

*А.А. Глинник,
А.В. Прохоров*

Хирургическое лечение сахарного диабета. Трансплантация островковых клеток поджелудочной железы (Обзор)

Белорусский государственный медицинский университет

Представлены современные взгляды на трансплантацию островковых клеток поджелудочной железы в лечении инсулинзависимого сахарного диабета. Рассмотрены показания и противопоказания к пересадке, способы и зоны трансплантации, проблемы отторжения трансплантата и иммуносупрессивной терапии, влияние трансплантации островковых клеток поджелудочной железы на поздние осложнения сахарного диабета. Ключевые слова: трансплантация островковых клеток, инсулинзависимый сахарный диабет, иммуносупрессивная терапия

Сахарный диабет поражает 6-9 % населения мира и занимает первое место среди эндокринологических заболеваний. В Республике Беларусь по состоянию на конец 2002 г зарегистрировано 128 333 больных сахарным диабетом, в том числе на учете состоит 1 666 детей и подростков. [14]. По частоте встречаемости в США данная патология занимает третье место среди всех заболеваний и четвертое по причине смерти. Из 16 миллионов больных диабетом в США, приблизительно 4 миллиона нуждаются в инсулинотерапии [30]. Синдром инсулинзависимого сахарного диабета (ИЗСД) включает не только нарушенный метаболизм глюкозы, но также и определенные хронические осложнения, такие как ретинопатия, нефропатия, и нейропатия. [31]. В последние десятилетия, стало все более и более очевидно, что капиллярные осложнения сахарного диабета являются следствием гипергликемии. Постоянный контроль глюкозы крови при этом более важен чем сама диагностика диабета и его осложнений [96].

Открытие инсулина в 1922 изменило течение ИЗСД, переводя его из острой, фатальной формы в хроническую, неуклонно прогрессирующую болезнь. Возможной альтернативой существующей методике инсулинотерапии является трансплантация поджелудочной железы [84]. В тоже время доказано, что при сохранении 25% островковых клеток поджелудочной железы манифестация диабета не наступает [1]. В виду того, что масса островковых клеток составляет 1-2% от общей массы железы, свободная трансплантация островков представляется более целесообразной и рациональной альтернативой традиционной трансплантации поджелудочной железы на сосудистых связях. Учитывая технические, экономические и этические аспекты трансплантации поджелудочной железы достаточно высокий процент послеоперационных осложнений, дефицит донорского материала, необходимость пожизненной иммуносупрессивной терапии, ограниченный срок функционирования трансплантата, в настоящее время пересадка поджелудочной железы ограничена реципиентами с уреимией и производится одновременно с трансплантацией почки.

По происхождению клеточного материала для трансплантации можно выделить три группы методов: ауто трансплантацию, аллотрансплантацию и ксенотрансплантацию.

Аллотрансплантация островковых клеток многими авторами считается более приоритетным методом, в связи с идентичностью клеточного материала донора и реципиента. При этом происходит синтез человеческого инсулина, что обеспечивает максимальную компенсацию сахарного диабета и минимизирует риск развития осложнений ИЗСД [21,93]. Источником островковых клеток при аллотрансплантации может служить поджелудочная железа взрослых доноров или фетальная и неонатальная ткань. Однако применение данного метода имеет ряд ограничений, основным из которых является дефицит аллогенного материала. Для создания культуры островковых клеток для одной трансплантации требуется в среднем 4 поджелудочные железы [93]. При этом разработанные методики свободной островковой трансплантации аллогенной культуры требуют повторной пересадки клеток в течение года у 56% пациентов. Это связано с высокой иммуногенностью ткани поджелудочной железы, что требует проведения высокой иммуносупрессивной терапии [97]. В моделях на животных показана роль неспецифического воспаления в деструкции и гибели трансплантата [61,92]. Полученные данные свидетельствуют, что до 50% пересаженных островковых клеток погибают в течение 3 суток в результате некроза и апоптоза [76]. Доказан также и цитокиновый путь гибели. Провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин 1,6 токсичны по отношению к островковым клеткам [39]. Так же фактор некроза опухолей и интерферон γ нарушают функцию островковых клеток или отдельно, или вместе с интерлейкином [53,75]. Как и при любой аллотрансплантации, пересаженные островки подвергаются реакции отторжения [33,36,71]. Единственным средством, применяемым в практике для предотвращения отторжения, является применение иммуносупрессивных препаратов. Однако, современные иммуносупрессивные протоколы далеки от совершенства и основаны на использовании кортикостероидов, циклоспорина и такролима и обладают выраженным диабетогенным эффектом [86,95]. Возможно, появление новых иммуносупрессоров откроет более широкие возможности клеточной трансплантации.

Важным препятствием на пути успешной трансплантации у человека является также отсутствие надежного маркера для диагностики реакции отторжения. Существующие методы, направленные на определение уровней глюкозы крови и сывороточного С-пептида нечувствительны, так как перед повышением глюкозы крови и снижением уровня С-пептида, большинство клеток погибает. В отдельных исследованиях успешно применялась тактика одновременной трансплантации почки и аллогенных островков от одного донора [21,90]. Некоторыми исследованиями показана возможность определения метаболитов (NO), как маркеров отторжения [42].

Также существует ряд проблем социального, медицинского и религиозного характера. Серьезной проблемой, с которой столкнулись трансплантологи в последнее время является несовершенство закона о трансплантации органов и тканей. При аллогенной трансплантации для исключения трансплантационной передачи инфекционных заболеваний прежде всего ВИЧ и гепатит В, С требуется достаточно трудоемкий и дорогостоящий протокол обследования [21,97].

