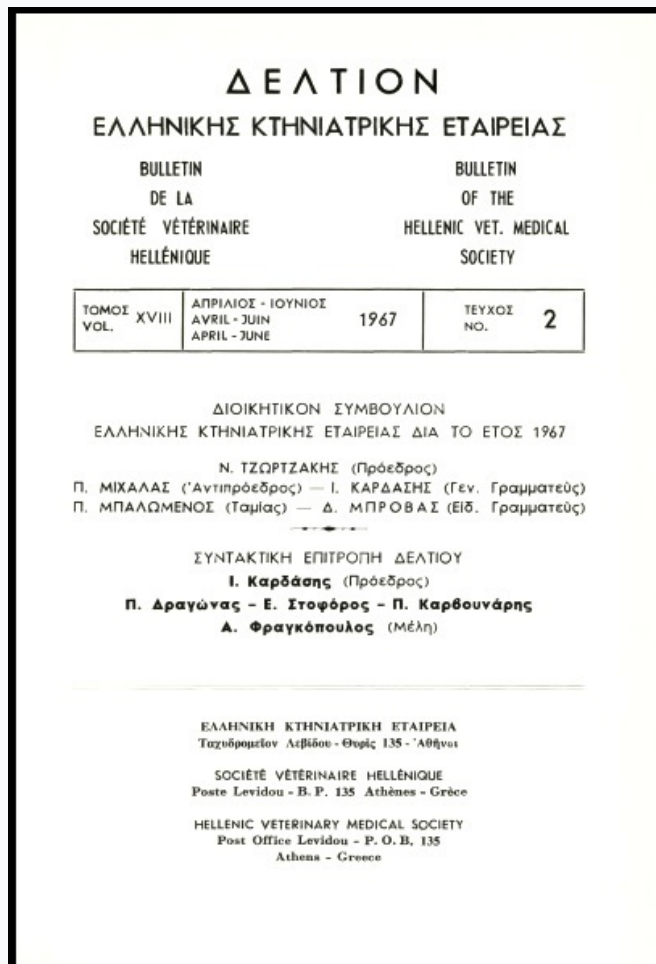


# Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 18, No 2 (1967)



## ΕΡΕΥΝΑ ΕΠΙ ΤΗΣ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΟΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΕΩΣ ΣΥΝΤΕΤΗΡΗΜΕΝΩΝ ΝΕΦΡΩΝ ΜΟΣΧΟΥ ΔΙ' ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΑΤΑ

Π. ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ, Ι. ΚΑΡΔΑΣΗΣ, Χ. ΠΑΠΠΟΥΣ

doi: [10.12681/jhvms.18828](https://doi.org/10.12681/jhvms.18828)

Copyright © 2018, Π.ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ Ι.ΚΑΡΔΑΣΗΣ Χ.ΠΑΠΠΟΥΣ



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

### To cite this article:

ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ Π., ΚΑΡΔΑΣΗΣ Ι., & ΠΑΠΠΟΥΣ Χ. (1967). ΕΡΕΥΝΑ ΕΠΙ ΤΗΣ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΟΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΕΩΣ ΣΥΝΤΕΤΗΡΗΜΕΝΩΝ ΝΕΦΡΩΝ ΜΟΣΧΟΥ ΔΙ' ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΗΜΑΤΑ. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 18(2), 68–80. <https://doi.org/10.12681/jhvms.18828>

νετο καταμέτρησις τών κυττάρων, ώς ἔχει ἤδη ἔκτεθῆ εἰς προηγουμένην ἔργασίαν μας (18), μετὰ καταστροφὴν τοῦ κυτταροπλάσματος διὰ κιτρικοῦ ὀξέος καὶ διὰ χρώσεως τών πυρήνων διὰ κρυσταλλικοῦ ἰώδους (20).

4) Ἡ ἀλλαγὴ καὶ ἡ μόλυνσις τών ἱστοκαλλιεργείων ἐγένετο πάντοτε τὴν 7ην ἡμέραν, ὁ δὲ ἴος συνελέγετο τὴν 18ην ὥραν καὶ ἐτιτλοποιεῖτο διὰ τῆς μεθόδου τών πλακῶν ἐπὶ φιαλῶν μετὰ προσθήκης μεθυλκυτταρίνης εἰς τὸ ὑλικὸν ἐπικαλύψεως τοῦ ταπητίου (21).

Εἰς ὅλους τοὺς πειραματισμοὺς κατεβλήθη πᾶσα δυνατὴ προσπάθεια, ὥστε εἰς τὸ αὐτὸ πείραμα νὰ χρησιμοποιοῦνται νεφροὶ τοῦ αὐτοῦ ζώου διὰ τὴν καλυτέραν σύγκρισιν τών ἀποτελεσμάτων (π.χ. εἷς νεφρὸς μετὰ λίπους καὶ εἷς ἄνευ λίπους).

Ἐπίσης ἕκαστον πείραμα περιελάμβανε τούλάχιστον πέντε ἐπὶ μέρους ταυτοσήμους πειραματισμοὺς, τὸ δὲ τελικὸν ἀποτέλεσμα ἐκφράζει τὸν μέσον ὄρον τών ἐπὶ μέρους ἀποτελεσμάτων, τὰ ὁποῖα ἄλλωστε δὲν ἀφίσταντο πολὺ ἀλλήλων, ὥστε ν' ἀλλοιώνουν τὸ τελικὸν ἀποτέλεσμα.

## II ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κατὰ τοὺς γενομένους πειραματισμοὺς διηρευνήθησαν τὰ ἑξῆς θέματα :

1. Ἡ ἐπίδρασις τοῦ χρόνου συντηρήσεως τών νεφρῶν εἰς  $+4^{\circ}\text{C}$  ἐπὶ τῆς ἀποδόσεως αὐτῶν εἰς ζῶντα κύτταρα, ἐν συναρτήσει πρὸς τὴν μέθοδον θρυψινίσεως καὶ τὴν παρουσίαν ἢ μὴ περινεφρικοῦ λίπους κατὰ τὴν συντήρησιν.

2. Ἡ κινητικὴ ἀναπτύξεως τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου τῶν ὑπὸ τὰς ἀνωτέρω συνθήκας λαμβανομένων κυττάρων σποράς, εἰς διαφόρους χρόνους συντηρήσεως τών νεφρῶν.

3. Ὁ χρόνος ἐπιβιώσεως ἐν ψυγείῳ ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) τών νεφρικών κυττάρων μόσχου.

### ΠΕΙΡΑΜΑ I

#### ΕΠΙΔΡΑΣΙΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΣΥΝΤΗΡΗΣΕΩΣ ΤΩΝ ΝΕΦΡΩΝ ΕΠΙ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ ΑΥΤΩΝ ΕΙΣ ΖΩΝΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Ἐμελετήθη ἡ ἀπόδοσις τοῦ νεφρικοῦ ἱστοῦ εἰς ζῶντα κύτταρα, εἰς διαφόρους χρόνους συντηρήσεως τών νεφρῶν, ἥτοι εἰς 0-24-48-96 καὶ 120 ὥρας, ἐν συσχετισμῷ πρὸς τὴν μέθοδον θρυψινίσεως καὶ τὴν παρουσίαν ἢ μὴ τοῦ λιπώδους περιβλήματος τών νεφρῶν, κατὰ τὰς πρώτας 24 καὶ 48 ὥρας τῆς συντηρήσεως των.

Τὰ ἀποτελέσματα τῆς ἐρεῦνης ταύτης ἔχουσι καταχωρηθῆ εἰς τὸν πίνακα I, ὅπου δύναται τις νὰ παρακολουθήσῃ τὴν ἀριθμητικὴν

καί εκατοστιαίαν μείωσιν τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ζώντων κυττάρων κατὰ τοὺς διαφόρους χρόνους συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, ὡς καί τὰς διαπιστωθείσας διαφορὰς εἰς τὴν ἀπόδοσιν τοῦ νεφρικοῦ ἴστου κατὰ τὴν ἐν θερμῷ καὶ ἐν ψυχρῷ θρυψίνισιν, ἔτι δὲ καὶ κατὰ τὴν συντήρησιν τῶν νεφρῶν μετὰ ἢ ἄνευ περινεφρικοῦ λίπους.

