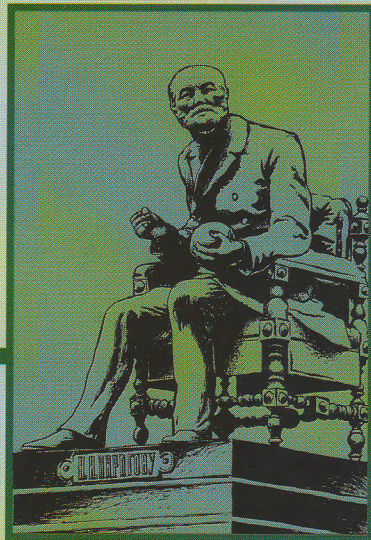


ISSN 0023-1207

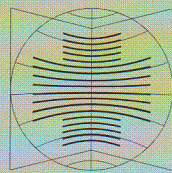
ХИРУРГИЯ

Журнал имени Н.И. Пирогова



3'2005

Научно-практический журнал



МедиаСфера

Ксеногенная трансплантация островковых клеток без иммуносупрессивной терапии в лечении инсулинзависимого сахарного диабета

Канд. мед. наук А.В. ПРОХОРОВ, проф. С.И. ТРЕТЬЯК, доктор мед. наук В.В. РУДЕНОК

Xenogenous transplantation of insular cells without immunosuppressive therapy in the treatment of insulin-dependent diabetes

A.V. PROKHOROV, S.I. TRETYAK, V.V. RUDENOK

2-я кафедра хирургических болезней Белорусского государственного медицинского университета, Минск

Авторами обобщены результаты экспериментальной и клинической ксенотрансплантации в лечении инсулинзависимого сахарного диабета без иммуносупрессивной терапии. Морфологическими исследованиями показана возможность длительного сохранения макроинкапсулированной ксеногенной культуры островковых клеток в сосудистом русле реципиента без иммуносупрессивной терапии. По разработанной методике оперированы 13 больных с сахарным диабетом. Клинико-лабораторные исследования продемонстрировали увеличение уровня тошакового и постпрандиального С-пептида, иммунореактивного инсулина, снижение показателя фруктозамина и потребности в инсулине до 70—85%. Авторы делают заключение о достаточно высокой эффективности внутрисосудистой ксенотрансплантации как выгодной альтернативе аллотрансплантации.

Results of experimental and clinical xenotransplantation without immunosuppressive therapy in the treatment of insulin-dependent diabetes are summarized. Morphologic study demonstrated possibility of long-term preservation of macroincapsular xenogenous culture of the insular cells in the blood of the recipients without immunosuppressive therapy. Thirteen patients with diabetes underwent surgery according to the developed method. Laboratory and clinical examinations demonstrated an increasing level of C-peptide, immunoreactive insulin, a decrease of fructozamine and insulin demand to 70—85%. It is concluded that intravascular xenotransplantation is an effective procedure, and it may be regarded as alternative to allotransplantation.

Khirurgiia (Mosk) 2005; 3: 52—55

В настоящее время создание биоискусственного источника инсулинпродуцирующей ткани представляется наиболее перспективным направлением в хирургическом лечении инсулинзависимого сахарного диабета (ИЗСД). В мире уже накоплен довольно большой опыт алло- и ксеногенных трансплантаций островковых клеток поджелудочной железы [3, 5, 7]. Однако, несмотря на использование различных методологических подходов к трансплантации, результаты лечения остаются не вполне удовлетворительными. Не удается добиться стойкого и длительного гипогликемического эффекта пересадки главным образом из-за реакции отторжения и гибели трансплантата. Основным методом предупреждения острого и хронического отторжения остается иммуносупрессивная терапия, дающая выраженный нефро- и гепатотоксический эффект и оказывающая крайне неблагоприят-

ное влияние на течение сахарного диабета и иммунный статус реципиентов [5, 7, 11].

Одним из направлений в преодолении иммунного барьера реципиентов является иммуноизоляция пересаживаемых клеток. Многочисленными экспериментальными и клиническими исследованиями была показана возможность иммуноизоляции островковых клеток путем их микроинкапсуляции в гелевые, агарозные или альгинат-полилизинные мембраны. Однако развитие фиброзной ткани быстро приводило к нарушению питания, апоптозу и гибели культуры клеток [6, 8].

