

УДК 616.379—008.64:591.147,7:616.089.843

С. Г. Генес

О КОМПЕНСАЦИИ ДЕФИЦИТА ИНСУЛИНА ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕЕ ОСТРОВКОВ

Об эффективном замещении дефицита эндогенного инсулина введением его извне свидетельствует успешное его применение свыше 56 лет. Рациональная систематическая инсулиноterapia обеспечивает не только жизнь многих миллионов больных сахарным диабетом (БСД), но и практически нормальную работоспособность и полноценное питание. Однако, хотя длительность жизни некоторых БСД приближается к нормальной, у многих она меньшая, в среднем на одну треть. Кроме того, по мере ее удлинения у БСД более часто появляются сердечно-сосудистые заболевания, особенно капилляров, ведущие к потере зрения, уремии и другим осложнениям.

Сердечно-сосудистые заболевания часто появляются не только у тяжелых, нерационально леченных БСД, но, хотя и реже, у систематически рационально пользующихся инсулино- и диетотерапией. Меньшая длительность жизни большинства БСД, по-видимому, обусловлена, главным образом, более частыми и более выраженными заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Что вызывает микроангиопатии у БСД? На этот вопрос дано много ответов, что говорит об отсутствии общепринятого [1, 2, 3]. Один из последних ответов базируется на данных, полученных в 1974 г. [5, 6]. Сравнительное изучение суточной сахарной кривой БСД под влиянием однократно вводимого длительно действующего инсулина и нормального инсулина, вводимого искусственной эндокринной поджелудочной железой показало, что первый не предупреждает сильное повышение уровня сахара крови после каждого приема пищи, тогда как нормальный инсулин, выделяемый искусственной ПЖ, значительно уменьшает его повышение, практически так же, как и у здоровых людей.

Известно, что уровень сахара крови повышается не только после каждой еды, но и при каждом стрессовом состоянии организма, при каждой смене сна — бодрствованием, покоя — работой, спокойного состояния — эмоциональным, психо-нервным возбуждением. Во всех этих случаях сдвиги в нервной и эндокринной системе резко изменяют не только углеводный, но и остальные виды обмена вещества много раз за сутки. В нормальном организме при этом выделяется соответствующее количество инсулина — универсального анаболического гормона, который сильно умеряет резкие колебания многих ингредиентов крови и в особенности, увеличение в крови содержания сахара, НЭЖК, холестерина, бета-липопротеидов, молочной кислоты, кетоновых тел и других. У больных СД из-за ослабления функций бета-клеток выделяется меньше инсулина и соответственно этому слабее предупреждаются резкие колебания многих ингредиентов крови.

Искусственные бета-клетки функционируют весьма сходно с нормальными и поэтому на протяжении суток уровень сахара крови после приема пищи колеблется, как и у здоровых людей. Нормальные, как и искусственные бета-клетки, адекватно реагируют на измененный приток к ним разных ингредиентов крови, на изменение потребности организма в инсулине, на разное состояние нервной и эндокринной системы. Они могут быстро увеличивать и уменьшать секрецию и образование инсулина. Однократное же введение длительно действующего инсулина обуславливает его всасывание **независимо** от всех этих изменений состояния организма. Поэтому всасывание инсулина в различные периоды может быть то превышающим потребности организма в нем, то недостаточным. А это вызывает то гипер-, то гипогликемию, а вместе с ними — то увеличение, то уменьшение содержания многих других ингредиентов крови.

Резкие колебания уровня различных ингредиентов крови на протяжении суток, изо дня в день в течение многих месяцев и лет, по-видимому, и оказывают патологическое влияние на сердечно-сосудистую систему, особенно на весьма чувствительные к ним капилляры. Такой вывод подкрепляется следующими данными [32]. Авторы три года систематически исследовали две группы сходных БСД, из которых больные одной группы получали однократно ежедневно длительно действующий инсулин, а другой — то же количество простого инсулина, но разделенного на несколько введений. Через три года у БСД второй группы оказались значительно лучшие обменные показатели и, что особенно важно, вдвое меньшее, чем у БСД первой группы, количество микроаневризм в сетчатке глаз.

Таким образом, несмотря на большую эффективность инсулинотерапии перед исследователями стала задача значительно ее повысить с тем, чтобы довести длительность активной жизни БСД до нормальной и предупредить более частое поражение их сердечно-сосудистой системы, особенно микроангиопатии. Подобного рода исследования проводятся в нескольких направлениях. Одним из них является разработка эффективных методов пересадки БСД нормальной ПЖ и ее островков.

Трансплантация ПЖ. Мысль о замене введения инсулина трансплантацией ПЖ возникла давно. Первые попытки ее осуществления были сделаны в 1927 [22] и 1929 [29] годах. В кратковременных опытах показано, что пересаженная ПЖ выделяет инсулин в соответствии с потребностями организма. Вместе с тем выяснилось, что она вызывает много осложнений, связанных с поступлением в организм панкреатического сока, самоперевариванием ПЖ, тромбозом сосудов, наступающим отторжением ПЖ и другими.

Давно доказано, что перевязка протока ПЖ ведет к атрофии ее экзокринной части при сохранении эндокринной. Но при этом может развиваться отек и воспалительная реакция всей ПЖ, часто она переваривается, либо развивается ее фиброз, включающий и островковую ткань, заканчивающийся латентным или клинически выраженным СД [18, 31]. Поэтому трансплантация ПЖ с перевязанными протоками сочетается с попытками уменьшить ее экзокринную активность. Некоторые авторы отметили благоприятное влияние прямой иррадиации ПЖ с перевязанными протоками, но в большинстве опытов иррадиация оказалась не эффективной. Самопереваривание ПЖ с перевязанными протоками уменьшили введением 5-фторурацила [17], а фиброз ПЖ предупредили введением реципиенту большого количества метилпреднизолона [35, 36]. Эти авторы в дальнейшем полностью затормозили экзокринную функцию ПЖ и накопление панкреатического сока, богатого

амилазой, введением глюкагона. Продукция же инсулина в ПЖ с перевязанным протоком, пересаженной в шею свиньи, сохранилась.

