

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 616.153.455-008.61-092.4

В.А. Арбошкин, С.А. Лепехова, О.А. Гольдберг, А.А. Кравченко

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПОСТРЕЗЕКЦИОННОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (Иркутск)

Трансплантация островков Лангерганса позволила добиться 100 %-ной выживаемости экспериментальных животных после панкреатэктомии, в то время как летальность в группе контроля составила 100 %. Внутривентрикулярная трансплантация клеток за 96 часов до операции способствовала коррекции пострезекционной гипергликемии вследствие панкреатэктомии и обеспечила полную инсулинонезависимость животных на протяжении всего эксперимента до 14-х суток исследования.

Ключевые слова: пострезекционная гипергликемия, трансплантация, островки Лангерганса

TRANSPLANTATION OF ISLETS OF LANGERHANS FOR PROPHYLAXIS OF POST-RESECTION HYPERGLYCEMIA IN EXPERIMENT

V.A. Arboshkin, S.A. Lepekhova, O.A. Goldberg, A.A. Kravchenko

Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk

Transplantation of Islets of Langerhans let to achieve 100 % survival of experimental animals after pancreatectomy compare to results of control group where mortality was 100 %. Intraperitoneal cells transplantation in 96 hours before surgery corrected post-resection hyperglycemia because of pancreatectomy and provided complete insulin-independence of animals during the whole experiment till 14 days of research.

Key words: post-resection hyperglycemia, transplantation, islets of Langerhans

Проблема профилактики и коррекции инсулиновой недостаточности в абдоминальной хирургии, в частности при тяжелых сочетанных повреждениях двенадцатиперстной кишки и поджелудочной железы, а также в тяжелых случаях хронического диффузного панкреатита, что предполагает тотальное удаление данных органов, все еще не решена [1, 3, 5].

Используемые в настоящее время методы коррекции инсулиновой недостаточности путем введения больших доз инсулина не приводят к желаемым результатам, т.е. не позволяют достичь строгой компенсации углеводного обмена и тем самым замедлить или остановить прогрессирование поздних осложнений сахарного диабета [6, 7].

В связи с этим в последние годы интерес исследователей привлекают трансплантационные методы лечения — аллотрансплантация поджелудочной железы на сосудистых связях, пересадка β-клеток и стволовых клеток [2, 4, 8, 9].

Наличие актуальной проблемы в абдоминальной хирургии и возможность решения некоторых ее задач с позиций современных клеточных технологий явились основанием для проведения экспериментального исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе научного отдела экспериментальной хирургии с виварием Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии Сибирского отделения РАМН. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище соответственно нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» (вет. удостоверение 238 № 0015220 от 25 марта 2009 г., служба ветеринарии Иркутской области).

В эксперимент включали кроликов-самцов породы Шиншилла в возрасте не менее 6 месяцев, весом 2,5 — 3,0 кг. Опыты на животных выполнялись в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных Приказом МЗ СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных».

У всех экспериментальных кроликов моделировали пострезекционную гипергликемию. Живот-

Таблица 1

Динамика уровня глюкозы в крови животных с ксенотрансплантацией островков Лангерганса (медиана, квартили)

Уровень глюкозы крови у кроликов (n = 10), ммоль/л								
1 ч	2 ч	3 ч	5 ч	6 ч	7 ч	8 ч	9 ч	10 ч
18,5 (17,8–19,0)	19,2 (18,9–19,8)	20,7 (16,7–22,0)	18,6 (17,0–19,3)	16,4 (15,2–18,0)	13,5 (12,0–14,2)	10,6 (9,1–11,0)	8,4 (6,3–9,9)	6,4 (5,8–7,4)

ные были разделены на две группы. Контрольную группу животных составили кролики, которым для моделирования пострезекционной гипергликемии выполняли панкреатэктомию.

Животным основной группы за 96 часов до панкреатэктомии проводили однократное введение трансплантата в брюшную полость в количестве 1 мл. В качестве трансплантата были использованы островки Лангерганса поджелудочной железы новорожденных поросят, а именно их суточная культура в концентрации 2×10^6 . Через 96 часов после ксенотрансплантации для моделирования пострезекционной гипергликемии животным была выполнена панкреатэктомию. Уровень глюкозы крови определяли глюкометром «One touch».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что предварительная ксенотрансплантация обеспечивает адаптацию трансплантированных клеток и их функционирование. Также опытным путем установлен срок введения островковых клеток — 96 часов до панкреатэктомии. Экспериментальные исследования показали, что максимум инсулинпродуцирующей функции клеток наступает через 96 часов после их трансплантации.