Использование иммунопривилегированных зон “местообитания” трансплантата представляется нам более привлекательным направлением в клеточной трансплантации [4]. Это позволяет отказаться от иммуносупрессивной терапии и использовать не только аллогенные, но и ксеногенные источники инсулинпродуцирующей ткани. Последнее весьма актуально из-за дефицита фетального и взрослого донорского аллогенного материала, а также многих этических проблем [3, 5, 7, 10]. Достаточно сказать, что, по дан-

© Коллектив авторов, 2005

© Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова, 2005

ным зару-
тальной
4 взросл-

Про-
вания на
ресадка
ровковы
аллокса
неспосо
иммуно
менена м
лы из пр
мкм [13]
произво
хождении
тотомии
П-образ
контрол
нотранс
пирован
лизации
3—4-е су
следован
нены чер
На серий
сле тран
слежива
да. Прос
ков тром
вались кл
но распо
плазмы (
рышки и
компакт
30 клеток
ленный р
клеточны



Рис. 1. М-
ной желе-
через 2 м
Стрелками
силином и

ковых клеток для каждой трансплантации составляло от 7 до 10 млн (рекомендуемое количество >6000 IЕs на 1 кг [7, 11, 12]).

Первой пациентке ксенотрансплантация была выполнена по разработанной в эксперименте методике в абдоминальный отдел аорты. Несмотря на то что послеоперационный период протекал без осложнений, травматичность вмешательства, а также потенциальная возможность общехирургических осложнений (кровотечение, отрыв капсулы, тромбоз с нарушением кровоснабжения нижних конечностей, органов малого таза, органов системы нижнебрыжеечной артерии) заставили нас изменить методику. Последующим реципиентам трансплантация была выполнена в глубокую артерию бедра (ГАБ) с использованием аутовенозной ангиопластики [1].

До- и послеоперационный контроль эффективности трансплантации осуществляли на основании клинических данных, а также лабораторного определения суточного профиля гликемии и потребности в инсулине, уровня *C*-пептида в сыворотке (*C*-Peptid Itma, "Immunotech", Чехия), сывороточного фруктозамина — ФА (Fructosamin kit, "Rosh-diagnostik", Польша), ИРИ (Rio-ИНС-ПГ-1251, ИБОХ, Беларусь).

Первые сутки послеоперационного периода у всех пациентов характеризовались нормализацией уровня глюкозы крови и снижением потребности в инсулине до 6—16 ЕД/сут. Такое резкое снижение потребности в инсулине мы связывали с вымыванием из капсулы "базального" инсулина. В последующие сутки отмечались значительные колебания гликемии с потребностью в инсулине до 40—45 ЕД/сут. Наибольшие колебания гликемии наблюдались у реципиентов с аутоиммунным ИЗСД. Такое нестабильное течение диабета скорее всего было связано с адаптацией культуры клеток к новым условиям функционирования. Через 1—1,5 мес после пересадки отмечались постепенная стабилизация течения диабета и снижение суточного уровня глюкозы до 4,5—9,8 ммоль/л, а потребности в инсулине до 25—32 ЕД/сут. В последующем эти показатели оставались стабильными и общее снижение потребности в инсулине достигало 60—65% (рис. 3).

Наиболее благоприятный эффект был отмечен у 3 больных с ИЗСД после перенесенного панкреонекроза. Колебания уровня глюкозы в раннем послеоперационном периоде были незначительными и легко корригировались инъекциями простого инсулина. У этих пациентов потребность в инсулине через 2 нед после трансплантации уменьшилась на 80—85% и составила 16—18 ЕД/сут с сохранением стойкой нормогликемии.

Одновременно со стабилизацией течения диабета значительно улучшилось состояние больных. Исчезли слабость, жажда, чувство страха перед возможным развитием гипогликемической комы. Через 6—8 мес больные отмечали увеличение массы тела на 3—5 кг.

Исследования уровня *C*-пептида до операции свидетельствовали о полной функциональной несостоя-

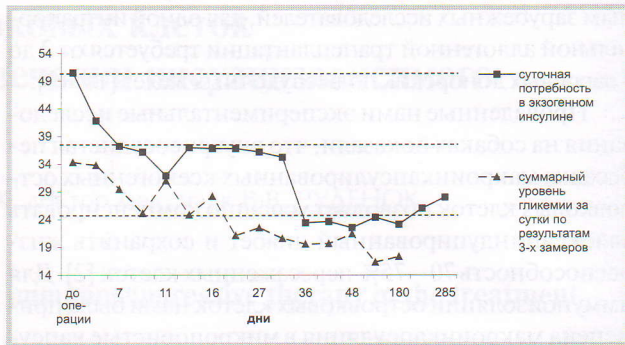


Рис. 3. Измерение уровня суточной потребности в экзогенном инсулине (в ЕД) и суммарный уровень глюкозы (в мМ) у реципиентов ($n=8$) после трансплантации.