Οἱ ἀριθμοὶ κυττάρων τοῦ πίνακος ἀνάγονται εἰς ἑκατομμύρια ζώντων κυττάρων, ἅτινα κατεμετρήθησαν εἰς 0,4 ml κυτταρικοῦ ἰζήματος.

Ὡς βάσις συγκρίσεως διὰ τὴν ἑκατοστιαίαν μείωσιν τοῦ ἀριθμοῦ τῶν κυττάρων, κατὰ τοὺς διαφόρους χρόνους τῆς συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, ἐλήφθη ἡ ἀπόδοσις τοῦ νεφρικοῦ ἴστου τῶν ἀύθημερόν χρησιμοποιηθέντων νεφρῶν ἐν θερμῷ καὶ ἐν ψυχρῷ.

Εἰς ἑτέραν στήλην γίνεται σύγκρισις τῆς ἀποδόσεως τοῦ νεφρικοῦ ἴστου, ἀναλόγως τῆς μεθόδου θρυψίνισεως (ἑκατοστιαία ἀναλογία νεφρικών κυττάρων ληφθέντων κατὰ τὴν ἐν ψυχρῷ θρυψίνισιν ἔναντι τῶν ληφθέντων κατὰ τὴν ἐν θερμῷ θρυψίνισιν ἀύθημερόν).

Ἐκ τῆς μελέτης τοῦ πίνακος I προκύπτουν τὰ κάτωθι :

### **1ον. Ἀπόδοσις τοῦ νεφρικοῦ ἴστου εἰς ζώντα κύτταρα κατὰ τοὺς διαφόρους χρόνους συντηρήσεως τῶν νεφρῶν.**

Λαμβάνοντες ὡς βάσιν τὴν ἀπόδοσιν εἰς ζώντα κύτταρα τοῦ νεφρικοῦ ἴστου κατὰ τὴν ἀύθημερόν χρησιμοποίησιν τῶν νεφρῶν, παρατηροῦμεν ὅτι ἡ ἀπόδοσις αὕτη μειοῦται προοδευτικῶς διὰ τοὺς νεφροὺς τοὺς συντηρηθέντας μέχρι τῆς 72ας ὥρας (3 ἡμερ.). Ἀπὸ τῆς 4ης ἡμέρας (120 ὥρας) τῆς συντηρήσεως τῶν νεφρῶν παρατηρεῖται ἀπότομος μείωσις τοῦ ἀριθμοῦ τῶν λαμβανομένων ἐκ τούτων ζώντων κυττάρων, ἥτις μείωσις καθιστᾷ τοὺς νεφροὺς ἀκαταλλήλους δι' ἱστοκαλλιέργειαν.

### **2ον. Ἐπίδρασις τῆς μεθόδου τῆς θρυψίνισεως ἐπὶ τῆς ἀποδόσεως τοῦ νεφρικοῦ ἴστου εἰς ζώντα κύτταρα.**

Ἐκ τῆς συγκρίσεως τῶν ἀριθμῶν, οἱ ὁποῖοι περιλαμβάνονται εἰς τὰς ἀντιστοίχους στήλας τοῦ πίνακος, προκύπτει ὅτι διὰ τῆς ἐν θερμῷ θρυψίνισεως τοῦ νεφρικοῦ ἴστου ἐπιτυγχάνεται μεγαλύτερα ἀπόδοσις αὐτοῦ εἰς ζώντα νεφρικά κύτταρα.

Οὕτω, κατὰ τὴν ἄμεσον (ἀύθημερόν) θρυψίνισιν τῶν νεφρῶν ἐν θερμῷ, εἰς 0,4 ml κυτταρικοῦ ἰζήματος ἔχομεν 33,7 ἑκατ. κυττάρων, ἐνῶ κατὰ τὴν ἐν ψυχρῷ ταυτόχρονον θρυψίνισιν ἔχομεν 29,6 ἑκ., ἥτοι 87,8 %.

Ἀνάλογοι διαφοραὶ παρουσιάζονται καὶ διὰ τὰς ἄλλας περιπτώσεις θρυψίνισεως τοῦ νεφρικοῦ ἴστου ἐν θερμῷ καὶ ἐν ψυχρῷ, μετὰ συντήρησιν τῶν νεφρῶν ἐπὶ 24,48,72,96 καὶ 120 ὥρας, καθὼς

επίσης και εις τὰς περιπτώσεις ὅπου ἡ συντήρησις τῶν νεφρῶν ἐγένετο μετὰ τοῦ περινεφρικοῦ αὐτῶν λίπους καὶ ἄνευ τούτου (συντήρησις ἐπὶ 24 καὶ 48 ὥρας).

Εἰς τὴν πραγματικότητα ἡ διαφορὰ ἀποδόσεως τῶν δύο μεθόδων θρυψίνσεως εἶναι μᾶλλον φαινομενική, καθόσον ἡ μεταξὺ τῶν δύο μεθόδων σύγκρισις δέον νὰ γίνεται μὲ διαφορὰν 24 ὥρων, αἱ ὁποῖαι ἀπαιτοῦνται διὰ τὴν ἐν ψυχρῷ θρυψίνισιν.

Ἐὰν δὲ λάβωμεν ὑπ' ὄψιν μας καὶ τὰ περιθώρια τῶν φυσιολογικῶν λαθῶν τῶν διαφόρων καταμετρήσεων, εὐρίσκομεν ὅτι δὲν ὑπάρχουν οὐσιώδεις διαφοραὶ εἰς τὴν ἀπόδοσιν τοῦ νεφρικοῦ ἱστοῦ μὲ τὰς δύο μεθόδους θρυψίνσεως.

### 3ον. **Ἐπίδρασις τοῦ περινεφρικοῦ λίπους ἐπὶ τῆς συντηρήσεως τῶν νεφρῶν.**

Κατὰ τὰ χρονικὰ ὅρια (24 καὶ 48 ὥρας), καθ' ἃ ἐγένετο σύγκρισις τῆς ἀποδόσεως τῶν νεφρῶν τῶν συντηρηθέντων μετὰ καὶ ἄνευ περινεφρικοῦ λίπους, τόσον κατὰ τὴν ἐν θερμῷ θρυψίνισιν ὅσον καὶ κατὰ τὴν ἐν ψυχρῷ τοιαύτην, διαπιστοῦται μίᾳ ἠὺξημένην σχετικῶς ἀπόδοσιν τῶν συντηρηθέντων μετὰ περινεφρικοῦ λίπους νεφρῶν, ἥτοι 31,1 ἐκατ. (θρυψίνισις ἐν θερμῷ) καὶ 28,8 (θρυψίνισις ἐν ψυχρῷ), μετὰ συντήρησιν, μετὰ λίπους, 24 ὥρων, ἔναντι 28 ἐκ. καὶ 25 ἐκ., μετὰ συντήρησιν 24 ὥρων τῶν νεφρῶν ἄνευ λίπους.

Μετὰ 48 ὥρον συντήρησιν τῶν νεφρῶν, αἱ ὡς ἄνω τιμαὶ πίπτουν ἀντιστοίχως εἰς 28 ἐκ., 28,8 καὶ 24,2 ἐκ.

## ΠΕΙΡΑΜΑ II

### ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΕΩΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΑΠΗΤΙΟΥ ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΑΣ ΣΥΝΤΗΡΗΣΕΩΣ ΚΑΙ ΘΡΥΨΙΝΙΣΕΩΣ ΤΩΝ ΝΕΦΡΩΝ

Ἡ κινητικὴ ἀναπτύξεως τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου, ἥτοι ὁ πολλαπλασιασμός τῶν κυττάρων εἰς τὰ ἱστοκαλλιεργήματα, ἐμελετήθη κατὰ τὰς διαφόρους ἡμέρας τῆς καλλιεργείας, ἐν συναρτήσει πρὸς τὴν προέλευσιν καὶ τὸν τρόπον λήψεως τῶν κυττάρων σπορᾶς (χρόνος συντηρήσεως νεφρῶν, μετὰ ἢ ἄνευ λίπους, μέθοδος θρυψίνσεως).

Τὰ σχετικὰ ἀποτελέσματα ἔχουν καταχωρηθῆ εἰς τὸν πίνακα II καὶ ἀρίστανται γραφικῶς διὰ τοῦ διαγράμματος Α.