По данным Международного Регистра Трансплантации Островковых Клеток для успешной островковой аллотрансплантации требуется >6000 островковых эквивалентов на кг массы тела [58,88]. В тоже время точное количество клеток, необходимых для достижения инсулиннезависимости, неизвестно. Аутооттрансплантация панкреатических островков после панкреатэктомии позволила добиться эугликемии и нормализации HbA_{1c} при пересадке >250000 островков [94]. Однако отсутствует простой и надежный способ количественного

определения числа прижившихся островков, а тем более прогнозировать это для трансплантации. В норме поджелудочная железа взрослого донора содержит ~400-600 млн островковой ткани, т.е. ~1000 000 островков[71]. Для сравнения, среднее число островков получаемых от отдельной поджелудочной железы взрослого донора-трупа, составляет ~250 000. Основная масса островков теряется в процессе выделения. Таким образом, если полностью восполнить необходимое число островков у реципиента, то потребуется 3-4 донора[93].

Все вышеперечисленные проблемы аллотрансплантации привели к развитию альтернативного метода пересадки островковых клеток-ксенотрансплантации

Наиболее приемлемым ксеногенным источником органов и тканей могут являться наиболее филогенетически близкие к человеку животные-приматы. Однако общественное мнение относительно наличия у этих животных многих смертельно опасных для человека заболеваний относительно небольшая их популяция не позволяет рассматривать этих животных, как потенциальный источник ксеногенных органов и тканей. Наиболее перспективными ксеногенными донорами для трансплантации рассматривались свиньи[82,97]. Причины для выбора свиней, как ксеногенного источника, включают доступность их в больших количествах, относительная простота разведения, ограниченный риск зооноза использование генной терапии для выведения одной эмбриональной линии[81]. На протяжении многих лет основным препаратом, используемым в диабетологии, являлся свиной инсулин[82]. При изучении структуры инсулина, выделенного из поджелудочных желез многих видов животных, была обнаружена видовая особенность молекулы инсулина. При этом наиболее близкими к человеку, по своему аминокислотному составу, оказались молекулы инсулина свиньи, собаки, кита и кролика[24].

Одной из причин, сдерживающих клиническое применение свиных островковых клеток является обнаружение в клетках этих животных эндогенного ретровируса (PERV), который потенциально может инфицировать клеточные линии человека[32,72]. Однако сведений о заболеваниях пациентов, перенесших ранее ксенотрансплантацию свиных островковых клеток, в настоящее время нет. Серологические исследования у реципиентов, проведенные через 4-7 лет после ксенотрансплантации свиных островков не обнаружили маркерных генов PERV инфекции[56,59]

Экспериментальным обоснованием возможности выполнения эффективной ксеногенной трансплантации в клинике явились успешные опыты по ксенотрансплантации культур островковых клеток животным с индуцированным сахарным диабетом. Было показано, что при использовании предварительно культивированных островковых клеток длительная ремиссия диабетического статуса может быть достигнута и без иммуносупрессии[3,18]. Рядом исследований продемонстрировано, что ксеногенные островковые клетки не подвергаются аутоиммунному повреждению, что характерно для аллотрансплантации[45]

Первые клинические ксенотрансплантации культур островковых клеток были осуществлены в 1981-1982 гг. НИИ эндокринологии и обмена веществ (Киев, Украина), и в НИИ трансплантологии и искусственных органов (НИИТиО Москва, Россия) в 1980-1982 гг.[7,27]. В качестве источника культур использовали ПЖ плодов свиньи, новорожденных поросят, плодов крупного рогатого скота. К концу 1993 г. в России и республиках бывшего СССР было осуществлено более 2500 ксеногенных пересадок. Как показали многолетние

наблюдения, по своему антидиабетическому эффекту ксенотрансплантация весьма близка к аллотрансплантации и мало отличается от трансплантации фетальной островковой культуры клеток человека, позволяя добиться адекватного эндокринного эффекта[2,7,12]

С 1991 г. в НИИТиЮ стал использоваться новый источник культур островковых клеток фетальная или неонатальная поджелудочная железа кроликов.[13,19,21,28] Разработанные новые подходы к получению высокоактивных культур островковых клеток, обладающих сниженной иммуногенностью, позволили существенно увеличить количество выполняемых трансплантаций и повысить их эффективность до 90%. Как правило, продолжительности клинического эффекта как при алло-, так и ксенотрансплантации составляет в среднем 6-10 месяцев. Возможность значительного снижения иммуногенности островковой ткани при культивировании позволяет значительно уменьшить ответную иммунную реакцию реципиента, что создало возможность проведения повторных алло-и ксенотрансплантаций и их чередование[4,8,17].

Трансплантация ксеногенной культуры островковых клеток оказалась достаточно эффективной при лабильном течении сахарного диабета I типа [17]. Как и при аллотрансплантации снижалась потребность в экзогенной инсулинотерапии на фоне стойкой компенсации углеводного обмена, о чем свидетельствовало значительное уменьшение уровня гликолизированного гемоглобина [5,8,27]. Ксенотрансплантация приводила и к нормализации показателей липидного обмена, что может быть использовано в качестве критерия эффективности трансплантации островковых клеток [5,7,8,27] Показано также и отчетливое положительное влияние ксенотрансплантации на течение диабетической полинейропатии и нефропатии[8,9,19].