ПЖ пересаживали и без перевязки протока вместе с двенадцатиперстной кишкой, куда и поступал ее сок. Но двенадцатиперстная кишка оторгалась раньше ПЖ и в ней наблюдались кровоизлияния, изъязвления и перфорация.

Более эффективным оказалось выведение главного протока ПЖ во время ее пересадки в мочеточники реципиента [26]. При этом они не повреждались, как и мочевой пузырь, а пересаженная ПЖ у аллоксаново-диабетических и депанкреатизированных собак функционировала свыше трех лет, секретируя инсулин. На внутривенное введение глюкозы и толбутамида такая ПЖ реагировала нормальной секрецией инсулина.

С 1966 до 1976 г. в Национальном институте США по трансплантации зарегистрировано 49 пересадок ПЖ 47 реципиентам, но лишь у одного из них трансплантат функционировал 47 месяцев, а у трех — 10, 12 и 22 месяца [23]. Сосудистосвязанная с организмом ПЖ резко ослабляла нарушения обмена веществ у БСД [24]. Из первых 20 трансплантаций 11 были панкреодуоденальными, проведенными одновременно с пересадкой почки [43].

Вероятными причинами отторжения и смерти больных были частый сепсис и другие осложнения. Двенадцатиперстная кишка часто оторгалась до функционировавшей еще ПЖ. У некоторых БСД раньше оторгалась почка, а затем ПЖ. У каждого из двух пациентов с синхронной трансплантацией ПЖ и почки признаки отторжения появлялись одновременно [38], но более легко они ослаблялись в ПЖ. Длительные наблюдения не обнаружили снижения антигенности ПЖ и ее островков.

Незначительная эффективность одновременной пересадки ПЖ и почки у больных с последней стадией диабетической нефропатии привели к заключению о большей целесообразности разновременной пересадки этих органов [24]. А осложнения при панкреатодуоденальной трансплантации — кровотечения, некроз, перфорация двенадцатиперстной кишки, разрушение дуоденально-энтерального анастомоза — побудили проводить пересадку ПЖ без двенадцатиперстной кишки, но с направлением главного выводного протока ПЖ в мочеточник, через который внешняя секреция ПЖ поступала в мочевой пузырь. Подобный метод трансплантации ПЖ был использован у шести БСД. Одному из них через 145 дней после трансплантации ПЖ пересадили почку. ПЖ полностью удовлетворяла потребности организма в инсулине, нормально реагировала на введение глюкозы. У БСД улучшилось зрение и исчезли жалобы на невропатию [24].

Сегментарную трансплантацию проводили и с выведением главного протока в ретроперитонеальную часть тощей кишки, в петлю Rouxey-Y [9]. У двух больных с функционировавшим трансплантатом внутривенное введение глюкозы вызывало быстрое, хотя и субнормальное увеличение уровня проинсулина и инсулина. Трансплантированная ПЖ нормализовала глюкозурию, глюкозный гомеостаз и быстро обеспечила устранение клинических признаков СД. Есть сведения [25] о течении ювенильного СД у 14 больных с пересаженной ПЖ (у 11 — с тяжелой уремией и СД — им пересадили ПЖ и почку, трем — без уремии, но с тяжелой ретинопатией пересадили лишь ПЖ). Отторжение наступало через одну — восемь недель у трех больных без уремии. У уремических же БСД отторжение наступало через более длительный срок. У одного больного отличная функция ПЖ и нормальный оральный тест толерантности к глюкозе сохранялись более десяти месяцев. После прекращения торможения иммуногенеза наступало отторжение почки и смерть. Важно

отметить, что хроническая уремия ослабляла гистологически обнаруживаемые признаки отторжения. У больных этой серии детально изучали гистологические изменения [16]. В собственной ПЖ оказались увеличенными в объеме островки, в бета-клетках отсутствовали гранулы (то же обнаруживается у диабетических крыс с успешной трансплантацией ПЖ). В ней обнаружено увеличенное количество островков (4% вместо 1,2%), вероятно, вызванное вводимыми всем БСД с трансплантированными ПЖ стероидами. В островках пересаженной ПЖ увеличено отложение гликогена, количество альфа-клеток с большими ядрами и дельта-клеток, много лимфоцитов или плазматических клеток, характерных для классического отторжения. Особенно интересна реакция соединительной ткани: гомогенные ацидофильные отложения в периваскулярной области и обилие амилоида. Автор не обнаружил клеток, ответственных за образование амилоида, но предполагает, что это тучные клетки или атипичные большие клетки в лимфоцитах в юкта-положении. В быстро отторгающихся ПЖ амилоид не обнаружен.

Удивительно, что подавление пиронинофилов при хроническом подавлении иммуногенеза больных, могущем объяснить образование амилоида, касалось только ПЖ, а не других органов. Обсуждается образование амилоида из фибрина. Появление фибрина — выраженный признак отторжения и у неуремических больных. Хорошо известно наличие амилоида в ПЖ БСД, начавшемся в зрелом возрасте, что позволяет предположить значение возвращения СД в развитии отложения амилоида у реципиентов, так как амилоид не описан в других отторгающихся трансплантированных органах. Эти предположения относительно происхождения амилоидных изменений еще требуют подтверждения.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что пересаженная ПЖ обеспечивает устранение клинических симптомов СД и нормализует обмен веществ. Однако сама операция пересадки ПЖ чревата многими осложнениями. Некоторые из них успешно преодолеваются, но самое главное препятствие — тканевую несовместимость и отторжение ПЖ — еще предстоит устранить.