Ὡς ἔχει ἀποδειχθῆ καὶ εἰς προηγουμένην ἡμῶν ἀνακοίνωσιν (18), τὸ ποσοστὸν σπορᾶς τῶν κυττάρων εἰς τὰ ἱστοκαλλιεργήματα μειοῦται κατὰ τὰς 3 πρώτας ἡμέρας τῆς καλλιεργείας καὶ μόνον ἀπὸ τῆς 3ης πρὸς τὴν 4ην ἡμέραν σημειοῦται σταθερὰ καὶ προοδευτικὴ αὔξησις τῶν καλλιεργηθέντων κυττάρων, τῶν ὁποίων ὁ ἀριθμὸς κατὰ τὴν βῆν ἡμέραν ἐγγίζει τὸν ἀριθμὸν τῶν κυττάρων σπορᾶς.

Τὸ γενικὸν τοῦτο φαινόμενον ἐπιβεβαιούται καὶ εἰς τὴν παρουσίαν ἐργασίαν, ὑπ' οἴασδῆποτε συνθήκας καὶ ἂν ἐλήφθησαν τὰ νεφρικὰ κύτταρα σπορᾶς, ἥτοι διὰ θρυψίνσεως τοῦ νεφρικοῦ ἴστοῦ ἐν θερμῷ ἢ ἐν ψυχρῷ, ὡς καὶ μετὰ συντήρησιν τῶν νεφρῶν, κατὰ διάφορα χρονικὰ διαστήματα, μετὰ ἢ ἄνευ περινεφρικοῦ λίπους.

Ἐξετάζοντες ἤδη ἀναλυτικώτερον τὴν ἀνάπτυξιν τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου κατὰ τὴν 7ην ἡμέραν τῆς ἱστοκαλλιέργειας, ὡς τοῦτο προκύπτει ἐκ τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ἀναπτυχθέντων καὶ καταμετρηθέντων κυττάρων εἰς ἐκάστην φιάλην Roux, διαπιστοῦμεν τὰ κάτωθι :

### **1. Σχέσις μεταξύ χρόνου συντηρήσεως τῶν νεφρῶν καὶ ἀναπτύξεως τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου.**

Κατὰ γενικὴν διαπίστωσιν, ὁ ἀριθμὸς τῶν ἀναπτυσσομένων κυττάρων κατὰ τὴν 7ην ἡμέραν τῆς ἱστοκαλλιέργειας, εὐρισκόμενος ἐν στενῇ σχέσει πρὸς τὸ ποσοστὸν τῶν κυττάρων σπορᾶς καὶ συνεπῶς πρὸς τὴν ἀπόδοσιν τοῦ νεφρικοῦ ἴστοῦ εἰς ζῶντα κύτταρα, μειοῦται μὲ τὸν χρόνον συντηρήσεως τῶν νεφρῶν. Ἡ μείωσις αὕτη εἶναι προοδευτική, ὅταν τὰ κύτταρα σπορᾶς προέρχωνται ἐκ νεφρῶν συντηρηθέντων μέχρις 72 ὥρων, κατὰ τὴν ἐν θερμῷ θρυψίνισιν, καὶ μέχρι 48 ὥρων, κατὰ τὴν θρυψίνισιν ἐν ψυχρῷ.

Ἐπειδὴ ἡ τελευταία, ὡς ἐλέχθη, ἀπαιτεῖ καὶ ἑτέρας 24 ὥρας συντηρήσεως τοῦ νεφρικοῦ ἴστοῦ καὶ τῶν κυττάρων, εἰς τὴν πραγματικότητα ἀποδεικνύεται ὅτι ἡ προοδευτικὴ αὕτη μείωσις τῶν ἀναπτυσσομένων κυττάρων εἰς τὰς ἱστοκαλλιέργειας παρατηρεῖται ὅταν τὰ κύτταρα σπορᾶς προέρχωνται ἐκ νεφρῶν συντηρηθέντων μέχρις 72 ὥρων.

Μετὰ τὸ χρονικὸν τοῦτο ὄριον συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, σημειοῦται μία ἀπότομος πτώσις εἰς τὸν ἀριθμὸν τῶν ἀναπτυσσομένων κυττάρων εἰς τὰ ἱστοκαλλιεργήματα, μέχρι σημείου, ὥστε μετὰ τὴν 96ην ὥραν τῆς συντηρήσεως νὰ μὴν ὑπάρχη ἀνεπτυγμένον κυτταρικὸν ταπήτιον, ἐξ οὗ νὰ εἶναι δυνατὴ ἡ καταμέτρησις κυττάρων.

Οἱ ἐπιτυχανόμενοι ἀριθμοὶ κυττάρων εἰς τὰ ἱστοκαλλιεργήματα ἀνά φιάλην Roux, 23,2 ἐκ., εἰς τὴν περίπτωσιν τῆς ἐν θερμῷ θρυψίνσεως νεφρῶν συντηρηθέντων ἐπὶ 72 ὥρας, καὶ 23,8 ἐκ., κατὰ τὴν ἐν ψυχρῷ θρυψίνιν νεφρῶν συντηρηθέντων ἐπὶ 48 ὥρας (πλέον 24 ὥραι συντηρήσεως τῶν κυττάρων ἐν ψυγείῳ), ἀντιστοιχοῦν εἰς καλὴν ἀνάπτυξιν κυτταρικοῦ ταπητίου, ὡς τοῦτο διαπιστοῦται καὶ διὰ τῆς ὑπὸ τὸ μικροσκόπιον ἐξετάσεως τῶν φιαλῶν Roux, καθὼς καὶ ἐκ τοῦ τίτλου τοῦ συλλεγέντος ἰοῦ, ἐκπεφρασμένου εἰς PFU.

Κατὰ συνέπειαν, δυνάμεθα νὰ συμπεράνωμεν ὅτι ἡ ἀπόδοσις εἰς ζῶντα κύτταρα, τόσον κατὰ τὴν σποράν, ὅσον καὶ κατὰ τὴν 7ην ἡμέραν τῆς ἱστοκαλλιέργειας, εἶναι ἱκανοποιητικὴ, ἐφ' ὅσον ἡ συντήρη-

σις τῶν νεφρῶν δὲν ὑπερβαίνει τὰς 72 ὥρας, διὰ θρυψίνισιν ἐν θερμῷ, καὶ τὰς 48 ὥρας, διὰ θρυψίνισιν ἐν ψυχρῷ.

Εἰς τὴν τελευταίαν ταύτην περίπτωσιν εἶναι δυνατὸν νὰ ἀναπτυχθῇ καλὸν καὶ πλήρες ταπήτιον περὶ τὴν 10ην ἡμέραν, γεγονός δυσχεραῖνον ἐνίοτε τὸν ὀμαλὸν ρυθμὸν ἐργασίας, πλὴν ὅμως διευκολύνον τοὺς διαγνωστικοὺς σκοποὺς τοῦ Ἰδρύματος.

## **2. Ἐπίδρασις τῆς μεθόδου θρυψίνισεως ἐπὶ τῆς τελικῆς ἀναπτύξεως τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου.**

Ὡς ἐμφαίνεται εἰς τὸν πίνακα II, διὰ τῆς λήψεως τῶν κυττάρων σπορᾶς διὰ θρυψίνισεως τοῦ νεφρικοῦ ἱστοῦ ἐν θερμῷ, εἰς ὅλας τὰς περιπτώσεις καὶ ὑπὸ τὰς αὐτὰς προϋποθέσεις χρόνου συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, μετὰ ἢ ἄνευ περινεφρικοῦ λίπους, ἡ κινητικὴ ἀναπτύξεως τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου παρουσιάζεται πλέον ὀμαλῆ.

Ὁ ἐπιτυγχανόμενος ἀριθμὸς κυττάρων, εἰς ἐκάστην φιάλην Roux, τὴν 7ην ἡμέραν τῆς ἱστοκαλλιέργειας, ὑπὸ τὰς διαφόρους συνθήκας τοῦ πειραματισμοῦ, εἶναι συγκριτικῶς μεγαλύτερος. Συνεπῶς, ἡ ἐν θερμῷ θρυψίνισις τοῦ νεφρικοῦ ἱστοῦ δέον νὰ προτιμᾶται, ἐφ' ὅσον αἱ συνθήκαι ἐργασίας τὸ ἐπιτρέπουν (χρόνος ἀφίξεως νεφρῶν, ὠρᾶριον προσωπικοῦ κλπ).