Детально изучено влияние внутримышечной пересадки ксеногенной культуры островковых клеток новорожденных поросят на течение сахарного диабета у детей [2]. Опыт 100 клеточных трансплантаций у 86 детей и подростков с сахарным диабетом I типа и его осложнениями (гепатопатия, энцефалопатия, ретинопатия, ангиопатия нижних конечностей, нефропатия, распространенные липодистрофии, липоидный некробиоз, синдромы Мориакса и Нобекура и др.) показал выраженный положительный эффект у 81% реципиентов

Положительный эффект ксенотрансплантации отмечен при гнойно-некротических поражениях у больных сахарным диабетом. По данным Розенталя Р.Л. и соавт. [17] внутримышечная трансплантация свиных островковых клеток при гнойных заболеваниях мягких тканей, диабетических гангренах, трофических язвах способствовали приостановлению прогрессирования заболеваний и предотвращению генерализации инфекции.

Однако, несмотря на тщательную предтрансплантационную подготовку материала основным препятствием для длительного сохранения пересаженной ткани в организме реципиента остается реакция отторжения трансплантата. В случае ксенотрансплантации органа на сосудистых связях развивается гиперострое отторжение, которое начинается немедленно при реперфузии трансплантата и уничтожает его в пределах от нескольких минут до нескольких часов[81]. Гистологически гиперострое отторжение характеризуется интерстициальными кровоизлияниями и тромбозом, состоящим, главным образом, из тромбоцитов[43].

Преодолев гиперострое отторжение, ксенотрансплантат в дальнейшем подвержен острому сосудистому отторжению, подобно острому сосудистому отторжению аллотрансплантата. Острое сосудистое отторжение, иногда называемое отсроченным отторжением ксенотрансплантата, может начинаться в течение 24 часов после включения трансплантата и кровотоков и ведет к разрушению трансплантата в течение нескольких дней или недель [74]. Хотя патогенетические механизмы острого сосудистого отторжения полностью не раскрыты, имеются доказательства, что пусковым моментом этого процесса является связывание ксенореактивных антител с антигенами трансплантата [74,80]. Также было установлено, что процесс отторжения клеток инициируется специальными антигенпредставляющими клетками, лейкоцитами-пассажирами, включая дендритные клетки донора или реципиента [77]. Лейкоциты-пассажиры, мигрируют к региональным лимфатическим узлам реципиента и активируют Т-лимфоциты которые возвращаются к трансплантату-мишени и уничтожают его [50,51]. При этом ключевую роль в клеточноопосредованной деструкции отводится лимфоцитам CD3, CD4, CD8, CD28, CD40, CD95, CD154 [33,36,61,65]. Для преодоления данной реакции клетки подвергали замораживанию [66], облучению ультрафиолетовым и гамма-излучением [50,70] применялись антитела анти-MHC II и анти-DC, перинатальные островки очищались *in vitro* [57], проводилось предтрансплантационное введение островковых клеток, одновременно введение спленоцитов и островковых клеток [67]. Однако на сегодняшний день данная проблема решена лишь частично.

Все вышеперечисленное наиболее актуально в случае включения пересаживаемого органа и кровообращение реципиента. Свободная пересадка островковых клеток исключает контакт эндотелия донора с кровью реципиента, что значительно снижает опасность гиперострого отторжения. Но в тоже время ряд исследований показал, что прямой контакт островковых клеток с форменными элементами реципиента вызывает гиперкоагуляцию и гибель трансплантата, по-видимому, за счет цитокинов форменных элементов и, в первую очередь тромбоцитов [35].

Даже при преодолении гиперострого отторжения, агрессивные формы острого и хронического клеточного отторжения составляют главную проблему пролонгированного выживания трансплантата. Гистологические исследования показали, что ответ на различные островковые ксенотрансплантаты отличается от ответа на аллогенные островки. Причины такого различия неизвестны, но, скорее всего, это связано с различным спектром антигенов ведущих к различным механизмам отторжения. Общеизвестно, что отторжение клеточного ксенотрансплантата связано с Т-лимфоцитарной зависимостью. При этом Т-лимфоциты CD4+ оказываются критическими для фетального ксенотрансплантата поджелудочной железы, и отличие между алло-и ксеноотторжением отражает активацию различных структур этих клеток [52,65]. Различия активности являются, вероятно, промежуточным звеном при изменении модели секреции растворимых провоспалительных факторов, таких как цитокины и хемокины со стороны трансплантата [33]. В тоже время, свиные островковые клетки резистентны к аутоиммунному повреждению в случае использования моноклональных анти-CD4 антител [45,62]. Это принципиально важно, так как исключает рецидив аутоиммунного повреждения, что свойственно аллогенным островкам [62].