Трансплантация островков ПЖ. Параллельно с разработкой метода пересадки ПЖ выяснялась возможность трансплантации ее островков. Еще в 1951 г. удалось пересадить животным островки, полученные из ПЖ плодов. Небольшое их количество вводили в переднюю камеру глаз, семенники, в сделанный карман шеи и подкожно.

Вначале изучали гистологические изменения в трансплантате, а в двух сообщениях [15, 19] наблюдали уменьшение гипергликемии, но СД не исчезал. В подобных опытах было доказано, что пересаженные островки функционировали [13].

После многих модификаций методов выделения островковой ткани остановились на следующем. Главный выводной проток ПЖ перевязывают, растягивают введенной в него жидкостью, разрушающей экзокринную часть [37]. Затем ПЖ измельчают, а под влиянием переваривания коллагеназой экзокринная часть отделяется от эндокринной [52], 400—600 островков, изолированных из четырех ПЖ были пересажены внутрибрюшинно крысам того же штамма, что и доноры [70]. У таких животных быстро исчезали симптомы СД, но через некоторое время они снова появились. Через год пересадкой таких же островков, помещенных в капсулу со многими порами, устранили обменные нарушения и СД у генетически тучных мышей *ов/ов* [64]. Внутрибрюшной пересадкой 400—600 изолированных островков, полученных от четырех доноров, длительно улучшали течение СД, вызванного введением стрептозотоцина. У животных восстанавливался вес, уменьшалась глюкозурия и гипергликемия

(хотя последняя и ненормализовалась). Вскоре после этого внутрибрюшной трансплантат островков крыс полностью устранил СД у реципиентов [57].

Трансплантированные островки генетически совместимым реципиентам сохранялись нормальными гистологически и функционально, а прежде диабетический уровень сахара крови нормализовался, даже если островки трансплантировали через много месяцев после начала СД. Лишь внутривенная нагрузка глюкозой вызывала слегка ненормальную гипергликемию. Пересаженные островки функционировали несколько дней. Нормогликемический период удлинялся иммунодепрессантами антимфоцитарной сыворотки.

Более эффективной, чем внутрибрюшная трансплантация, оказалась пересадка тщательно очищенных островков в воротную вену [33]. Они эмболизировались в печень и обнаруживались в венах воротной вены. Островки взрослых крыс, лишь частично облегчавшие СД при внутрибрюшном введении, введенные в том же количестве в воротную вену, полностью устранили симптомы СД. Такие результаты объяснялись ослаблением травматизации островков при их введении в воротную вену и тем, что это естественный путь инсулина ПЖ.

Симптомы СД устранились введением островков в правую ветвь воротной вены и восстанавливались после удаления правой доли печени [69]. Они устранились у крыс внутрибрюшинной трансплантацией, но меньшим количеством островков при их введении в воротную вену [46]. Очень важно для клиники, что введение островков в воротную вену, устранявшее СД крыс, не повреждало функций печени: сохранялись нормальными количество билирубина плазмы, время протромбина, активность щелочной фосфатазы и глютамино-щавелевокислой трансаминазы [7].

В 1976 г. сообщили [51] об эффективной пересадке ПЖ в селезенку. ПЖ собак инфильтрировали раствором коллагеназы, извлекали из организма, измельчали, инкубировали с коллагеназой и центрифугировали. Осадок промывали и имплантировали в селезенку того же животного. Такая имплантация проведена семи депанкреатизированным собакам. После 10 дней у всех животных исчезла гипергликемия и не возвращалась более двух месяцев. На оральное введение глюкозы животные реагировали быстро и почти нормально. В течение третьего месяца шесть нормогликемических собак подвергли лапаротомии и спленэктомии. Во время операции в селезеночной вене определяли больше инсулина, чем в нижней полой вене. В селезенке морфологически обнаруживали экзокринную и эндокринную ткань ПЖ. После спленэктомии у животных быстро развивалась тяжелая гипергликемия и они погибали.

Селезенка, по-видимому, устойчива к экзокринной ткани с незначительным содержанием пищеварительных ферментов. О благоприятном влиянии на СД пересадки островков в селезенку сообщили и другие авторы [35].

Выяснилась возможность получать относительно чистые препараты островков по определению в них отношения инсулина к белкам и к амилазе. Изолированные островки синтезировали инсулин и проинсулин и выделяли разное количество инсулина на приток к ним разного количества глюкозы. Они синтезировали и глюкагон и его предшественник большого молекулярного веса [54].

Для компенсации не функционирующей эндокринной ПЖ важно получать не только функционально полноценные островки, но и **достаточное** их количество.

Адекватное количество островков для эффективной компенсации дефицита инсулина. Для эффективного воздействия на СД крыс необходимо вводить 400—600 и больше островков, добываемых, обычно из ПЖ четырех доноров. В 1976 г. установили [34], что для эффективной нормализации обменных процессов у крыс с СД, вызванным стрептозотоцином, и для их последующего поддержания необходимо пересадить как минимум, 2—3 островка на 1 г веса тела реципиента. Из ПЖ же взрослой крысы получается 200—400 островков [61]. Много их разрушается при длительном пребывании измельченной ПЖ в инкубационной среде с коллагеназой, необходимой для изолирования островков. Для уменьшения, ослабления их переваривания коллагеназой операцию разделения экзокринной и эндокринной части ПЖ стали проводить в особом сите с множеством пор, через которые островки просеивались по мере их высвобождения [62]. Такая техника позволила получить из ПЖ двух крыс терапевтически эффективное количество островков для одной крысы. Подобный метод выделения островков оказался удачным даже из фиброзной ПЖ обезьян и людей. Особенно ободряющим является сообщение о том, что СД резус обезьян, вызванный удалением 70% ПЖ и введением 65 мг/кг стрептозотоцина, может быть частично облегчен введением в воротную вену количества островков, полученных лишь у одной обезьяны [62].