Ἐν τούτοις, δέον νὰ τονισθῇ ὅτι ἐν τῇ πράξει καὶ ἀναλόγως τῆς ποιότητος τῶν νεφρῶν συχνάκις ἐπιτυγχάνεται καλὴ ἀνάπτυξις ταπητίου καὶ διὰ τῆς ἐν ψυχρῷ θρυψίνισεως τῶν νεφρῶν. Μία μικρὰ ἐνίοτε καθυστέρησις, μέχρις 24 ὡρῶν, εἰς τὴν ἀνάπτυξιν τοῦ ταπητίου, εἰς τὴν περίπτωσιν ταύτην ἀντιστοιχεῖ εἰς τὸν πρόσθετον χρόνον, τὸν ὁποῖον ἀπαιτεῖ ἡ τοιαύτη ἐν ψυχρῷ θρυψίνισις.

## **3. Ἐπίδρασις τῆς παρουσίας τοῦ περινεφρικοῦ λίπους κατὰ τὴν συντήρησιν τῶν νεφρῶν ἐπὶ τῆς τελικῆς ἀναπτύξεως τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου.**

Ἐξαιρέσει τῆς περιπτώσεως τῆς ἐν θερμῷ θρυψίνισεως νεφρῶν, συντηρηθέντων ἄνευ περινεφρικοῦ λίπους ἐπὶ 24ωρον, ὅπου, κατὰ τὴν 7ην ἡμέραν τῆς ἱστοκαλλιέργειας, κατεμετρήθη ἐλαφρῶς ἀνώτερος ἀριθμὸς κυττάρων (33 ἑκατ. ἔναντι 32,7 ἑκατομ. διὰ τοὺς μετὰ περινεφρικοῦ λίπους συντηρηθέντας κατὰ τὸν αὐτὸν χρόνον νεφρούς), εἰς ὅλας τὰς ἄλλας περιπτώσεις καὶ ὑπὸ τὰς αὐτὰς λοιπὰς συνθήκας πειραματισμοῦ, ὁ ἀριθμὸς τῶν ἀναπτυχθέντων κυττάρων, κατὰ τὴν 7ην ἡμέραν τῆς ἱστοκαλλιέργειας, εἰς ἐκάστην φιάλην Roux, εὐρέθῃ σχετικῶς μεγαλύτερος, ὅταν τὰ κύτταρα σπορᾶς προήρχοντο ἐκ νεφρῶν συντηρηθέντων μετὰ τοῦ λιπώδους αὐτῶν περιβλήματος.

Αἱ ὡς ἄνω διαφοραὶ εἰς τοὺς ἀριθμοὺς τῶν ἀναπτυχθέντων κυττάρων, κατὰ τὸν αὐτὸν χρόνον συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, μετὰ καὶ

άνευ περινεφρικού λίπους, δέν κρίνονται ούσιώδεις, καθόσον εύρίσκονται εἰς τὰ πλαίσια τῶν φυσιολογικῶν λαθῶν κατὰ τὰς καταμετρήσεις. Ἐν τούτοις, αἱ διαφοραὶ αὗται κρίνονται ἐνδεικτικαὶ τουλάχιστον ὡς πρὸς τὴν ἀρνητικὴν πλευρὰν τοῦ θέματος, τουτέστιν ὅτι ἡ παρουσία τοῦ περινεφρικοῦ λίπους, κατὰ τὴν συντήρησιν τῶν νεφρῶν, δέν ἐπηρεάζει δυσμενῶς οὔτε τὴν ἀπόδοσιν τοῦ νεφρικοῦ ἱστοῦ εἰς ζῶντα κύτταρα οὔτε τὸ ἀναπτυχθῆσόμενον τελικῶς ἐκ τῶν κυττάρων τούτων ταπήτιον.

### **Λοιμογόνος τίτλος ἰοῦ συλλογῆς**

Ἡ μέχρι τοῦδε ἐκτεθεῖσα ἐργασία θά ἔστερεῖτο ἀσφαλῶς σημασίας, ἐάν δέν συνωδεύετο καὶ ὑπὸ τοῦ προσδιορισμοῦ τοῦ τίτλου τοῦ παραχθέντος εἰς ἐκάστην περίπτωσιν ἰοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ ἐπὶ τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων. Ὅθεν, ὡς ἐμφαίνεται εἰς τὸν Πίνακα II, ὁ τίτλος τοῦ παραχθέντος ἰοῦ ἐξ ἱστοκαλλιεργημάτων νεφρῶν συντηρηθέντων ἀπὸ 0-72 ὥρας, προσδιορισθεὶς διὰ τῆς μεθόδου τῶν πλακῶν εἰς φιάλας Brockway (21), ἐκυμαίνεται ἀπὸ  $6,8 \times 10^8$  ἕως  $1,2 \times 10^7$  κυτταροπαθογόνους μονάδας σχηματισμοῦ πλακῶν (P.F.U) κατὰ ml. Ὁ τίτλος οὗτος κρίνεται γενικῶς ὡς ἀπολύτως ἱκανοποιητικὸς διὰ τὴν χρησιμοποίησιν τοῦ ἰοῦ δι' ἐμβολιοπαραγωγὴν.

Ἐπὶ τῶν ἱστοκαλλιεργημάτων ἐκ νεφρῶν συντηρηθέντων ἐπὶ 96 καὶ 120 ὥρας οὐδεμία προσπάθεια καλλιέργειας ἰοῦ ἐγένετο, λόγω τῆς ἀτελοῦς ἢ μηδαμινῆς ἀναπτύξεως τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου.

Συνεπῶς καὶ διὰ τὴν παραγωγὴν καλῆς ποιότητος ἰοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ, οἱ μέχρις 72 ὥρων συντηρηθέντες εἰς  $+4^{\circ}\text{C}$  νεφροὶ ἀποδεικνύονται κατάλληλοι.

### **ΠΕΙΡΑΜΑ III**

#### **ΠΟΣΟΣΤΟΝ ΕΠΙΒΙΩΣΕΩΣ ΝΕΦΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΟΣΧΟΥ ΛΗΦΘΕΝΤΩΝ ΔΙΑ ΘΡΥΨΙΝΙΣΕΩΣ ΕΝ ΘΕΡΜῶ ΚΑΙ ΕΝ ΨΥΧΡῶ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΘΕΝΤΩΝ ΕΙΣ $+4^{\circ}\text{C}$ ΕΠΙ 24-96 ΩΡΑΣ**

Συναφῆς πρὸς τοὺς σκοποὺς τῆς προηγουμένης πειραματικῆς ἐργασίας, τὸ κατωτέρω πείραμα ἀποβλέπει εἰς τὸν προσδιορισμὸν τοῦ ποσοστοῦ ἐπιβίωσης νεφρικῶν κυττάρων μόσχου, ληφθέντων διὰ θρυψίνισεως ἐν θερμῷ καὶ ἐν ψυχρῷ καὶ συντηρηθέντων εἰς  $+4^{\circ}\text{C}$ , ἐντὸς ὑποστρώματος Hanks ἀναπτύξεως καὶ συντηρήσεως ἐπὶ 24, 48, 72 καὶ 96 ὥρας.

Ἴνα διευκολυνθῇ τὸ ἔργον τῆς καταμετρήσεως τῶν κυττάρων, ἰδίως μετὰ τὴν συντήρησιν αὐτῶν ἐπὶ 72 καὶ 96 ὥρας, προετιμήθη ἡ ποσότης τῶν 0,6 ml κυτταρικοῦ ζήματος (ἀντὶ 0,4 ml, ὅπερ ἐλαμβάνετο προηγουμένης διὰ τὰς ἱστοκαλλιεργείας).

Κατά τὴν πειραματικὴν ταύτην ἔρευναν, μετὰ τὴν θρυψίνισιν τοῦ νεφρικοῦ ἰστοῦ καὶ τὴν φυγοκέντησιν, ἐλαμβάνετο ἡ ὡς ἄνω ποσότης 0,6 ml κυτταρικοῦ ἰζήματος, ἣτις προσετίθετο εἰς 100 ml Hanks ἀναπτύξεως (περιέχον 10% ὄρου μόσχου). Ἡ αὐτὴ ποσότης κυττάρων προσετίθετο εἰς ἑτέραν φιάλην, ἐντὸς 100 ml Hanks συντηρήσεως (μὴ περιέχοντος ὄρου μόσχου). Ἀμφότερα τὰ ἐναιωρήματα ἐτοποθετοῦντο ἐντὸς ψυγείου (+ 4° C).