Перспективным направлением, позволяющим защитить пересаженные островки от отторжения, является иммуноизоляция островков. В основе метода лежит принцип предотвращения контакта пересаженных островковых клеток с иммунокомпетентными

клетками реципиента. Островки, помещенные в полупроницаемую мембрану, сохраняют свою жизнеспособность в результате осмоса кислорода и трофогенов из крови и обратной диффузии продуктов метаболизма. Обладая способностью двухсторонней диффузии, в ток крови поступает и инсулин, вырабатываемый островковыми клетками [47,89]. В настоящее время иммуноизоляция представлена двумя вариантами: микро-и макрокапсуляцией

Микроинкапсуляция

Под микрокапсуляцией понимают методику, при которой каждый панкреатический островок окружен собственной, сферической полупроницаемой мембраной предотвращающей контакт островков с иммунокомпетентными клетками реципиента[40,63] Первоначально микрокапсуляция была описана как альгинат-полилизинная мембранная капсула [90,91]. Методика изготовления таких капсул основана на захвате отдельных островков каплей альгината, составленной из маннуроновой (M) и гулууроновой (G) кислот которая преобразуется в твердый шарик при гелификации в двухвалентном катионном растворе, главным образом, содержащим Ca^{2+} . В дальнейшем была предложена агарозная и гелевая микроинкапсуляция на основе полимера AN69 (натрий полиакрилонитрил), НЕМА-ММА (2-гидрокси-этил метакрилат)[79]. Выживание микроинкапсулированных островков и гипогликемический эффект трансплантации сохранялись не более 1 месяца[47,52] Нарушение функции микроинкапсулированных трансплантатов островков связано с недостаточной биосовместимостью капсул, которая стимулирует неспецифическую реакцию реципиента на инородное тело а, следовательно, и выраженную пролиферативную реакцию вокруг капсул, что ведет к неадекватному питанию островков, клеточному апоптозу и гибели островковых клеток [46,47,48,49]. Хотя экспериментальные исследования, выполненные на обезьянах, продемонстрировали поддержание эугликемии в течение 803 дней после ксеногенной трансплантации микроинкапсулированных свиных островков, пересаженных интрабрюшинно и под капсулу почки[48,54,75,91]. Ряд исследований основывается и на клиническом применении микроинкапсулированных аллогенных островков[44,87].

Одной из концепций ограниченного функционирования пересаженных трансплантатов клеток является недостаточная васкуляризация пересаженных островков. Очевидно, что для полноценного метаболического обмена между клетками и кровью, "местообитание" пересаженных островков должно находиться в близком контакте с кровеносными сосудами. Сообщения о зонах трансплантации, таких как печень, селезенка, подкапсульное пространство почки не отвечают этим требованиям, потому что эти зоны никогда не смогут обеспечить адекватный метаболический обмен необходимого объема микроинкапсулированных панкреатических островков [34,55]. Выживание пересаженной культуры клеток только вначале обеспечивается свободной диффузией. В дальнейшем адекватное функционирование островков и их выживание будет зависеть от хорошей васкуляризации зоны трансплантации[46]. К сожалению, пока нет убедительных данных с полной иммунопротективной способности микрокапсул. Мембрана, пропускающая островковый инсулин, не может предотвратить аналогичный выход пептидов и трансплантата. Поэтому сенсibilизация иммунной системы представленными антигенами не может быть полностью предотвращена.

Макроинкапсуляция

Модели биоискусственной поджелудочной железы более соответствует макрокапсуляции панкреатических островков. Было предложено много различных биоматериалов обладающих свойствами полупроницаемой мембраны и одновременно обладающих биосовместимостью в отношении пересаживаемой культуры клеток[48]. Описано два основных варианта имплантации макрокапсул в организм реципиента-внесосудистые и внутрисосудистые.

Внесосудистые модификации имплантации макрокапсулированной культуры клеток предусматривают трансплантацию капсул подкожно, в брюшную полость, под капсулу почки[60,65,73,89]. Относительная безопасность методов создает важное преимущество внесосудистых устройств, но взаимодействие "материал-ткань" рождает аналогичную проблему биосовместимости, связанную с неспецифическим воспалением и приводящую к клеточно-пролиферативной реакции, фиброзу, нарушению питания инкапсулированных клеток, их апоптозу и гибели.

Другой причиной безуспешной макрокапсуляции явилась агрегация инкапсулированной ткани в большие группы[73]. Экстенсивный некроз происходил в центре скоплений клеток в результате ограничения диффузии трофогенов. Как показали исследования, увеличение массы пересаживаемой ткани ведет к нарушению питания островков и их гибели, а увеличение в размерах макрокапсулы способствует снижению ее диффузионных свойств, в первую очередь, из-за бессосудистой фиброзно-клеточной инфильтрации[69].

В течение прошлых нескольких лет были сделаны попытки гидрогелевой макроинкапсуляции на основе альгината, агарозы, НЕМА, сополимера акрилонитрила и натрий-метилсульфата и AN69[64,68]. Гидрогели обеспечивают ряд особенностей, которые являются выгодными для биосовместимости мембран. Во-первых, вследствие гидрофильности материала нет почти никакого поверхностного натяжения с окружающими жидкостями и тканями, что минимизирует адсорбцию белков и адгезию клеток. Во-вторых, мягкие и подвижные свойства геля снижают механическое раздражение и трение в окружающих тканях. И наконец, они обеспечивают высокую степень проницаемости для низкомолекулярных питательных веществ и метаболитов, которые необходимы для оптимального функционирования пересаженных живых клеток [64].

Иммунопривилегированные зоны для трансплантации островковых клеток

Для защиты трансплантата от иммунной агрессии возможно использование для пересадки так называемых иммунопривилегированных органов или зон, к которым относятся передняя камера глаза, головной мозг и тестикул [6,10,11,37,41,83].

Трансплантация ксеногенных островковых клеток в ретробульбарную клетчатку глаза, по данным НИИТ и ИО, позволяет сохранять антидиабетический эффект в сроки до 3-х лет [20]. Иммунопривилегированность семенника обусловлена прежде всего, наличием местных иммуносупрессорных факторов, вырабатываемых клетками Сертоли. Кистнер Ю.И. и соавт. [6] в экспериментальных исследованиях продемонстрировали возможности долго-временного сохранения аллотрансплантата островковых клеток при паравазальной субкапсулярной трансплантации в семенник крысы.