Внутрибрюшным введением изолированных островков свиней частично улучшали диабетическое состояние и удлинляли переживание тотально депанкреатизированных поросят, но длительного переживания не достигали [65].

Относительную неэффективность трансплантации островков у выших животных объясняют трудностью получения их, а быстрота и интенсивность лечебного действия пересаженных островков зависит от достаточного их количества.

Использование ПЖ плода и новорожденных. Изолирование островков у тех и других протекает значительно легче, чем у взрослых, у которых много островков переваривается в процессе изоляции, а в остающихся значительно уменьшается содержание инсулина. Изолированные островки содержат 1—50% нормального количества инсулина взрослых людей [53], в среднем лишь 5%. Поэтому пришли к заключению, что использование коллагеназы для изолирования островков из ПЖ взрослых не обеспечивает получения достаточного их количества, и необходимо уменьшить время пребывания ПЖ в среде с коллагеназой; кроме того, пытались повысить эффективность с помощью культивирования их в разных средах. Наконец, остановились на использовании ПЖ плодов животных и новорожденных. Их ПЖ, сравнительно с ПЖ взрослых животных, содержит мало экзокринных клеток и много эндокринных: 1 г ткани ПЖ новорожденных крыс содержит 537 мг островков, а взрослых — лишь 162. Более важно, что ПЖ новорожденных содержит очень мало амилазы — 0,04 мг, а взрослых — 14,2 мг. Таким образом, индекс инсулина/амилаза в ПЖ новорожденных крыс в 37 раз больше, чем в ПЖ взрослых [46]. ПЖ плодов и новорожденных легче измельчается и переваривается коллагеназой, чем ПЖ взрослых. Хотя содержание инсулина после измельчения и переваривания ПЖ новорожденных уменьшается до 27%, но индекс инсулин/амилаза в ней остается еще в девять раз выше, чем в ПЖ взрослых крыс.

Инфузия островков в воротную вену взрослым изогенным реципиентам от минимально двух новорожденных крыс значительно улучшала диабетическое состояние. Такой результат обнаруживается, даже если трансплантат содержит менее 7% нормального количества инсулина.

Таким образом, ПЖ новорожденных является идеальным источником островков [45, 67]. Островков одного животного достаточно для эффективного воздействия на СД одной крысы.

При некоторых ситуациях островки плода менее антигенны, чем островки взрослых, могут обладать большей потенцией роста после трансплантации и лучше переносят период ишемии или культивирования до трансплантации [42]. Представлен обзор данных [42], полученных при пересадке аллоксаново-диабетическим животным островков плода и новорожденных. Сначала трансплантация просто измельченной ПЖ не устраняла СД. Он устранялся после внутрибрюшного введения ПЖ, переваренной коллагеназой, даже не освобожденной от ацинарной ткани. Для устранения СД крыс и достижения нормального орального теста толерантности к глюкозе понадобилось около 20 мг неонатальной островковой ткани, а 5 мг ее вызывали нормогликемию, но тест толерантности к глюкозе оставался ненормальным. 40 мг островков вызывали супернормальный тест толерантности к глюкозе с лишь очень короткой гипергликемией после нагрузки глюкозой. Большие дозы островков вызывали более быстрое устранение СД. После введения 40 мг островков уровень сахара нормализовался в первую неделю, а после введения 5 мг их — лишь через четыре недели. Леонардс выделил из брюшной полости, куда вводили островки, бета-клетки с гранулами инсулина вместе с жировой тканью. Трансплантация ПЖ новорожденных не вызывала никаких повреждений организма.

Трансплантация неонатальных островков устраняла СД и он длительное время не восстанавливался. Другим преимуществом их или островков плода являлось обнаружение митотических фигур, свидетельствующих о потенции роста молодых островков [40, 41].

Культивирование ПЖ и ее островков. Представлена серия тщательно проведенных экспериментов для определения роста, дифференцировки и трансплантируемости культивированных ПЖ плода [28]. ПЖ морфологически незрелая в отношении накопления инсулина извлекалась из плода в последний период беременности. При помещении в инкубационную среду эти островки созревают. Инсулин связывается с гранулами, а нормальные островки реагируют секрецией инсулина на изменение концентрации глюкозы в среде. В течение десятидневного пребывания в инкубационной среде масса островков увеличивается в 25 раз в результате деления бета-клеток, а также, вероятно, вследствие дифференцировки протоковых элементов в этих клетках. Соответственно сильно уменьшается ацинарная ткань, о чем свидетельствуют структурные изменения и содержание амилазы. Таким образом, в процессе культивирования происходит «очищение» ПЖ.

При пересадке крысам островков, «накопленных» в инкубационной среде за четыре дня под капсулу почки или в переднюю камеру глаза, функция островков сохранялась до 10 дней. Хотя пересаживалось лишь 2% нормального количества островков взрослых крыс, у 62% аллоксаново-диабетических реципиентов отмечалось частичное улучшение. У 50% реципиентов островковая масса в течение 10 дней после трансплантации увеличилась. В дальнейшем все же трансплантат отторгался.

Процесс культивирования островков не ослабляет эффекта лечения ими СД у генетически совместимых реципиентов [28]. Неонатальную ПЖ культивировали, затем размельчали и переваривали коллагеназой и вводили внутрибрюшинно изологическим диабетическим крысам. 78% их становилось нормогликемическими через пять и больше недель. При пересадке более 12 мг островков животные нормализовались в 2,5 недели, но при пересадке 10 мг их удлинялся латентный период улучшения

состояния диабетических животных. Это интерпретируется как указание на необходимость доведения роста трансплантируемых островков до критической массы.