Ἄνὰ 24 ὥρον, ἐξ ἐκάστου ἐναιωρήματος, μετὰ ἀνάδευσιν, ἐλαμβάνετο ποσότης 4 ml, ἐπὶ τῆς ὁποίας ἐγένετο ἡ καταμέτρησις τῶν ζώντων κυττάρων.

Συνολικῶς, ἐκ τῶν αὐτῶν νεφρῶν, ἐσχηματίζοντο 4 ἐναιωρήματα κυττάρων, ὡς κάτωθι :

α) 2 ἐκ τῆς ἐν θερμῷ θρυψινίσεως (ἐν ἐντὸς Hanks ἀναπτύξεως καὶ ἐν ἐντὸς Hanks συντηρήσεως), καὶ

β) 2 ἐκ τῆς ἐν ψυχρῷ θρυψινίσεως (ἀνὰ ἐν ὡς ἄνω).

Τὰ ἀποτελέσματα τῆς ἐν προκειμένῳ ἐρεύνης παρίστανται γραφικῶς διὰ τοῦ διαγράμματος Β. Ἐξ αὐτοῦ προκύπτει ὅτι διὰ τῆς προσθήκης 10% ὄρου μόσχου εἰς τὸ ὑλικὸν συντηρήσεως Hanks (ὕλικὸν ἀναπτύξεως), ἐπιτυγχάνεται καλυτέρα συντήρησις τῶν νεφρικῶν κυττάρων εἰς τοὺς + 4° C.

Τὸ ποσοστὸν ἐπιβιώσεως τῶν οὕτω συντηρουμένων κυττάρων εἶναι ἀρκούντως ἱκανοποιητικὸν καὶ κατάλληλον διὰ σποράν καὶ ἱστοκαλλιέργειαν μέχρι καὶ τὴν 72αν ὥραν τῆς συντηρήσεως, διὰ τὰ ἐν θερμῷ θρυψινισθέντα κύτταρα, μέχρι δὲ τὴν 24ην ὥραν τῆς συντηρήσεως, ὅταν ἡ θρυψίνισις ἐγένετο ἐν ψυχρῷ. Ἡ ἀπουσία ὄρου μόσχου ἐκ τοῦ ὑλικοῦ Hanks περιορίζει τὰ ἀνωτέρω χρονικὰ ὄρια ἀντιστοίχως κατὰ 24 τουλάχιστον ὥρας. Συνεπῶς ἀποδεικνύεται ὅτι καλυτέρα συντήρησις τῶν κυττάρων ἐπιτυγχάνεται διὰ τῆς ἐν θερμῷ θρυψινίσεως καὶ διὰ τῆς προσθήκης ὄρου μόσχου εἰς τὸ ὑλικὸν συντηρήσεως.

Ἡ πρακτικὴ σημασία τοῦ πειράματος ἔγκειται εἰς τὸ γεγονός ὅτι διὰ τῆς συντηρήσεως τῶν κυττάρων, ἐν ψυγείῳ, διευκολύνεται πολλὰκις ἡ ἐργασία εἰς τὸ Ἴδρυμα, ἐνῶ, ἀφ' ἑτέρου, εἶναι δυνατὸς ὁ ἀνεφοδιασμὸς δι' ἐτοιμῶν πρὸς καλλιέργειαν κυττάρων ἐτέρων ἐργαστηρίων διαγνώσεων.

## Σ Υ Ζ Η Τ Η Σ Ι Σ

Αἱ αὐξουσαι ὁσμῆραι δυσχέρειαι εἰς τὸν ὀμαλὸν ἀνεφοδιασμὸν τοῦ Ἰνστιτούτου διὰ νεφρῶν μόσχων καὶ ἡ ἔλλειψις σχετικῆς βιβλιογραφίας μᾶς ἤγαγον εἰς μίαν προκαταρκτικὴν ἔρευναν πρὸς ἐπίλυσιν τοῦ ἀνακύψαντος προβλήματος.

Ἐκ τῆς πρώτης ταύτης σειρᾶς τῶν πειραμάτων προκύπτει σαφῶς



ὅτι εἶναι δυνατὴ ἡ χρησιμοποίησις δι' ἱστοκαλλιεργήματα συντετηρημένων νεφρῶν μόσχου ἢ καὶ θρυψινισθέντων νεφρικῶν κυττάρων.

1. Κατὰ τὰς γενομένης δοκιμᾶς ἢ συντήρησις τῶν νεφρῶν ἐγένετο ἐντὸς Hanks B.S.S. καὶ εἰς θερμοκρασίαν  $+4^{\circ}\text{C}$ .

Ὑπὸ τὰς συνθήκας αὐτάς εὐρέθη ὅτι οἱ νεφροὶ εἶναι κατάλληλοι δι' ἱστοκαλλιεργεῖαν, τόσον ἀπὸ ἀπόψεως ἀποδόσεως εἰς ζῶντα κύτταρα ὅσον καὶ ἀπὸ πλευρᾶς ἱκανότητος ἀναπτύξεως ταπητίου ὑπὸ τῶν κυττάρων τούτων, μέχρις 72 ὥρας, διὰ θρυψίνισιν ἐν θερμῷ καὶ μέχρι 48 ὥρας, διὰ θρυψίνισιν ἐν ψυχρῷ. Δεδομένου δὲ ὅτι ἡ ἐν ψυχρῷ θρυψίνισις συνεπάγεται 24ωρον ἐπὶ πλέον συντήρησιν τῶν κυττάρων, δυνάμεθα νὰ θεωρήσωμεν ὅτι αἱ 72 ὥραι ἀποτελοῦν τὸ ἀνώτατον ὄριον, τὸ ὁποῖον δύναται νὰ μεσολαβήσῃ ἀπὸ τῆς λήψεως τῶν νεφρῶν μέχρι τῆς θέσεως τῶν κυττάρων ἐν καλλιεργείᾳ. Ἐντὸς τοῦ χρονικοῦ τούτου ὁρίου τῶν 72 ὥρων εἶναι δυνατόν νὰ πραγματοποιηθῇ ἡ μεταφορὰ τῶν νεφρῶν ἐκ τῶν πλέον μεμακρυσμένων σφαγείων τῆς χώρας, ὡς καὶ ἡ θρυψίνισις των.

Ἡ ἐν θερμῷ θρυψίνισις τοῦ νεφρικοῦ ἱστοῦ, ἀποδίδουσα σχετικῶς μεγαλύτερον ἀριθμὸν ζώντων κυττάρων καὶ συντελοῦσα εἰς καλύτεραν ἀνάπτυξιν κυτταρικοῦ ταπητίου, δεόν νὰ προτιμᾶται, ἐφ' ὅσον αἱ συνῆκαι ἐργασίας τὸ ἐπιτρέπουν (ἔγκαιρος ἄφιξις νεφρῶν, ὠρᾶριον προσωπικοῦ, παρεμβολὴ ἄλλων ἐργασιῶν κλπ).

Εἰς τὴν παροῦσαν ἐργασίαν διηρευνήθη ἐπίσης καὶ ἡ ἐπίδρασις τοῦ περινεφρικοῦ λίπους ἐπὶ τῆς συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, μὴ διαπιστωθείσης οὐσιώδους τινος διαφορᾶς εἰς τὴν ἀπόδοσιν εἰς κύτταρα καὶ εἰς τὴν ἀνάπτυξιν κυτταρικοῦ ταπητίου, μεταξὺ τῶν συντετηρημένων μετὰ καὶ ἄνευ τοῦ περινεφρικοῦ λίπους νεφρῶν.

Τὸ γεγονός τοῦτο διευκολύνει τὰ μέγιστα τὴν λήψιν τῶν νεφρῶν ἐκ διαφόρων σφαγείων, εἰς ἃ δὲν εἶναι δυνατόν νὰ πραγματοποιηθῇ ἐπιτοπίως καὶ ὑπὸ ἀσήπτου συνθήκας ἢ ἀφαίρεισις τοῦ περινεφρικοῦ λίπους τῶν νεφρῶν.