Работами Ярошинского Ю.Н. и соавт [29], Вае А.В. [38] было показано, что живые аллогенные трансплантаты клапанов сердца, после их трансплантации, длительное время сохраняли свою структуру и функцию, не подвергаясь реакции отторжения. На основании этих наблюдений возникло предположение, что среда крови является еще одной и иммунологически выгодных зон для сохранения жизнеспособности чужеродных тканей. Исследуя возможность долгосрочного сохранения различных тканей (в том числе различной видовой принадлежности) в просвете сердца и аорты, Шотт А.В. и соавт. [25,26], Третьяк С.И. [22] установили, что ткани с диффузионным и капиллярным типом питания могут длительное время сохраняться в токе крови. При этом не срабатывал ни клеточный, ни гуморальный компоненты иммунитета.

Экспериментальные исследования Романовского А.И. [16] продемонстрировали долговременное функционирование макроинкапсулированной фетальной человеческой островковой ткани поджелудочной железы при ее внутриаортальной трансплантации. При этом выживаемость островковых клеток в течение 2 лет составляла до 60%

Клиническое применение внутриартериальной и артериовенозной ксенотрансплантации островковых клеток поджелудочной железы продемонстрировало выраженный антидиабетический эффект пересадки, что позволило добиться снижения прогрессирования осложнений диабета, стабилизации течения диабета, снижения инсулинопотребности на 60-75%, улучшения качества жизни [15,23].

В последние годы определенный прогресс достигнут в исследованиях стволовых и панкреатических протоковых клеток [71,78,94]. Ramiya V.K et al. [85] продемонстрировали что панкреатические протоковые эпителиоциты, выделенные от взрослых мышей, можно культивировать и вызвать их дифференцировку в функционирующие островки Лангерганса. Эти генерированные *in vitro* островки были способны к нормализации глюкозы у мышей с диабетом в течение 3 месяцев.

Таким образом в настоящее время свободная трансплантация панкреатических островковых клеток составляет альтернативу трансплантации поджелудочной железы на сосудистых связях. Достижение долговременного антидиабетического эффекта пересадки островков при использовании методов иммунопротекции и иммунологически выгодных зон позволяет отказаться от иммуносупрессивной терапии и рассматривать методику трансплантации островковых клеток как важное звено в комплексном лечении инсулинзависимого сахарного диабета.

Литература

1. Балаболкин М.И. Сахарный диабет.-М.Медицина, 1994-384с.
2. Беникова Е.А., Турчин И.С., Белякова Л.С. и др. Опыт лечения детей, страдающих сахарным диабетом, при помощи алла-и ксенотрансплнтации культуры островковых клеток поджелудочной железы // Проблемы эндокрин. - 1987-№2 - с19-22
3. С. Н. Блюмкин, Н.Н. Скалецкий, В.Л. Попов и др. Внеселезеночная трансплантация культур островковых клеток поджелудочной железы плодов человека крысам с экспериментальным сахарным диабетом/ В// Бюл. Эксп. Биол. И мед. - 1983-№ 5 - с. 89-91
4. Игнатенко С.Н. Трансплантологические методы лечения сахарного диабета: Автореф Дис. ... докт. Мед. наук. - М., 1989.

5. С.Н. Игнатенко, Т.А. Словеснова, Н.Н. Скалецкий и др. Отдаленные результаты аллотрансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы плодов больных инсулинзависимым сахарным диабетом // Вопросы трансплантологии и искусственных органов: Науч тр. НИИ Т и ИО МЗ СССР/ Под ред. В.И. Шумакова - М. 1989-с. 91-98
6. Кистнер Ю.И., Кирпатовский И.Д., Александров Н.Ю. и др. Паравазальная субкапсулярная аллотрансплантация ткани неонатальной поджелудочной железы и семенник крыс. // Вестник трансплантологии и искусственных органов - 2003-№1 - с. 31-36
7. В.П. Комиссаренко, И.С. Турчин, И.В. Комиссаренко и др. Трансплантация культур островковых клеток поджелудочных желез плодов человека и животных как метод лечения сахарного диабета // Врач. Дело - 1983-№4-с. 52-56
8. Лейникс А.А. Оценка эффективности трансплантации культуры островковых клеток поджелудочной железы у больных сахарным диабетом. Автореф. Дис. ... канд. Мед. Наук - М., 1989
9. Ю.Б. Мартов, С.Г. Подолинский, А.А. Чиркин и др. Ксенотрансплантация культуры В-клеток поджелудочной железы больным сахарным диабетом // Здоровоохранение/ 1996-№9 - С. 41-43.
10. Новиков И.И. Морфологические изменения губчатого вещества кости после трансплантации под фиброзную капсулу почки. // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии - 1972-№1-с. 31-37
11. Пересадка органов и тканей человека - М., Медицина, 1973 - 527 с
12. Подшивалин А.В. Оценка эффективности трансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы у больных сахарным диабетом радионуклидными методами Автореф. Дис. ... канд. Мед. Наук. - М., 1993
13. Н.Н. Скалецкий, Л.А. Кирсанова, Н.В. Баранова и др. Получение культур островковых клеток для трансплантации: новые подходы и новое качество // Вестник трансплантологии и искусственных органов - 2002-№3 - с.86
14. ПРЕСС РЕЛИЗ, посвященный Всемирному дню диабета 12. 10. 2003.Пресс-служба Министерства здравоохранения Республики Беларусь.
15. Прохоров А.В. Хирургическое лечение инсулинзависимого сахарного диабета путем ксенотрансплантации островковых клеток поджелудочной железы в артериальное русло (экспериментально-клиническое исследование) Автореф. Дисс. ... д-ра мед наук// Минск 2005.
16. Романовский А.И. Определение оптимальной методики пересадки островковых клеток поджелудочной железы /Автореф. Канд. Мед. Наук. - Минск - 2001 - 20с
17. Розенталь Р.Л., Закревский В.А., Ильинский И.М. и др. Трансплантация культур островковых клеток поджелудочной железы при лечении гнойных хирургических заболеваний у больных сахарным диабетом // Вестник хирургии - 1988-№5-с. 83-86
18. Скалецкий Н.Н. Ксенотрансплантация культур островковых клеток поджелудочной железы плодов человека крысам с экспериментальным сахарным диабетом: Автореф. Дис ... канд. Мед. Наук - М., 1987
19. Н.Н. Скалецкий, Н.Л. Фатеева, Г.Т. Сухих, Е.М. Молнар Трансплантация культур островковых клеток поджелудочной железы в лечении инсулинзависимого сахарного диабета // Бюл. Эксп. Биол. И мед. - 1994-№4-с. 356-363
20. Н.Н. Скалецкий, Т.Н. Гончарова, Л.В. Засорина и др. Ксенотрансплантация культур островковых клеток на пути достижения длительной инсулиннезависимости у больных сахарным диабетом I типа // Вестник трансплантологии и искусств. Органов - 2002-№3 - с 85-86
21. Трансплантология: Руководство / Под ред. В.И. Шумакова - М., Медицина, 1995 - 391с