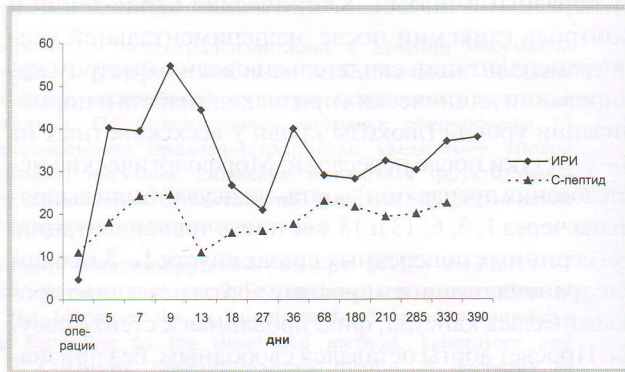


Рис. 4. Измерение уровня ИРИ (в мкЕд) и *C*-пептида (в нМ) у реципиентов ($n=8$) после трансплантации.

Стрелками обозначены периоды, когда происходило нарастание показателей.

тельности собственных β -клеток. У всех пациентов этот показатель до трансплантации не определялся. Исследования уровня *C*-пептида на 7-е сутки, через 3, 6, 12, 18 мес демонстрировали его повышение с нуля до $28,0 \pm 4,0$ нМ ($p < 0,05$) натощак, а постпрандиальный уровень составлял $36,0 \pm 8,1$ нМ ($p < 0,05$). Повышение уровня *C*-пептида прямо коррелировало со снижением потребности в инсулине, суточной гликемии и достоверным повышением уровня ИРИ до значений, составляющих $41 \pm 11,2$ мкЕд. С течением времени наступало и достоверное снижение показателя сывороточного ФА на 30—60 мкМ как маркера гликирования белков (рис. 4).

Всем пациентам через 2 нед, 1, 6, 12 и 18 мес были выполнены контрольные сонография и доплерография сосудов в зоне трансплантации с целью подтверждения отсутствия тромбоза и сохранения кровотока. Ни в одном наблюдении тромбоза не отмечено. Скорость кровотока по общей бедренной артерии составляла $\sim 1,35$ м/с, по глубокой артерии бедра в зоне имплантации капсулы $\sim 1,5$ м/с.

В послеоперационном периоде осложнения были отмечены у 2 пациентов. У одного больного, оперированного на фоне хронической почечной недоста-

точности...
ние 30 дн...
ства в вер...
николо ин...
аутовено...
аневризм...
культуры...
ность в и...
сле транс...
зателю по...

Две п...
12 мес по...
зам экзог...
посттран...
но высок...
подтверж...

Наиб...
плантаци...
генным И...
Максима...
лине сост...
кемии в...
временн...
ентов ско...
диабета...
показали...
ность пла...
ры клето...
отбора ре...
нию, неяс...
нормогли...
достаточ...
ных теста...
ровков су...
ный резу...
енток, ко...
суточным...
жали фун...

ЛИТЕРАТУРА

1. Прохорова И. В. Диабетическая зависимость от инсулина. Вестник Минздрава России. 2004; 1(1): 1-4.
2. Прохорова И. В. Диабетическая зависимость от инсулина. Методы лечения. Вестник Минздрава России. 2004; 1(1): 5-8.
3. Скалецкий А. В. Трансплантация поджелудочной железы. Вестник Минздрава России. 2004; 1(1): 9-12.
4. Шотт А. В. Трансплантация поджелудочной железы. Вестник Минздрава России. 2004; 1(1): 13-16.
5. Шумков А. В. Трансплантация поджелудочной железы. Вестник Минздрава России. 2004; 1(1): 17-20.
6. De Vos P. Transplantation of the pancreas. In: *Diabetes Mellitus*. 2004; 1(1): 21-24.

высокими уровнями С-пептида и ИРИ. Одной из веро-
ятных причин неположного гипогликемического эффек-
та пересадки может быть гибель определенных путей
островковых клеток в раннем посттрансплантационном
периоде из-за нарушения трофики клеток. Ряд экспе-
риментальных исследований свидетельствует, что от-
сутствие ревааскуляризации трансплантата в первые не-
сколько недель после пересадки ведет к апоптозу и ги-
бели островковых клеток [6].