Использование взвеси островковых клеток поджелудочной железы свиньи в концентрации 2×10^6 в 1 мл питательной среды обеспечивает достаточную для данного вида животного концентрацию продуцированных гормонов.

Введение трансплантата в левую подвздошную область обеспечивает оптимальные условия для функционирования трансплантированных клеток в постоперационном периоде, т.к. при последующей панкреатэктомии основной объем операции выполняют в правой половине брюшной полости.

У животных контрольной группы уже через час после панкреатэктомии отмечали высокую гипергликемию 26,2 (22,7–30,0) ммоль/л, которая имела стойкий характер. Через сутки наблюдения уровень глюкозы крови продолжал оставаться высоким 23,7 (22,6–24,8) ммоль/л, несмотря на проводимую инсулинотерапию в дозе 0,4 ед/кг. Летальность животных контрольной группы составила 100 % уже в первые сутки послеоперационного периода.

Животные основной группы наблюдались в течение 14 суток, им проводили определение уровня глюкозы крови и последующую оценку морфологической картины.

Определение уровня глюкозы в крови животных проводили в динамике сразу после операции и каждый час на протяжении первых суток. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Анализ полученных результатов показал, что у всех животных опытной группы отмечалось плавное снижение и нормализация уровня глюкозы крови без введения инсулина в течение 10 часов после панкреатэктомии.

Выведение животных из эксперимента — забор материала, проводили на 7-е и 14-е сутки пострезекционного периода. У всех животных опытной группы, спустя 10 часов послеоперационного периода, уровень глюкозы крови находился в пределах 6,4 (5,8–7,4) ммоль/л на протяжении всего последующего периода наблюдения (7–14 суток), что свидетельствует о функционировании трансплантированных островков Лангерганса и купировании пострезекционной гипергликемии.

Таким образом, предлагаемый способ позволил добиться 100%-ной выживаемости экспериментальных животных после панкреатэктомии, в то время как летальность в группе контроля составила 100 %. Осуществление заявляемого способа позволило предупредить развитие пострезекционной гипергликемии после панкреатэктомии и обеспечить полную инсулинонезависимость животных на протяжении всего эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шалимов А.А. и др. Хронический панкреатит. — Киев : Здоровье, 2000. — 111 с.
2. Шумаков В.И., Блюмкин В.Н., Скалецкий Н.Н. Трансплантация островковых клеток поджелудочной железы. — М. : Канон, 1995. — 383 с.
3. Bjoern A. et al. Partial pancreatectomy in adult humans does not provoke β -cell regeneration // J. Diabetes. — 2008. — N 57. — P. 142–149.
4. Bretzel R.G., Eckhard M., Brendel M.D. Pancreatic islet and stem cell transplantation: new strategies in cell therapy of diabetes mellitus // Panmin Med. — 2004. — N 46. — P. 25–42.
5. Hsu J.T. et al. Outcome of pancreaticoduodenectomy for chronic pancreatitis // J. Formos Med. Assoc. — 2005. — Vol. 104, N 11. — P. 811–815.
6. Ning G. et al. Progress in diabetes research in China // J. Diabetes. — 2009. — Vol. 1, N 3. — P. 163–172.
7. Son Y.K. et al. Clinical outcome of preemptive kidney transplantation in patients with diabetes mellitus // Transplant Proc. — 2010. — Vol. 42, N 9. — P. 3497–3502.

8. Sutherland D.E.R., Moundry K.C. Clinical pancreas and islet transplantation // Transplant. Proc. — 1987. — Vol. 19, N 1. — P. 113–120.

9. Toledo-Pereyra L.H., Dewan S., Mittal V.K. Clinical pancreas transplantation. Complete review of eight years experience // Arch. Surg. — 1991. — Vol. 55, N 9. — P. 576–581.

Сведения об авторах

Арбошкин Вячеслав Андреевич – младший научный сотрудник научного отдела экспериментальной хирургии с виварием Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, д. 100, а/я 1).

Лепехова Светлана Александровна – кандидат биологических наук, заведующая научным отделом экспериментальной хирургии с виварием Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, д. 100, а/я 23; e-mail: lepekhova_sa@mail.ru).

Гольдберг Олег Аронович – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией патоморфологии Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100, а/я 1).

Кравченко Алексей Анатольевич – лаборант-исследователь научного отдела экспериментальной хирургии с виварием Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100, а/я 1).