22. Третьяк С.И. Длительное сохранение жизнеспособности аллогенных тканей в сосудах и сердце реципиента (экспериментальное исследование)/ Автореф. Дис. Д-ра мед. Наук Минск, 1996 - 33с.
23. Третьяк С.И., Прохоров А.В., Глинник А.А. Отдаленные результаты ксенотрансплантации макроинкапсулированной культуры островковых клеток поджелудочной железы. Трансплантология - 2004 - т.7, №3 - с.364-366
24. Физиология эндокринной системы. Л. Наука, 1979 - 680с
25. Шотт А.В., Леонтьев А.С., Третьяк С.И. и др. Необычная реакция на чужеродные ткани - Ч.2 - Минск, 1992 - 286с.
26. Шотт А.В., Третьяк С.И., Красильников А.П., Леонтьев А.С. Иммунологические парадоксы в трансплантологии// // Здоровоохранение - 1999-№2 - с.36-37
27. Шумаков В.И., Игнатенко С.Н., Блюмкин В.Н. и др. Клинические результаты аллогенной и ксеногенной трансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы больным сахарным диабетом// //Трансплантация и искусственные органы. - М., 1984 - с. 19-21
28. В.И. Шумаков, В.Н. Блюмкин, Н.Н. Скалецкий, С.Н. Игнатенко и др Трансплантация культур островковых клеток поджелудочной железы (очерки)/. - М., 1994= 384 с
29. Ярошинский Ю.Н., Цукерман Г.И., Артюхина Т.В. и др. Судьба биологических протезов клапанов сердца (клинико-морфологическое исследование)/ / Вестн. АМН СССР - 1974-№6 - с. 68-72
30. American Diabetes Association. Economic Consequences of Diabetes Mellitus in the US in 1997. Diabetes Care 1998; 28(2):296-309.
31. American Diabetes Association. Diabetic Nephropathy. Diabetes Care 1998; 21(Suppl 1):S50-S53
32. Appel J.Z., Alwayn J.P.N., Cooper D.K.C. Xenotransplantation: the challenge to current psychological attitudes/ Progress in Transplantation - 2000-Vol. 10-N4-p 217-225
33. Abbas A.K., Murphy K.M, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes/ Nature - 1996 - N383 - p1059-1066
34. A. Ar'Rajab, B. Ahren, J. Aluments et al. Islet transplantation to the renal subcapsular space improves late complications in streptozotocin-diabetic rats// // Eur. Surg. Res. - 1990-N22-p.270-278
35. L.Badet, T.Titus et al The interaction between primate blood and mouse islets induces accelerated clotting with islet destruction/ / Xenotransplantation-2002-N9-Issue2-p91
36. E. Bosi, S. Braghi et al Autoantibody response to islet transplantation in type 1 diabetes/ . Diabetes-2001-N50-p2464-2471
37. Barker C.F., Billingham R.E. Immunologically privileged sites// Adv Immunol.-1977 - N25 - p 1-54
38. Baue A.B., Bonawick W.J. The immunologic response to heterotopic allograft aortic valve transplants in presensitized and nonsensitized recipients/ J. Thorac, Cardiovasc. Surg.-1968-Vol56 N6-p775-788
39. K. Bendtzen, T. Mandrup-Poulsen, J. Nerup et al Cytotoxicity of human p17 interleukin-1 for pancreatic islets of Langerhans// // Science - 1986-N232-P.1545-1547
40. P. Brunetti, G. Basta et al Immunoprotection of pancreatic islet grafts within artificial microcapsules// // Int.J.Artif.Organs-1991-N14-p789-791
41. B. Bobzien, Y. Yasunami, M. Majercik et al. Intratesticular transplantation of islet xenografts (rat to mouse) // // Diabetes - 1983 - Vol. 32, Issue 3. - p. 213-216
42. D. Casanova, E. Martino et al Is the high level of nitric oxide metabolites a marker in early rejection after experimental islet pancreas transplantation // // Transpl. Proc.-1998-N30-p639-640