Приведенные данные ясно показывают, что ПЖ плода может сохраняться в культуре определенный период, в течение которого увеличивается масса островков, а ацинарная ткань атрофируется. Культивированные островки функционируют после их пересадки и в соответствующем количестве устраняют аллоксановый СД [28].

Сходные данные получены и другими авторами [47], которые показали, что культивирование в определенной среде ПЖ взрослых животных уменьшает количество пищевых ее ферментов, а количество островков сохраняется. Культивирование ПЖ позволяет увеличить выход из нее изолированных островков. Те же авторы [45] добились эффективных результатов у крыс со стрептозотоциновым СД введением в воротную вену островков крыс (двух), переваренных коллагеназой за 40 мин, а в дальнейшем островками неонатальных доноров, переваренных за 1,5—2 мин. В этих опытах для лечения СД достаточно было около 6,5% нормального количества островков ПЖ взрослых крыс [46].

Измельченная фракция ПЖ собаки может стать эффективной после кратковременной культивации. Специфические условия культивации, включая добавление ингибиторов протеолитических ферментов и агентов, избирательно повреждающих экзокринную ткань, ведут к исчезновению пищеварительных энзимов и не нарушает функций островков. Аутотрансплантация через воротную вену такой фракции ПЖ через 24 ч после частичной депанкреатизации и введения стрептозотоцина привела к нормогликемии и обеспечила длительную жизнь собак реципиентов. Контрольные же собаки погибли вскоре после развившегося у них СД. В других опытах трансплантация культивированной фракции ПЖ собакам, ставшим диабетическими после тотальной депанкреатизации, нормализовала их гликемию и оральный тест толерантности к глюкозе в течение всего периода до наступления отторжения — через 2 нед после пересадки ПЖ [45].

Островки культивированных фрагментов ПЖ обезьян при их стимуляции *in vitro* выделяют инсулин. Будучи трансплантированы через воротную вену, они улучшают диабетическое состояние животных [30].

Все признаки СД устранили пересадкой ПЖ крысиного плода под капсулу почки реципиента [14]. Пересадка трансплантата под капсулу почки производится легче, чем в воротную вену.

Разрабатываются методы изоляции островков из ПЖ взрослых людей с помощью переваривания ее коллагеназой с ингредиентом *Ficoll* [55], но более эффективным оказалось изолирование островков из ПЖ детей. Во-первых, она содержит очень мало пищеварительных ферментов, а во-вторых, в ней находится относительно много инсулина. Изолировали островки из ПЖ ребенка, подвергшегося субтотальной депанкреатизации по поводу функциональной островковоклеточной гиперплазии ПЖ [10].

Островки, полученные из ПЖ детей, пересадили семи иммунодепрессантным БСД, которым до этого пересадили почку в связи с конечной стадией диабетической нефропатии [45]. Пересаживалось относительно малое количество островков внутримышечно, внутрибрюшинно и в воротную вену. Они не вызывали отторжения пересаженной почки и различных осложнений ни у одного больного. Однако ни у одного из них не было и существенного улучшения течения СД. Отмечалось преходящее уменьшение потребности в инсулине (на две недели или два месяца) у

шести больных, у одного — потребность в инсулине уменьшилась с 72 до 32 ед к 17 месяцу после трансплантации. Несущественная эффективность пересаженных островков у БСД объясняется тем, что как и у животных, для адекватной эффективности необходимо пересаживать достаточное количество островков (как выше упоминалось, для крыс 2—3 на 1 г веса тела). Следует вместе с тем отметить, что при пересадке большего количества островков развивается и сильная реакция отторжения.

Описаны попытки использовать для получения островков ПЖ трупа взрослого человека [65]. Изолированные островки ПЖ трупа взрослого человека помещали в культуру ткани на одну — три недели. Электронномикроскопически выяснили хорошее сохранение бета- и альфа-клеток. После недельного пребывания в культуре ткани островки потребляли постоянное количество кислорода при концентрации глюкозы 3,3 ммоль и значительно его увеличивали при повышении концентрации глюкозы до 16,7 ммоль. Соответственно увеличивалась и секреция инсулина и уменьшалась секреция глюкагона. Островки, находившиеся в культуре ткани одну — три недели, включали ^3H лейцин в проинсулин. Остается исследовать, как такие островки будут функционировать в организме людей-реципиентов [8].

Терапевтические свойства островков ПЖ. Выше приводились данные о влиянии островков на организм БСД. При введении достаточного их количества они оказывают выраженный антидиабетический эффект у мышей с наследственным СД [64, 21], у крыс и мышей, собак, свиней, обезьян и у людей с тяжелым СД, даже в последней его стадии с почечной уремией. Успешная трансплантация островков нормализует уровень в плазме глюкозы, липидов, оральный тест толерантности к глюкозе, восстанавливает вес, уменьшает полидипсию, полиурию, полифагию и удлиняет жизнь. Но пока еще пересаженные островки далеко не полностью компенсируют нефункционирующие свои. Так, у диабетических крыс 450—600 пересаженных островков каждой из них обеспечивают натошак нормальный уровень сахара крови (но не на протяжении суток), нормализуют в сыворотке крови количество иммунореактивного инсулина, но не полностью нормализуют в течение 4—10 нед полиурию, полидипсию, толерантность к нагрузке глюкозой [56]. Нормализация последних параметров достигается более быстро у больных легким СД или при трансплантации 500—600 островков вместо 350—400.

