмбриональной поджелудочной железы создали ценные предпосылки для использования ее в качестве трансплантата, который мог бы взять на себя функцию удаленной поджелудочной железы реципиента.

Как видно из описания результатов первой серии наших исследований, после тотальной панкреатэктомии крысы, как правило, заболевали тяжелым сахарным диабетом и после прекращения введения им инсулина погибали в среднем через 5,2 суток. Полученные данные этой серии опытов согласуются с данными R. Scow (1957).

Результаты первой группы серии II показывают, что тотально депанкреатизированные реципиенты после пересадки им свежей эмбриональной поджелудочной железы, смешанной от двух эмбрионов, переживают 10,2 суток, т. е. в два раза больше, нежели контрольные.

Переживаемость реципиентов во второй группе II серии составляет 49 суток, что значительно больше, чем в первой группе этой серии ($P=0,001$). Следует полагать, что ткань эмбриональной поджелудочной железы, взятая от двух доноров и пересаженная в разные места реципиента, обеспечивает большую продолжительность жизни реципиентов по сравнению с живот-

ными, которым пересадка производилась от двух эмбрионов, но трансплантаты перед этим перемешивались.

Это мы склонны объяснять тем, что, по-видимому, наряду с реакцией организма реципиента против трансплантата и реакцией трансплантата против реципиента возможны иммунологические реакции между трансплантатами. Для проявления этих межтрансплантационных реакций при смешивании тканей доноров создаются лучшие условия непосредственного контакта, что и ведет к быстрой гибели реципиентов.

Возможность наступления межтрансплантационных иммунобиологических реакций допускает М. Гашек (1960 г.).

При сравнительной оценке данных серии III и серии IV с результатами контрольной серии и первой группы II серии отмечается разница в продолжительности жизни реципиентов. Она значительно выше. Это обстоятельство и факт сохранения морфологической структуры трансплантата после консервации его при температуре -196°C в жидком азоте дают нам право говорить о жизнеспособности ткани эмбриональной поджелудочной железы.

Однако сравнительные данные серии III с результатами второй группы серии II указывают на то, что функциональная активность эмбриональной поджелудочной железы при консервации утрачивается.

Продолжительность жизни реципиентов после пересадки эмбриональной поджелудочной железы, консервированной в течение одних суток при температуре -196°C , оказывается больше, нежели при пересадке эмбриональной поджелудочной железы, консервированной таким же способом в течение шести суток. По-видимому, это связано с понижением жизнеспособности трансплантата при консервации его более продолжительное время (6 суток). Хотя сроки переживаемости реципиентов после пересадки консервированной эмбриональной поджелудочной железы меньше по сравнению с переживаемостью подопытных животных после пересадки им свежей эмбриональной поджелудочной железы, это представляет собой определенный биологический интерес.

Кроме того, положительная сторона полученных данных состоит в том, что сохранение жизнеспособности эмбриональной поджелудочной железы (после консервации по описанной методике) дает возможность иметь ее жизнеспособной, создавая тем самым нужное количество, и использовать по мере надобности.

Факт сохранения жизнеспособности трансплантатов эндокринных желез, подвергавшихся консервации при температуре -196°C , доказан и другими исследователями (М. С. Мицкевич, 1958 — щитовидной железы; A. V. Smith, 1951 и О. Смит, 1963 — овариальной ткани). Но по данным этих же авторов пересадка эндокринных желез, консервированных при низких температу-

рах (-196°C), не пользуется преимуществом перед пересадкой свежих трансплантатов.

Логично было бы ожидать, что после пересадки эмбриональной поджелудочной железы от одного животного уровень гипергликемии, глюкозурии должен был бы снизиться, однако, как это явствует из полученных нами данных, такого снижения не наступило. В стремлении добиться большего поступления реципиенту инсулина мы стали производить пересадку трансплантата от двух эмбрионов, т. е. увеличили количество В-клеток (синтезирующих инсулин), но в данном варианте постановки опытов ожидаемых результатов не получили.

Указанное явление можно объяснить тем, что количество инсулина, вырабатываемого трансплантатом, недостаточно для того чтобы нормализировать нарушенный углеводный обмен реципиента. Но вместе с тем это количество достаточно для того чтобы продлить жизнь подопытным животным.

Чем можно объяснить тот факт, что крыса № 10 (серия III) прожила после пересадки всего четыре дня, крыса № 1 — семь дней, а крысы №№ 7, 14, 15 — по 26 дней и даже (крысы №№ 5 и 6) до 36 и 42 дней? Иными словами, почему наблюдалась такая разница в периодах переживания реципиентов после пересадки им эмбриональной поджелудочной железы по одной и той же методике?