2. Αἱ δυνατότητες συντηρήσεως τῶν θρυψινισθέντων νεφρικῶν κυττάρων εἰς  $+4^{\circ}\text{C}$  ἐξαρτῶνται κυρίως ἐκ τῆς παρουσίας ὠρισμένων συστατικῶν εἰς τὸ ὑλικὸν συντηρήσεως καὶ ἐκ τῆς ἐφαρμοσθείσης μεθόδου θρυψίνισεως τοῦ νεφρικοῦ ἱστοῦ.

Καλὴ συντήρησις τῶν νεφρικῶν κυττάρων, ἦτοι μὲ ἱκανοποιητικὸν ποσοστὸν ἐπιβιώσεως, διεπιστώθη μέχρι τῆς 72ας ὥρας, διὰ τῆς χρησιμοποίησεως ὡς ὑλικοῦ συντηρήσεως Hanks ἀναπτύξεως (περιέχοντος 10% ὄρου μόσχου) καὶ διὰ τῆς θερμῆς θρυψίνισεως τῶν νεφρῶν, ὀλίγον μετὰ τὴν λήψιν των ἐκ τοῦ ζώου.

3. Τὰ πορίσματα τῶν ἐρευνῶν μας ἀφίστανται βεβαίως, εἰς πολλὰ σημεῖα, τῶν γνωστῶν δεδομένων τῆς συντηρήσεως ὀργάνων (π.χ. διὰ μεταμοσχεύσεις), καθὼς καὶ τῶν πορισμάτων

της ἐν προίμῳ τῆς παρούσης ἀναφερθείσης σχετικῆς ἐργασίας τῶν ἀμερικανῶν συγγραφέων Burke καὶ Luginbuhl (15).

Εἰς τὴν πραγματικότητα αἱ διαφοραὶ εἶναι φαινομενικαί, καθόσον εἰς μὲν τὴν πρώτην περίπτωσιν πρόκειται περὶ ἐντελῶς διαφόρου θέματος, εἰς δὲ τὴν δευτέραν περίπτωσιν αἱ συνθηκαὶ ἐργασίας καὶ ἰδίως ὁ τρόπος ἐκφράσεως τῶν ἀποτελεσμάτων ὑπῆρξαν διάφοροι τῶν ἡμετέρων.

Οὕτω τὸ κύτταρον, ὡς τὸ μελετοῦμεν ἐνταῦθα, μετὰ τὴν θρυψίνισιν τοῦ ἱστοῦ καὶ εἰς τὴν ἱστοκαλλιέργειαν, ἀποτελεῖ ἀνεξάρτητον ὀργανικὴν μονάδα, μίαν αὐτοδύναμον ὑπαρξιν, ἡ ὁποία ἔχει ἀρκούντως διαφοροποιηθῆ (ἀπώλεια ὀργανώσεως εἰς ἱστούς, πολλαπλασιασμός καὶ ἀνάπτυξις εἰς ὁμοιογενεῖς πληθυσμούς). Συνεπῶς τὸ ἐλεύθερον κύτταρον δέν πρέπει νὰ συγχέεται μὲ τὸ ὀργανωμένον εἰς ἱστούς καὶ ὄργανα, ὅπου ὑπάρχει ἐν ἑνιαίῳ σύνολον, ὑποκειμένον εἰς πλείστας ὄσας ἐπιδράσεις.

Καθ' ὅτι ἀφορᾷ τοῦς Ἀμερικανούς συγγραφεῖς, οἱ ὁποῖοι «μετ' ἐκπλήξεως» διεπίστωσαν καλὴν ἀνάπτυξιν κυτταρικοῦ ταπητίου ἐκ νεφρῶν ληφθέντων 18-24 ὥρας μετὰ τὴν σφαγὴν τῶν ζῶων καὶ συντηρηθέντων ἐπὶ 6 καὶ 10 ἡμέρας, σημειοῦμεν ὅτι ἡ συντήρησις τῶν νεφρῶν ἐγένετο ἐντὸς Hanks μὲ 15% ὄρου μόσχου, ἡ κυτταροκαλλιέργεια ἐντὸς σωλῆνων καὶ τὸ ἀποτέλεσμα ταύτης ἠλέγχετο μικροσκοπικῶς. Εἰς τὴν παροῦσαν ἔρευναν ἐφροντίσαμεν νὰ μὴν ἀπομακρυνθῶμεν ἐκ τῶν συνθηκῶν ἐργασίας ἐν τῷ Ἰδρύματι, ὥστε τὰ πορίσματά μας νὰ ἔχουν πρακτικὴν ἐφαρμογὴν. Ὑπὸ τὸ πνεῦμα αὐτὸ προτιθέμεθα νὰ συνεχίσωμεν τὰς ἐρεῦνας εἰς τὸν εἰδικὸν τοῦτον τομέα, τὸν ὁποῖον ἔχομεν ἀναλάβει εἰς τὸ Ἰδρυμά μας.

### ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Διηρευνήθη ἡ ἀπόδοσις τοῦ νεφρικοῦ ἱστοῦ εἰς ζῶντα κύτταρα, εἰς διαφόρους χρόνους συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, ἐντὸς Hanks B.S.S. εἰς  $\Theta^{\circ} + 4^{\circ} \text{C}$ , ἐν συσχετισμῷ πρὸς τὴν παρουσίαν περινεφρικοῦ λίπους, κατὰ τὴν συντήρησιν, καὶ τὴν μέθοδον θρυψίνισεως.

2. Ἀπεδείχθη ὅτι κατὰ τὴν ὡς ἄνω συντήρησιν τῶν νεφρῶν, ἡ ἀπόδοσις αὐτῶν εἰς ζῶντα κύτταρα μειοῦται προοδευτικῶς μέχρι τῆς 72ας ὥρας (μείωσις 35%), κατὰ τὴν ἐν θερμῷ θρυψίνισιν, καὶ μέχρι τῆς 48ης ὥρας, κατὰ τὴν ἐν ψυχρῷ τοιαύτην (μείωσις 38,5%).

3. Ἡ μὴ ἀφαίρεσις τοῦ περινεφρικοῦ λίπους ἐκ τῶν νεφρῶν, κατὰ τὴν συντήρησιν, εὐνοεῖ μᾶλλον τὴν τοιαύτην συντήρησιν καὶ συνεπῶς διευκολύνει τὴν λήψιν νεφρῶν ἐκ διαφόρων σφαγείων.

4. Ἐκ τῆς διερευνήσεως τῆς κινητικῆς ἀναπτύξεως τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου, διεπιστώθη ἐπίσης ὅτι τὰ διὰ θερμῆς θρυψίνισεως λαμβανόμενα κύτταρα, ἐκ νεφρῶν συντηρηθέντων ὑπὸ τὰς ἀνωτέρω

συνθήκας ἐπὶ 72 ὥρας, ἀναπτύσσονται ἱκανοποιητικῶς κατὰ τὴν 7ην ἡμέραν, ἐνῶ διὰ τῶν ἐν ψυχρῷ θρυψινισθέντων νεφρῶν, κατὰ τὸν αὐτὸν χρόνον συντηρήσεως, παρατηρεῖται ποιά τις καθυστέρησις εἰς τὴν ἀνάπτυξιν τοῦ κυτταρικοῦ ταπητίου.

5. Ἡ τοιαύτη δυνατότης συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, δι' ἱστοκαλλιεργήματα, καθιστᾷ ἐφικτὴν τὴν λήψιν καὶ μεταφορὰν τῶν νεφρῶν ἐκ μεμακρυσμένων σφαγείων, ἐνῶ, ἀφ' ἑτέρου, διευκολύνει τὸν ὁμαλὸν ρυθμὸν τῆς ἐργασίας εἰς τὸ Ἰδρυμα.

6. Ἐκ τῆς διερευνήσεως τέλος τοῦ ποσοστοῦ ἐπιβιώσεως τῶν θρυψινισθέντων κυττάρων, ὑπὸ διαφόρους συνθήκας συντηρήσεως καὶ θρυψίνσεως, προέκυψεν ὅτι ἐντὸς ὑλικοῦ ἀναπτύξεως Hanks (μετὰ 10% ὄρου μόσχου) ὑψηλὸν ποσοστὸν ζώντων κυττάρων (66 %) διατηρεῖ τὴν ζωτικότητατά του μέχρι τῆς 72ας ὥρας.