Реципиенты островков ненормально реагируют на двухчасовое стрессовое воздействие, вызывающее повышение уровня сахара крови на 60% [56]. Их трансплантированные островки на внутривенное введение глюкозы секретируют ненормально увеличенное количество инсулина в I фазу и во II даже в отсутствие стрессового состояния [56]. Автор объясняет такую реакцию бета-клеток отсутствием автономной иннервации изолированных островков и, возможно, большей чувствительностью к секреции катехоламинов, тормозящих секрецию бета-клеток, а также увеличением активности альфа-клеток. Некоторые ненормальные реакции реципиентов с пересаженными островками на стресс и (или) нагрузку глюкозой могут вызываться недостаточным количеством островков и, возможно, неблагоприятным влиянием на них гепатоцитов. Внутривенные островки подвергаются действию ненормально высокой концентрации глюкозы, аминокислот, кетоновых тел и кишечных стимуляторов секреции. Внутривенное введение островков извращает секрецию инсулина, минуя воротную вену и печень. В нее поэтому поступает ненормально низкая концентрация инсулина. В результате создается необычная ситуация влияния инсулина трансплантированных островков на организм.

Для устранения перечисленных ненормальностей в реакции организма с пересаженными островками разрабатываются более совершенные способы добывания островков с минимальным их повреждением, пересаживают большее их количество, разрабатываются более совершенные способы консервации и культивирования островков. Установлено, что островки выделяют инсулин в ответ на приток глюкозы в течение 48 ч изоляции. Островки тучных мышей штамма *ов/ов* секретируют инсулин на приток глюкозы при 8°С до 5 нед. Островки, находящиеся в тканевой культуре до девяти дней, сохраняют свойство нормально реагировать на приток глюкозы в течение нескольких недель. Пересаженные диабетическим крысам, они значительно улучшают их состояние [28]. Однако другие авторы [60] нашли, что изолированные островки взрослых крыс, находившиеся в культуре ткани от двух до трех недель, слабее чем свежие улучшают состояние СД реципиентов. Как выше сообщалось, изолированные островки ПЖ человека, находившиеся в культуре ткани до трех недель, *in vitro* сохраняли свои функции [8].

Наиболее важен вопрос о влиянии трансплантации островков на так называемые **вторичные повреждения**, развивающиеся при СД. У животных с вызванным или натуральным СД развиваются повреждения почек, глаз примерно, через шесть месяцев. Эти повреждения напоминают повреждения этих органов при СД людей [20]. В мезангиуме почек увеличивается отложение веществ, способствующих развитию склероза клубочковых сосудов почек, а также иммунофлюоресцентных макромолекул (IgG, IgM, β -1c) [48]. Кроме того, обнаруживается васкуляризация канальцев и гиалинизация артериол [20, 68].

Трансплантация островков через шесть—девять месяцев после вызванного СД стабилизирует повреждения почек или вызывает постепенное их регрессирование [49, 50]. С помощью иммунофлюоресцентной микроскопии обнаружено, что отложение больших макромолекул прогрессивно исчезает при увеличении количества циркулирующего инсулина и понижении уровня глюкозы в плазме [49, 50].

Такие же данные получены и другими авторами [66]: после успешной пересадки островков иммунофлюоресцентные изменения быстро исчезают, у половины крыс мезангиальные повреждения подвергаются обратному развитию и ни у одной крысы они не прогрессируют. Обратному развитию подверглось поражение Киммелштилля — Уилсона в почке ВСД, пересаженной недиабетическому больному с поврежденными почками [58]. Подобные опыты проведены на диабетических крысах, которым трансплантировали островки вскоре после вызванного у них СД, до появления вторичных повреждений. У животных этой серии они не обнаруживались, а у крыс без трансплантации островков они развились в течение девяти месяцев после начала СД [27]. У диабетических животных без трансплантации островков кроме того капилляры сетчатки расширились, а у подвергшихся трансплантации — они не расширялись [49, 50, 66].

Очень интересные данные получены при длительном изучении влияния трансплантации ПЖ аллоксановодиабетическим крысам [55]. Им быстро пересаживалась ПЖ, под влиянием которой исчезала гипергликемия, увеличивалось количество ИРИ в сыворотке крови, нормализовались показатели веса и роста, и животные стали практически здоровыми. У них кроме того не развились обширные и тяжелые повреждения диабетического характера почек, глаз и нервов на протяжении двух лет. У контрольных же животных, без пересадки островков, они развились в течение 18 месяцев.

После удаления трансплантата у всех животных быстро появились обменные нарушения, характерные для СД.

Одинаково эффективно влияли на диабетических животных панкреатодуоденальная трансплантация и пересадка ПЖ с перевязанным протоком.

Описанные результаты подтверждают предположение, что развивающиеся после воспроизведения СД повреждения обусловлены не теми же агентами, которые вызывают СД, а вторичны к нему [39].

Таким образом, пересадка ПЖ и ее островков диабетическим животным не только устраняет обменные нарушения, но и предупреждает или ведет к обратному развитию часто обнаруживаемые у них сосудистые повреждения.

Антигенность островков ПЖ. Сначала полагали, что антигенность островков такая же, как яичников и околощитовидной железы, но вскоре [57] выяснилось, что островки, тщательно освобожденные от переваривающей коллагеназы, трансплантированные подкожно или внутрибрюшинно, повышают чувствительность крыс-реципиентов к последующему тесту кожного лоскута. Следовательно, островки ПЖ вовсе не являются привилегированной в отношении антигенности тканью. Более того, они подвергаются отторжению даже легче, чем трансплантаты кожи или целые органы, вероятно, потому, что островки, как и трансплантируемые клетки костного мозга, высокочувствительны к отторжению, будучи диссоциированными суспензированными клетками. Трудно исключить и возможность даже минимальных примесей к островкам ацинарной ткани или лейкоцитов.