43. A.H. Cotterell, B.H. Collins et al. The humoral immune response in humans following cross-perfusion of porcine organs // *Transplantation* - 1995 - N60 - P 861-868/
44. Campbell I.L., Iscaro A., Harrison L.C. IFN-gamma and tumor necrosis factor - alpha Cytotoxicity to murine islets of Langerhans// *J/Immunol/*-1988-N141-p. 2325-2329
45. Chu G., Markmann J.F., Ahn M. Xenogenic but not allogenic pancreatic islet graft survival in recipients lacking humoral immunity and major histocompatibility complex class II antigens / *Trans. Proc.* - 1997 - Vol. 29, Issue 1-2 - P. 625-627
46. P. De Vos, G.H. Wolters et al Obstacles in the application of microencapsulation in isle transplantation// *Int. J. Artif. Organs*-1993-N16-p205-212
47. P. De Vos, B.J. De Haan et al. Association between capsule diameter, adequacy of encapsulation and survival of microencapsulated rat islet allografts // *Transplantation* - 1996 - N62 - P. 893-899
48. De Vos P., Hamel A.F., Tatarkiewicz K. reviews: Considerations for successful transplantation of encapsulated pancreatic islets/ *Diabetologia*-2002-Vol45, Issue2-p159-173
49. P. De Vos, B.J. De Haan et al Improved biocompatibility but limited graft survival after purification of alginate for microencapsulation of pancreatic islets// *Diabetologia*-1997-N40 - p 262-270.
50. D.L. Faustman, V. Hauptfeld et al Prolongation of murine islet allograft survival by pretreatment of islets with antibody directed to Ia determinants// *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*-1981-N78-p. 5156-5159
51. D.L. Faustman, R.M. Steinman et al Prevention of rejection of murine islet allografts by pretreatment with antidendritic cell antibody// *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*-1984-N81-p. 3864-3868
52. T. Freidman, R.N. Smith, R.B. Colvin, J. Iacomini A critical role for human Cd4+ T-cells in rejection of porcine islet cell xenografts // *Diabetes* - 1999-Vol. 48, Issue 12, p 2340-2348
53. A.C. Farney, E. Xenos, D.E. Sutherland et al Inhibition of pancreatic islet beta cell function by tumor necrosis factor is blocked by a soluble tumor necrosis factor receptor// *Transpl. Proc.*-1993-N25-p865-866
54. Fritschy W.M., Wolters G.H., Van Schilfgaarde R. Effect of alginate-polylysine-alginate microencapsulation on in vitro insulin release from rat pancreatic islets// *Diabetes*-1991-N40-p 37-43
55. S.D. Feldman, G.E. Hirshberg et al. Intrasplenic islet isografts // *Surgery* - 1977-N82 - P. 386-394
56. C.G. Groth, O. Korsgren et al. Transplantation of porcine fetal pancreas to diabetic patients// *Lancet*-1994-Vol. 344, N 8934-p. 1402-1404
57. M. Gotoh, T. Maki, S. Satomi et al Immunological Characteristics of purified pancreatic islet grafts// *Transplantation* - 1986 - N42 - p387-390
58. B. Hering, M. Brendel et al International Islet Transplant Registry Newsletter-Giessen-1999
59. W. Heneine, A. Tibell et al. No evidence of infection with endogenous retrovirus in recipients of porcine islet-cell xenografts// *Lancet*-1998-Vol. 352, Issue 9129-P. 695-699
60. J.H. Juang, S. Bonner-Weir, J.P. Vacantu, G.C. Weir Outcome of subcutaneous isle transplantation improved by a polymer device// *Transpl. Proc.* - 1995-N27-p.3215-3219
61. D.B. Kaufman, J.L. Platt, F.L. Rabe et al. Differential roles of Mac-1+ cells and CD4+ and CD8+ T lymphocytes in primary nonfunction and classic rejection of islet allografts// *J/Exp. Med.* 1990-N172-p291-302
62. M Koulmanda, A. Qipo, R.N. Smith Pig islets xenografts are resistant to autoimmune destruction by non-obese diabetic recipients after anti CD4 treatment// *Xenotransplantation*-2003-