## R É S U M É

RECHERCHE SUR LA POSSIBILITÉ D'UTILISATION DE REINS DE  
VEAU COSERVÉS A  $+4^{\circ}\text{C}$  POUR LA CULTURE DES TISSUS

P a r

**Stouraitis P., Cardassis J., Pappous Chr.\***

L'étude du taux de rendement en cellules viables de reins conservés à  $+4^{\circ}\text{C}$  dans du Hanks BSS, ainsi que de la cinétique de croissance du tapis cellulaire, à partir de ces cellules, a montré :

- a) une diminution graduelle du rendement, atteignant 35 % vers la 72<sup>e</sup> heure de conservation des reins, pour la trypsintssation à chaud, et une diminution analogue vers la 48<sup>e</sup> heure pour la trypsinisation à froid. Après ces heures on a noté une chute brusque du rendement.
- b) la présence du tissu adipeux sur les reins, pendant la conservation, joue plutôt un rôle protecteur.
- c) La croissance du tapis cellulaire est satisfaisante vers le 6<sup>e</sup> au 7<sup>e</sup> jour, à partir de cellules provenant de trypsinisation à chaud de reins conservés pendant 72 heures. Un retard de 2-3 jours est noté, pour les cellules trypsinisées à froid, après 72 heures de conservation des reins.

La possibilité de conservation des reins de veau, pour la culture des tissus, pendant 72 h, permet l'approvisionnement des Instituts en reins, d'abattoirs éloignés, ainsi que la régularisation du rythme de travail dans ces Instituts.

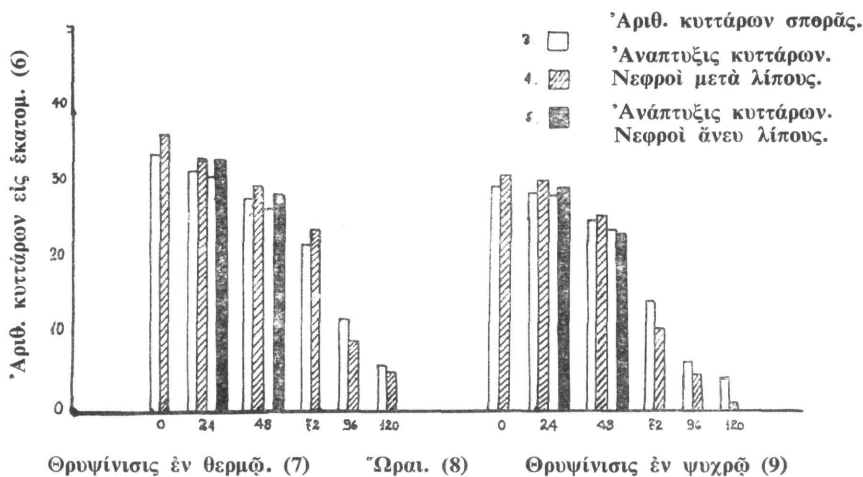
On a aussi étudié le taux de survivance de cellules rénales trypsinisées. Un taux de survivance de 66 % a été noté la 72<sup>e</sup> heure avec les cellules trypsinisées à chaud et conservées dans du Hanks de croissance (avec 10 % de serum de veau).

---

\* Institut de la Fièvre Aphteuse. Aghia Paraskevi — Attikis — Athènes — Grèce.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

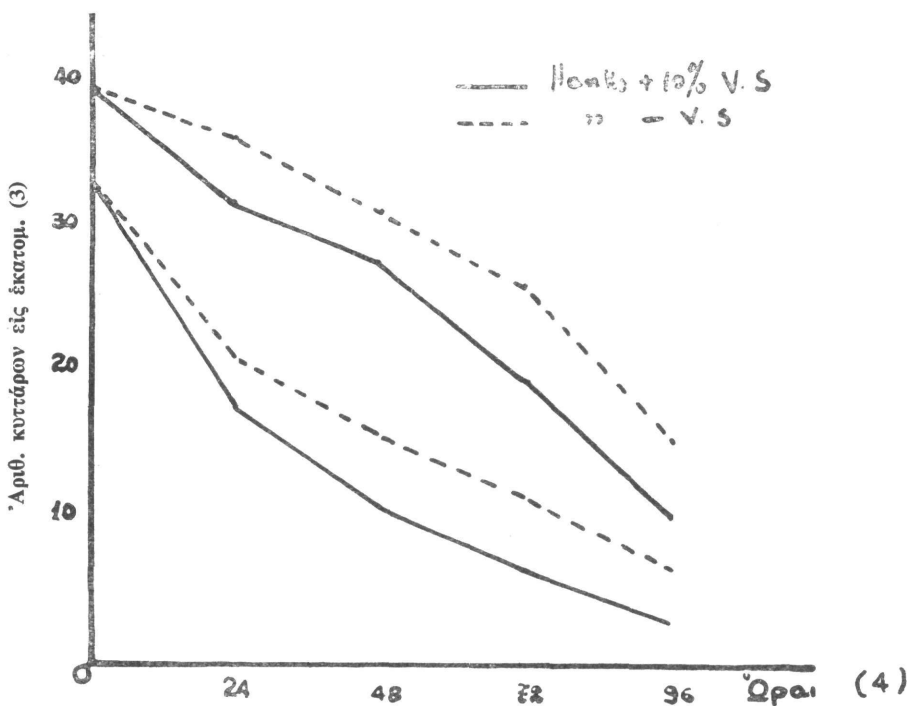
- 1) **Waldmann O., Köbe K.** Berlin Tierärztl. Wochenchr. 54, 318, 1938.
  - 2) **Willmer E. N.** «Cells and tissues in cultures». London. Academic Press 1965.
  - 3) **Merchant D. J., Kahn R. H., Murphy W. H.** «Handbook of cell and organ culture» Minneapolis, USA. Burgess. 1960.
  - 4) **Penso G., Balducci D.** «Le colture dei tessuti nella ricerca biologica». Roma, «Il pensiero scientifico». 1962.
  - 5) **Parker R. C.** «Methods of tissue cultures». 3th edition, New York, USA, Harper & Row. 1961.
  - 6) **Dulbecco R. and Vogt M. J.** Exp. Med. 99, 167, 1954.
  - 7) **Youngner J. S.** Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 85, 202, 1954.
  - 8) **Rappaport C.** Bull. Wld. Hlth. Org. 14, 147, 1956.
  - 9) **Sellers R. F.** Nature, London, 176, 547, 1955.
  - 10) **Bachrach H. L., Hess W. R. and Callis J. J.** Science, 122, 1269, 1955.
  - 11) **Baldelli B. e Torlone V.** Atti. Soc. Ital. Sci. Vet. 12, 1958.
  - 12) **Mazzaracchio V., Orfei Z., D'Amore A., Ravaioli L., e Castagnoli R.,** Zooprofilassi, 11, 277, 1956.
  - 13) **Ubertini B., Nardelli L., Santero G., e Panina G.** J. Bioch. Micr. Tech. Eng. 11, 327, 1960.
  - 14) **Ubertini B., Nardelli L., Dal Prato A., Panina G., e Santero G.** Zbl, Vet. Med. 10, 93, 1963.
  - 15) **Burke C. N. and Lugibuhl R. E.** The Cornell Veter. Vol. LIII, No 4, 463, 1963.
  - 16) **Τζωρτζάκης Ν., Παππούς Χ., Στοφόρος Ε., Μπρόβας Δ., Καραβαλάκης Ι., και Σεϊμένης Α.** Δελτ. Ε.Κ.Ε. 44, 87, 1961.
  - 17) **Τζωρτζάκης Ν., Μπρόβας Δ., Καραβαλάκης Ι., και Παππούς Χ.** Πρακτικά 'Ακαδημίας 'Αθηνών Τόμ. 35, 179, 1960.
  - 18) **Καρδάσης Ι., Στουραϊτης Π., Παππούς Χ.; και Μπρόβας Δ.** Δελτ. Ε.Κ.Ε. Τόμ. VXI, Τεύχ. 59 - 60, 1965.
  - 19) **Wallis G., Lewis R. T., and Melnick J. L.** Texas Reports. 19, 194, 1961.
  - 20) **Youngner J. S.** Journ. of Immunol. 73, 392, 1954.
  - 21) **Panina G., Stouraïtis P.** Veter. Ital. XV, 321, 1964.
-



1. Diagramme A, 2. Cinétique de croissance du tapis cellulaire, 3. Nombre de cellules d'ensemencement, 4. Croissance de cellules - Reins avec tissu adipeux, 5. Croissance de cellules - Reins sans tissu adipeux, 6. Nombre de cellules en millions, 7. Trypsinisation à chaud, 8. Heures, 9. Trypsinisation à froid.