Вследствие сильной гистологической несовместимости островки трудно приживляются даже при использовании иммунодепрессантной техники, рекомендованной для аллогraftов кожи, почек или сердца. Хотя атилимфоцитарная сыворотка удлиняет переживание аллогraftов островков, все же успех достигается лишь при определенной комбинации штаммов доноров и реципиентов [57].

Попытки доказать, что БСД обладают меньшей способностью к отторжению пересаженных островков ПЖ и почек также не увенчались успехом. Больше того, у них пересадки островков и почек сопровождаются более частыми осложнениями и менее длительно функционируют, чем у недиабетических организмов. К таким же результатам привели и многочисленные пересадки островков людям БСД: вскоре после пересадки значительно уменьшается потребность в инсулине, например, с 96 до 30 ед, но через несколько недель потребность в нем начинает нарастать вследствие начала отторжения островков.

Так как островки очень антигенны и чувствительны к действию антител к ним, то интенсивно разрабатываются методы понижения антигенности островков и ослабления чувствительности к ней реципиентов, разрабатываются методы, предохраняющие их от действий антител (специальные камеры, в которых они пересаживаются, и места пересадок, в которых островки лучше приживаются и менее подвержены действию антител).

Многочисленные попытки удлинить переживаемость аллотрансплантатов-семенников, яичников, щитовидной и околощитовидной желез, а также островков ПЖ культивированием их в различных средах пока не привели к существенным результатам [12]. Надежда на благоприятный эффект культивирования в отношении иммуногенности или повреждаемости островков пока не оправдалась. Лишь один способ предупреждает отторжение островков — превращение несовместимости донора и реципиента в иммунотолерантность введением при рождении клеток костного

мозга доноров будущим реципиентам их островков ПЖ. Их СД во взрослом состоянии успешно лечится аллогенными островками и без иммунодепрессантов.

* * *

Достигнутые успехи в изучении проблемы трансплантации вообще и в частности — пересадка ПЖ и ее островков позволяет надеяться на то, что и в дальнейшем удастся преодолеть еще большие трудности на этом пути [59].

Трансплантация островков существенно нормализует диабетический обмен веществ, предупреждает повреждение в диабетическом организме почек, глаз и нервов и способствует их обратному развитию в клубочках почек диабетических животных.

Предстоит выяснить, **почему** повреждаются сосуды, особенно капилляры, при дефиците инсулина и **как** пересаженные островки действуют на них.

Предстоит разработать 1) более производительный метод получения островком из ПЖ; 2) метод ослабления антигенности их без повреждения гормональной их функции; 3) методы, ослабляющие действие на пересаженные островки антител реципиентов и 4) показания и противопоказания для пересадки островков БСД.

Л и т е р а т у р а

1. Генес С. Г. Сахарный диабет. М., 1963, с. 1—378.
2. Генес С. Г. Углеводно-белковый обмен при сахарном диабете.— В кн.: Актуальные проблемы диабетологии. Под ред. Е. А. Васюковой. М., 1972, с. 24—61.
3. Генес С. Г. Диабетическая капилляропатия и ее патогенез.— Вестник офтальмологии, 1972, № 4, с. 83—87.
4. Генес С. Г. Сахарный диабет.— В кн.: Руководство по эндокринологии. М., 1973, с. 300—378.
5. Albisser M. A. e. a. An artificial endocrine pancreas.— *Diabetes*, 1974, 23, p. 389—395.
6. Albisser M. A. e. a. Clinical control of diabetes by the artificial pancreas.— *Diabetes*, 1974, 23, p. 397—404.
7. Amamoo D. G. e. a. Effect of intrahepatically implanted islets of Langerhans on hepatofunction in the rat.— *Mayo Clin. Res.*, 1965, 50, p. 410.
8. Anderson A. e. a. [цит. по 45].
9. Arner P. [цит. по 45].
10. Aschroft S. J. G. e. a. Isolation of human pancreatic islets capable of releasing insulin and metabolizing glucose in vitro.— *Lancet*, 1971, N 1, p. 888—889.
11. Ballinger W. F., Lacy P. E. Transplantation of intact pancreatic islets in rats.— *Surgery*, 1972, 72, p. 175—186.
12. Barker C. F. Transplantation of the islets of Langerhans and histocompatibility of tissue.— *Diabetes*, 1975, 24, p. 766—776.
13. Brooks J. R. Endocrine transplantation. Kugelman I. N. Ed. Springfield — III. Ch. C. Thomas, 1962, p. 3—103.
14. Brown J. e. a. Fetal pancreas transplantation for reversal of streptozotocin induced diabetes in rats.— *Diabetes*, 1975, 56—64.
15. Browning H., Resnik P. Homologous and heterologous transplantation in pancreatic tissue in normal and diabetic mice.— *Yale j. biol. and med.*, 1951, 24, p. 141—152.
16. Carpenter A. M. [цит. по 25].
17. Castellanos J. e. a. Consistent protection from pancreatitis in canine pancreas allografts treated with 5-fluorouracil.— *J. surg. res.*, 1975, 18, p. 305—311.
18. Dragsted L. K. Some physiologic problems in surgery of the pancreas. *Amer. Surg.*, 1960, 172, p. 405—436.
19. Du Bois A. M., Conet A. Effects de la greffe de pancréas foetale sur la glycémie et la régénération de islets de Langerhans de rats alloxanisés ou pancratomisés.— *Acta anat. (Basel)*, 1960, 41, p. 336—338.
20. Editorial review. Glomerula disease in diabetes.— *Lancet*, N 2, p. 1403—1404.
21. Cates R. J. e. a. Return to normal of blood-glucose, plasma insulin and weight gain in New Zealand obese mice after implantation of islets of Langerhans.— *Lancet*, 1972, N 2, p. 567—570.