Мы склонны объяснить это следующим образом:

1. В контрольной группе микроскопических исследований показано, что в отдельных случаях в клеточном составе островков Лангерганса встречаются дистрофические, а местами и атрофические изменения. Таким образом, еще до пересадки инсулярный аппарат эмбриональной поджелудочной железы иногда может быть представлен функционально неполноценным. Это обстоятельство, безусловно, не может не отразиться на переживаемости реципиентов после трансплантации им эмбриональной поджелудочной железы в вышеуказанном периоде развития.

2. С другой стороны, мы видели, что после консервации наряду с тканью железы, которая представлена неизменной, имеются участки эмбриональной поджелудочной железы, подвергшиеся дистрофическим изменениям, что также может служить причиной снижения функциональной активности инсулярного аппарата пересаживаемой поджелудочной железы.

3. Логично предположить, что инсулярный аппарат консервируемого трансплантата иногда уже в измененном виде врожденного порядка подвергается дополнительным, хотя и в незначительной степени, повреждениям, которые после пересадки проявляются в виде менее продолжительного периода переживаемости реципиента.

Наряду с высказанными соображениями следует учитывать и то, что различные периоды переживаемости реципиентов могут быть обусловлены различной индивидуальной реакцией реципиентов на пересаживаемую ткань эмбриональной поджелудочной железы.

Какое же значение приобретают полученные нами данные?

Во-первых, большое значение мы придаем созданию экспериментальной модели сахарного диабета, полученной путем тотальной панкреатэктомии. Она позволяет широко изучать многие вопросы патогенеза сахарного диабета и механизма действия инсулина и других сахароснижающих препаратов, причем изучать на таких легкодоступных и дешевых животных, как крысы, а не только на собаках.

Во-вторых, как следует из обзора литературы, пересадка поджелудочной железы от взрослых животных обречена на неудачу вследствие действия (помимо общебиологических причин) панкреатического сока, вырабатываемого трансплантатом.

После пересадок эмбриональной поджелудочной железы мы ни в одном случае не наблюдали осложнений, которые можно было бы связать с действием ацинарной части поджелудочной железы в ложе пересадки.

Наши исследования показывают, что период переживаемости реципиентов после пересадки им эмбриональной поджелудочной железы достигает уже в среднем 49 суток. Этот период, безусловно, небольшой, но, если оценивать его с полученными до сего времени данными (А. Gonet, 1961 — переживаемость трансплантата в среднем до 30 суток), то разница, бесспорно, явная. Полученные результаты приблизили возможность удачных пересадок эмбриональной поджелудочной железы в клинике, так как они исключают переваривающую способность панкреатического сока трансплантата. В этой части результаты наших исследований согласуются с данными некоторых экспериментаторов (Е. А. House с соавторами, 1958, 1961; А. Gonet, 1960; Р. Caupland, 1961).

Можно допустить, что если переваривающее действие трансплантата поджелудочной железы предотвращается путем использования пересадок эмбриональной поджелудочной железы, то в остальном исход пересадок может быть определен степенью преодоления тканевой несовместимости вообще.

Следовательно, если в проблеме трансплантации желез внутренней секреции поджелудочная железа взрослых животных способна к более быстрой гибели после пересадок, то поджелудочная железа эмбрионов по степени ее переживаемости может быть поставлена в общий ряд с другими эндокринными железами.

Полученные нами данные создают реальную основу для пересадок эмбриональной поджелудочной железы в клинике.

ВЫВОДЫ

1. Сахарный диабет, по данным мировой статистики, чрезвычайно распространен. Существующие методы лечения диабета несовершенны, поэтому потребность в изыскании новых путей лечения сахарного диабета очевидна и исходит из запросов клиницистов.

2. За последнее десятилетие опыты в области пересадки желез внутренней секреции начали находить свое применение в клинике, однако это только первые шаги, хотя для некоторых эндокринных желез клинический эффект несомненен.

3. Наиболее трудным объектом для трансплантации является поджелудочная железа в силу ее анатомофизиологических особенностей в системе эндокринных желез, что требует дальнейшего накопления экспериментальных данных.

4. Одним из факторов увеличения длительности переживаемости трансплантата является использование эмбриональной поджелудочной железы и консервация трансплантата в условиях сверхнизкой температуры.

5. Нами создана модель диабета у крыс тотальной депанкреатизацией.

6. Животные (крысы), которым производилась тотальная панкреатэктомия, заболели тяжелым сахарным диабетом со всем присущим ему симптомокомплексом. После прекращения введения им инсулина они погибали в среднем через 5,2 суток.

7. Гистологическое изучение показало, что островковый аппарат эмбриональной поджелудочной железы крыс в период 17—18-дневного внутриутробного развития находится на стадии морфологической дифференцировки и проявляет функциональную активность.

8. Инсулярный аппарат эмбриональной поджелудочной железы, консервированный при температуре -196°C в 15% глицерине, приготовленном на физиологическом растворе, в условиях трансплантации проявляет функциональную активность.