### Διάγραμμα Β. (1)

'Επιβίωσις θρυψινισθέντων κυττάρων. (2)



1. Diagramme B., 2. Survivance des cellules trypsinisées, 3. Nombre de cellules en millions, 4. Heures.

ΠΙΝΑΞ Ι. Ἀπόδοσις νεφρικοῦ ἴσου εἰς ζῶντα κύτταρα εἰς διαφόρους χρόνους συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, ἐν συσχετισμῷ πρὸς τὴν παρουσίαν περινεφρικοῦ λίπους καὶ τὴν μέθοδον θρυψινάσεως.

TABLEAU I. Rendement du tissu rénal en cellules viables aux différents temps de conservation des reins, en rapport avec la présence de graisse périrénale et la méthode de trypsinisation.

| Συντήρησις νεφρῶν εἰς + 4° C<br>Conservation des reins à +4°C | Θρυψινάσις ἐν θερμῷ<br>Trypsinisation à chaud |   | Θρυψινάσις ἐν ψυχρῷ<br>Trypsinisation à froid |  | Σύγκρισις μεθόδων θρυψινάσεως<br>Comparaison des méthodes de trypsinisation |                           |                                      |                                    |
|---|---|---|---|--|---|---------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
|   | Χρόνος συντηρήσεως εἰς ὥρας (1)               | Περινεφρικὸν λίπος Παρουσία Ἄπουσία (2) | Ἐκατ. ζῶν. κυττάρων εἰς 0,4 ἰζήμ. (3)         | Ποσοστὸν % ἀποδ. σύγκρ. εἰς 0 ὥραν (4) | Ἐκατ. ζ. κυτ. εἰς 0,4 ἰζήματ. (5)   | Ποσοσ. ἀποδ. ἐν ψυχρῷ (6) | Ποσοστὸν ἀποδ. σύγκρ. εἰς 0 ὥραν (7) | Ποσοστὸν μείωσ. ἀποδ. ἐν ψυχρῷ (8) |
| 0   |   |   | 33,7  | 100                                    | 29,6  | 100                       | 87,8                                 | 12,2                               |
| 24  |   | +                                       | 31,1  | 92,2                                   | 28,8  | 97                        | 85,4                                 | 6,8                                |
| 24  |   | —                                       | 30,4  | 89,6                                   | 27,8  | 93,7                      | 74,2                                 | 7,2                                |
| 48  |   | +                                       | 28,0  | 83,1                                   | 25,0  | 84,4                      | 71,2                                 | 8,9                                |
| 48  |   | —                                       | 26,8  | 79,5                                   | 24,2  | 81,4                      | 54                                   | 8,3                                |
| 72  |   | +                                       | 21,9  | 65,0                                   | 10,2  | 61,5                      | 20,6                                 | 11                                 |
| 96  |   | +                                       | 11,8  | 35,3                                   | 6,8   | 23                        | 3,5                                  | 14,7                               |
| 120   |   | +                                       | 6,0   | 17,8                                   | 1,2   | 4                         |                                      | 14,3                               |

1) Temps de conservation en heures 2) Graisse périrénale: Présence +, absence —. 3) Millions de cellules viables à 0,4 ml  
 4) Pourcentage de rendement comparé à 0 heures 5) Millions de cellules viables à 0,4 ml 6) Pourcentage de rendement  
 eu cellules viables lors de la trypsinisation à froid 7) Pourcentage de rendement comparé à 0 heures 8) Pourcentage de di-  
 minution du rendement lors de trypsinisation à froid.





ΠΙΝΑΞ ΙΙ.

Κινητική ανάπτυξως του κυτταρικού ταπητίου, εν συσχετισμῷ πρὸς τὸν χρόνον συντηρήσεως τῶν νεφρῶν, τὴν παρουσίαν ἢ μὴ περινεφρικοῦ λίπους καὶ τὴν μέθοδον θρυψίνσεως τοῦ νεφρικοῦ ἰστού (ἄριθμοὶ κυττάρων εἰς ἑκατομμύρια κατὰ φιάλην Roux).

TABLEAU II.

Cinétique de croissance du tapis cellulaire, en relation avec le temps de conservation des reins, la présence ou non de graisse périnéale et la méthode de trypsinisation du tissu rénal. (Nombre de cellules en millions par bouteille de Roux).

| Συντήρησις νεφρῶν εἰς + 4° C<br>Conservation des reins à 4° C | Θ ρ υ ψ ἰ ν ἰ σ ἰ ς ἐν θ ε ρ μ ῶ<br>Trypsinisation à chaud. |  |  |                                       |      |      | Θ ρ υ ψ ἰ ν ἰ σ ἰ ς ἐν ψ υ χ ρ ῶ<br>Trypsinisation à froid. |   |                                      |    |    |     | Τίτλος ἰοῦ<br>Titre Virus<br>P.F.U./ml |      |      |         |   |
|---|---|--|--|---------------------------------------|------|------|---|---|--------------------------------------|----|----|-----|--|------|------|---------|---|
|   | Χρόνος συντηρ.<br>(ῶραι)<br>Temps conserv. h.               | Περιν.λίπος<br>Παρ. Présence +<br>Ἄπουσ. Absence - | Ἄριθ. κυτ. σπορῶς<br>Nombre de cellul.<br>d'ensem. par Roux<br>(0.4 ml. %) | Ἡμέραι ἐπώσεως<br>Jours d'incubation, |      |      | Τίτλ. ἰοῦ<br>Titre Vir.<br>P.F.U./ml                        | Ἄρ. κυττ. σπορῶς<br>Nombre cellules<br>d'ensem. par<br>Roux (0,4 ml. %) | Ἡμέραι ἐπώσεως<br>Jours d'incubation |    |    |     |  |      |      |         |   |
|   |   |  |  | 3η                                    | 4η   | 5η   |   |   | 6η                                   | 7η | 3η | 4η  |  | 5η   | 6η   | 7η      |   |
| 0   |   |  | 33,7   | 10,5                                  | 18,7 | 25,9 | 33  | 36,2  |                                      |    |    | 6,9 | 10,4                                   | 17,7 | 26,0 | 31,2    | 6,8 X 10 <sup>6</sup> - 1,2 X 10 <sup>6</sup> |
| 24  | +   |  | 31,1   | 6,1                                   | 10,6 | 17,8 | 25,8  | 32,7  |                                      |    |    | 5,7 | 9,0                                    | 16,4 | 26,1 | 30,8    |   |
| 24  | -   |  | 30,4   | 7,0                                   | 12,2 | 19,0 | 26,4  | 33,0  |                                      |    |    | 3,4 | 7,0                                    | 13,8 | 24,8 | 28,8    |   |
| 48  | +   |  | 28,0   | 3,7                                   | 5,7  | 13,4 | 21,4  | 29,6  |                                      |    |    | 2,8 | 6,4                                    | 12,0 | 19,8 | 26,0    |   |
| 48  | -   |  | 26,8   | 3,4                                   | 6,6  | 14,4 | 22,1  | 28,3  |                                      |    |    | 3,0 | 5,4                                    | 11,2 | 18,0 | 23,8    |   |
| 72  | +   |  | 21,9   | 1,2                                   | 3,8  | 8,4  | 16,0  | 23,2  |                                      |    |    | 1,8 | 2,8                                    | 4,6  | 7,2  | 10,6(T) |   |
| 96  | +   |  | 11,8   | A                                     | 3,1  | 7,2  | 8,4   | 9,2   |                                      |    |    | A   | A                                      | 0,9  | 1,8  | 2,4     |   |
| 120   | +   |  | 6,0  | A                                     | A    | 1,8  | 2,4   | 4,8   |                                      |    |    | A   | A                                      | A    | A    | A       |   |

Σημ. A = Ἀδύνατος ἢ καταμέτρησις

T = Ἀνάπτυξις ταπητίου τὴν 10ην ἡμέραν ἐπώσεως

Note A = Énumération impossible

T = Croissance de tapis cellulaire le 10e jour d'incubation