22. Gayet R., Gaillumie M. La régulation de la sécrétion interne pancréasique par un processus humoral, d émontrée par des transplantation de pancreas. Experiences sur des animaux normaux.— C. r. soc. biol. (Paris), 1927, **97**, p. 1603—1614.
23. Gliedman M. [цит. по 45].
24. Gliedman M. e. a. Pancreatic transplantation.— Transplant. proc., 1975, **7**, 93—98.
25. Goetz F. Histocompatibility of endocrine tissue.— Diabetes, 1975, **24**, p. 767—768.
26. Gold M. e. a. Evaluation of ureteral drainage for pancreatic exocrine secretion.— Surg. forum, 1972, **23**, p. 375—377.
27. Gray B. N., Watkins S. Prevention of vascular complication of diabetes by pancreatic islet transplantation.— Arch. surg., 1976, N 11, p. 254—257.
28. Hegre O. B. [цит. по 12].
29. Houssay B. A. Technique de la lffé pancreaticoduodenale au cou. C. r. soc. biol. (Paris), 1929, **100**, p. 138—140.
30. Huss G., Reynolde W. A. Viability of primate pancreatic fragments and islets in vitro (Abstr.).— Anat. rec., 1976, **184**, p. 433.
31. Idezuki Y. e. a. Late effect of pancreatic duct ligation on beta cell funrtion.— Amer. j. Surg., 1969, **117**, p. 33—39.
32. Job D. e. a. Effect of multiple daily insulin injections on the course of diabetic retinopathy.— Diabetes, 1976, **25**, p. 463—469.
33. Kemp C. B. e. a. Effect of transplantation site on results of pancreatic islet isografts in diabetic rats.— Diabetologia, 1973, **9**, p. 486—491.
34. Koncz L. e. a. Quantitative aspects of the metabolic response to pancreatic islet transplantation in rats with severe ketotic diabetes.— Metabolism, 1976, **25**, p. 147—152.
35. Koncz L. e. a. Transplantation of pancreatic islets into the spleen of diabetic rats and subsequent splenectomy.— Transplantation, 1976, **21**, p. 427—429.
36. Kyriakides G. K. e. a. Porcine pancreatic transplantation.— J. Surg. Res., 1976, **20**, p. 451—466.
37. Lacy P. E., Kostinovskiy M. Method for the isolation on intact islets of Langerhans from rat pancreas.— Diabetes, 1967, **16**, p. 35—39.
38. Larlaider F. e. a. Pancreas rejection in combinat pancreaticoduodenal and renal allo-transplantation in man.— Transplantation, 1975, **19**, p. 185—187.
39. Lee C. S. e. a. Renal transplantation in diabetes mellitus in rats.— J. exp. med., 1974, **139**, p. 793—800.
40. Leonard R. J. e. a. Pancreatic transplantation in the rat.— Diabetes, 1973, **22**, p. 413—428.
41. Leonard R. J. e. a. Islet cell transplantation. Kidney Int. 1974, **6**, (Suppl. 1), p. 169—178.
42. Leonard R. J. e. a. Characteristics and possible advantages of fetal islets.— In: Transplantation of the islets of Langerhans and the histocompatibility of endocrine tissue.— Diabetes, 1975, **24**, p. 770.
43. Lillehei R. G. e. a. Pancreaticoduodenal allotransplantation. Experimental and clinical experience.— Ann. Surg., 1970, **172**, p. 405—436.
44. Lillehei R. C. e. a. Current state of pancreatic allotransplantation.— Transplant. proc., 1971, **3**, p. 318—324.
45. Matas A. J. e. a. Current status of islet and pancreas transplantation in diabetes.— Diabetes, 1976, **25**, p. 785—798.
46. Matas A. J. e. a. Islet transplantation using neonatal ras pancreata. Quantitative studies.— J. Surg. Res., 1976, **20**, p. 143.
47. Matas A. J. e. a. Short term culture of adult pancreatic fragments for purification and transplantation of islets of Langerhans.— Surgery, 1976, **80**, p. 183—191.
48. Mauer S. M. e. a. Spontaneous immunoglobulin and complement deposition in glomeruli in diabetic rats.— Lab. Invest., 1972, **27**, p. 488—494.
49. Mauer S. M. e. a. Pancreatic transplantation. Effects on the glomerular lesions of experimental diabetes in the rat.— Diabetes, 1974, **23**, p. 748—753.
50. Mauer S. M. e. a. Studies on the rate of regression of the glomerular lesions in diabetic rats treated with pancreatic islet transplantation.— Diabetes, 1975, **24**, p. 280—285.
51. Mirkowith V., Campiche M. Successful intrasplenic autotransplantation on pancreatic tissue in totally pancreatectomized dogs.— Transplantation, 1976, **21**, p. 265—270.
52. Moskalewcki S. Isolation and culture of the islets of Langerhans of the guinea pig.— Gen. Comp. Endocrinol., 1965, **5**, p. 34—53.
53. Najarian J. S. e. a. Isolation of human islets of Langerhans for transplantation.— Transplantation proc., 1975, **7**, (Suppl. 1), p. 611—613.
54. Noe B. D. e. . Glucagon biosynthesis in human pancreatic islets. Preliminary evidence for a biosynthetic intermediate.— Hormone and Metabol. Res., 1975, **7**, p. 314—322.
55. Orloff M. J. e. a. Long term studies of pancreas transplantation in experimental diabetes mellitus.— Ann. Surg., 1975, **182**, p. 198—206.
56. Pippeler D. Physiologic capaci of transplanted islets of Langerhans.— Diabetes, 1975, **24**, p. 769.