- Vol 10-p 178-184
63. B. Kulseng, B. Thu, T. Espevik, G. Skjak-Braek Alginate polylysine microcapsules as immune barrier: permeability of cytokines and immunoglobulins over the capsule membrane // Cell Transp. 1997 - N 6 - p. 387-394
64. L. Kessler, G. Legeay et al Physicochemical and biological studies of corona-treated artificial membranes used for pancreatic islets encapsulation: Mechanism of diffusion and interface modification. // J.Biomed. Mater. Res.-1997-N34-p235-245
65. Kovaric J., Mandel T.E. Islet transplantation. Transpl. Proc.-1999-N31-p45-48
66. Lacy P., Kostianovsky M. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas// Diabetes - 1967 - N16-p. 35-39
67. K.G. Lakshmi, Y. Nitta et al. Indications of islet allotolerance in nonhuman primates// Ann NY Acad. Sci.-2002-N958 - p. 199-203
68. Lanza R.P., Hayes J.L., Chic W.L. Encapsulated cell technology// biotechnology-1996-N14-p 1107-1111.
69. Lanza R.P., Sullivan S.J., Chic W.L. Perspectives in diabetes. Islet transplantation with immunosuppression // Diabetes - 1992 - N41 - P. 1503-1510
70. Lau H., Reemtsma K., Hardy M.A. Prolongation of rat islet allograft survival by direct ultraviolet irradiation of the graft// Science-1984-N223 - p. 607-609
71. Liu E.H., Herold K.C. Transplantation of the islets of Langerhans: new hope for treatment of type 1 diabetes mellitus/TEM-2000-Vol11, N9-p379-382
72. J-H Lee, G.C. Webb, R.D.M. Allen, C. Moran Characterizing and mapping porcine endogenous retroviruses in Western pigs// J/Virology-2002-Vol76, N11-p5548-5556
73. P.E. Lacy, O.D. Hegre et al Maintenance of normoglycemia in diabetic mice by subcutaneous xenografts of encapsulated islets// Science-1991-N254-p 1782-1784
74. McPaul J.J., Stastny P., Freeman R.B. Specificities of antibodies eluted from human cadaveric renal allografts// J.Clin.Invest.-1981-N67-p.1405-1414
75. T. Mandrup-Poulsen, K Bendtzen et al Human tumor necrosis factor potentiates human interleukin 1-mediated rat pancreatic beta-cell cytotoxicity// J. Immunol.-1987-N139-p.4077-4082
76. Montserrat Biarnés, Marta Montolio, Victor Nacher, Mercè Raurell, Joan Soler, and Eduard Montanya α -Cell Death and Mass in Syngeneically Transplanted Islets Exposed to Short- and Long-Term Hyperglycemia Diabetes 51:66-72, 2002
77. MacKenzie D.A., Sollinger H.W., Hullet D.A. Analysis of passenger cell composition of human fetal pancreas: implications for transplantation. // Transpl. Proc. - 1999 - N254 - p. 1782-1784
78. Penfonis A., Langerhans islet preparation in cell transplantation// Transfus. Sci.-1997-Vol.18 N2-p 235-241
79. P.Prevost, S. Flori et al. Application of AN 69 hydrogel to islet encapsulation. Evaluation in streptozotocin-induced diabetic rat model// Ann. NY Acad. Sc.-1997-Vol.831, Issue1-p 344-349
80. Pepper R.J., Najarian J.S. Experimental renal heterotransplantation.III. Passive transfer of transplantation immunity//Transplantation-1967-N5-p514-533
81. Platt J.L. Islet xenotransplantation: how sweet it is/ Springer-Verlag-NY-1994
82. Rayat G.R., Rajotte R.V., Korbitt G.S. Potential application of neonatal porcine islets as a treatment for type 1 diabetes: a review/ Ann NY Acad. SCI.-1999-N875-pl75-188
83. Raplan H.J., Stevens T.R. A reconsideration of immunological privilege within the anterior chamber of the eye// Transplantation - 1975 - Vol 19 - N4 - p. 203-209
84. Robertson, R. P., Kendall, D., Teuscher, A., Sutherland, D. E. R. Long-Term Metabolic Control with Pancreatic Transplantation. Transplantation Proceedings 1994; 26(2):386-387.

85. V.K Ramia, M. Maraist et al Reversal of insulindependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells// Nat. Med.-2000-N6-p278-282
86. J. Shapiro, M.L. Jordan et al. A prospective randomized trial of FK 506/prednisolone vs 506/azathioprine/prednisolone in renal transplant patients // Transp. Proc. - 1995-N27 - p. 814-817
87. A.V. Shapiro, E. Hao, J.R. Lakey et al Development of diagnostic markers for islet allograft rejection // Transpl. Proc. - 1998-N30-p647
88. A. Secchi, J.M. Dubernard et al Endocrinometabolic effects of whole versus segmental pancreas allotransplantation in diabetic patients - a two-year follow-up// Transplantation-1991-Vol 51, N3-p625-629
89. U. Siebers, T. Zekorn, R.G. Bretzel et al. Histocompatibility of semipermeable membranes for implantable diffusion devices (bioartificial pancreas) // Transpl. Proc. - 1990 - N22 - p 834-837
90. S.P. Soon, R.E. Heintz et al Insulin independence in type I diabetic patient after encapsulated islet transplantation// Lancet-1994-N343-p950-951
91. Y.L. Sun, X.J.Ma, D.B. Zhou et al Normalization of diabetes in spontaneously diabetic cynomolgus monkeys by xenografts of microencapsulated porcine islets without immunosuppression// J/Chin. Invest.-1996-N98-p 1417-1422
92. R.B. Stevens, A. Lokeh et al Role of nitric oxide in the pathogenesis of early pancreatic islet dysfunction during rat and human intraportal islet transplantation// Trans. Proc.-1994-N26-p692
93. Shapiro J. Eighty years after insulin: parallels with modern islets transplantation? Can. Med Assoc.J-2002-Vol 167, N 12-p 1398-1400
94. Stevens R.B., Matsumoto S., Marsh C.L. Is islet transplantation a realistic therapy for the treatment of type 1 diabetes in the near future./ Clinical Diabetes-2001-N19-p51-60
95. S. Todo, J.J. Fung et al Liver, kidney and thoracic organ transplantation under FK506. /Ann Surg.-1990-N212-p295-305
96. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. New England Journal of Medicine 1993; 329:977-986
97. Weiss R/A/ Xenotransplantation. BMJ-1998-N317-p931-934