9. Свежая эмбриональная поджелудочная железа, пересаженная в тотально депанкреатизированный организм животного, увеличивает переживаемость реципиентов в среднем до 49 суток.

10. 15% глицерин, приготовленный на физиологическом растворе, обеспечивает выживаемость инсулярного аппарата эмбриональной поджелудочной железы в условиях низкой температур (-196°C) в опытах на протяжении шести суток.

11. Трансплантация свежей эмбриональной поджелудочной железы увеличивает переживаемость реципиентов по сравнению с животными, которым пересадка производилась консервированной эмбриональной поджелудочной железой при низкой температуре (-196°C) в течение одних и шести суток.

12. Продолжительность жизни животных после пересадки эмбриональной поджелудочной железы, консервированной при низкой температуре (-196°C) в течение одних суток, составила 20,7 дня, в то время как пересадка ее после консервации в одинаковых условиях в течение шести суток сохраняет жизнеспособность животных на протяжении 15,3 дня.

13. Осложнений, которые можно было бы связать с переваривающим действием ацинарной части эмбриональной поджелудочной железы в ложе пересадки, мы не наблюдали.

14. Оптимальным режимом консервации эмбриональной поджелудочной железы при низкой температуре (-196°C), который способствует сохранению ее функциональной активности, является быстрое замораживание (1 мин. 30 сек.) и оттаивание (в течение 10—15 минут) после предварительного пребывания эмбриональной поджелудочной железы в течение 2,5 часов в 15% глицерине, приготовленном на физиологическом растворе.

15. Полученные нами экспериментальные данные создают предпосылки для пересадки эмбриональной поджелудочной железы больным с тяжелыми формами сахарного диабета.

Диссертация состоит из пяти глав, представлена в виде одного тома. Объем работы — 197 страниц машинописи, 39 рисунков, графиков и таблиц. В указателе литературы приведено 446 источников, в том числе 323 отечественных и 123 иностранных.

Изложенные в работе данные и основные положения, вытекающие из них, опубликованы в тезисах докладов и доложены на III Всесоюзной конференции по пересадке органов и тканей, на научных конференциях Украинского института усовершенствования врачей, на заседаниях харьковских научных обществ хирургов, эндокринологов и патофизиологов.

ПЕРЕЧЕНЬ НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. К вопросу о трансплантации поджелудочной железы и методика получения сахарного диабета у крыс путем депанкреатизации. В кн.: Сборник диссертационных работ сотрудников Украинского института усовершенствования врачей, вып. 3, Изд-во ХГУ, Харьков, 1963, стр. 236—242.

2. О пересадке эмбриональной поджелудочной железы депанкреатизированным животным. В кн.: Итоговая годовичная научная сессия (тезисы и рефераты докладов), Изд-во ХГУ, Харьков, 1963, стр. 16—18.

3. О пересадке эмбриональной поджелудочной железы депанкреатизированным животным. В кн.: III Всесоюзная конференция по пересадке тканей и органов. Материалы докладов. Ереван, 1963, стр. 492—493.

4. К методике получения трансплантатов эмбриональной поджелудочной железы в эксперименте. В кн.: Итоговая годовичная научная сессия (тезисы и рефераты докладов). Изд-во ХГУ, Харьков, 1964, стр. 31—33.

5. Влияние низкой температуры (-196°C) на морфологическую структуру инсулярного аппарата эмбриональной поджелудочной железы крыс.

В кн.: Областная научно-практическая конференция врачей хирургов и терапевтов (тезисы и рефераты докладов). Изд-во ХГУ, Харьков, 1964, стр. 116—118.

6. Влияние низкой температуры (-196°C) на жизнеспособность инсулярного аппарата эмбриональной поджелудочной железы крыс. В кн.: Физиология и патология эндокринной системы (тезисы докладов конференции). Харьков, 1964, стр. 277—278.

7. Вплив пересадки ембріональної підшлункової залози на діабет депанкреатизованих щурів. В кн.: VII з'їзд українського фізіологічного товариства (тези доповідей). Вид-во «Наукова думка». Київ, 1964, стр. 473—474.

8. К методике полной панкреатэктомии у крыс. Журн. «Проблемы эндокринологии и гормонотерапии», 1964, 4, 101—104.

Ответственный за выпуск доктор мед. наук,
профессор *М. М. Ляховицкий*

Сдано в набор 15/XII 1964 г. Подписано к печати 17/XII 1964 г. БЦ 21339.
Формат 60×90¹/₁₆. Объем 1,25 печ. л., 1,25 условн. печ. л. Зак. 4532. Тир. 250.
Бесплатно.

Харьковская типография № 16 Главполиграфпрома
Государственного комитета Совета Министров УССР по печати.
Харьков, Университетская, 16.

Бесплатно.