Анализируя результаты экспериментальных и кли-
нических исследований, можно сделать заключение,
что ксенотрансплантация островковых клеток подже-
лудочной железой является выгодной альтернативой
аллотрансплантации, так как обладает высокой функ-
циональной способностью и позволяет преодолевать
дефицит аллогенного клеточного материала. Макро-
капсуляция островковых клеток с имплантацией их в
сосудистое русло как иммунологически привилеги-
рованную зону дает возможность преодолеть острое и
хроническое отторжение трансплантата без иммуно-
супрессивной терапии, значительно снизить инсу-
линозависимость реципиентов, уменьшить потреб-
ность в инсулине, компенсировать гипо- и гипергли-
кемические состояния, стабилизировать течение диа-
бета, улучшить качество жизни больных. В то же вре-
мя ряд вопросов требует дальнейшего изучения. Это
касается разработки более совершенных методов им-
муноизоляции, создания адекватной васкуляризации
и трофики трансплантата. Неоднозначны результаты
пересадки у больных с ИЗСД при соблюдении стан-
дартного протокола трансплантации требуется дальней-
шего изучения критериев предоперационного ото-
бра реципиентов. В первую очередь это касается боль-
ных молодого возраста с аутоиммунной природой
ИЗСД. Одним из важнейших критериев мы считаем
предтрансплантационное исследование питококсии-
ности плазмы реципиента в отношении пересаживае-
мой культуры клеток.

transplantation of encapsulated pancreatic islets. *Diabetologia* 2002; 45: 2: 159—173.

7. Koyanagi J., Mandel T.E. Islet Transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 45—48.

8. Lanza R.P., Borland K.M., Staruk J.E. et al. Transplantation of en-
capsulated islets into spontaneously diabetic BB/Wor rats without
immunosuppression. *Endocrinology* 1992; 131: 637—642.

9. Misher F., Mordes J.P., Rossini A.A. Animal models of diabetes. *Am J
Med* 1981; 70 (2): 353—360.

10. Platt J.L., Lim S.S. The Future Promises of Xenotransplantation. *Ann
N Y Acad Sci* 1998; 862: 5—18.

11. Ryan E.A., Lakey J.R.T., Paty B.W. et al. Successful Islet Transplan-
tation. *Diabetes* 2002; 51: 2148—2157.

12. Shapiro A.M., Lakey J.R., Rytting K.E. et al. Islet transplantation in sev-
en patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free im-
munosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000; 343: 230—238.

13. Trevisan S.L., Prochoren V.A., Gortov V.A., Mohr T.V. The use of
EASD-congress. Hungary. Budapest. 17—23 September 2002; 420.
Поступила 10.02.04

1. Прохоров А.В., Третьяк С.И., Горанов В.А., Романович В.П. Интраосу-
зная ксенотрансплантация островковых клеток в лечении инсулин-
зависимого сахарного диабета. *Достижения медицинской науки Бела-
руси. Выпуск VII. Минск: ГУ РНМБ* 2002; 96—97.

2. Прохоров А.В., Третьяк С.И., Горанов В.А., Маркелов Д.В. Сво-
бодная трансплантация культуры β-клеток в лечении эксперимен-
тального сахарного диабета. Актуальные вопросы современной
эндокринологии. *Материалы юбилейной научной конференции,
посвященной 80-летию ВГМУ*, ч. 2. Минск 2001; 91—93.

3. Скалицкий Н.Н., Лончарова Т.Н., Засорина Л.В. и др. Ксенотранс-
плантация культуры островковых клеток на пути достижения длитель-
ной инсулиннезависимости у больных сахарным диабетом 1 типа.
Вестник трансплантологии и искусственных органов 2002; 3: 85—86.

4. Шотт А.В., Третьяк С.И., Леонтьев А.С. Необычные иммуноло-
гические реакции в трансплантологии. 23-й пленум Правлений
МЗ РБ в двух частях. Гродно 1999; 190—191.

5. Шушков В.И., Блонкин В.Н., Скалицкий Н.Н. и др. Трансплантация
островковых клеток поджелудочной железы. М: Канон 1995; 383.

6. De Vos P., Hamel A.F., Tatarkevitch K. Considerations for successful

ЛИТЕРАТУРА

точности в уремической стадии нефропатии, в тече-
ние 30 дней отмечалась лимфофагия в зоне вмешательства.
В другом наблюдении воз-
стала в верхней трети бедра. В другом наблюдении воз-
никло инфицирование раны с несостоятельностью
аутогенной ангиопластики и развитием ложной
аневризмы Габ, что потребовало удаления капсулы с
культурой клеток и перевязки Габ. При этом потреб-
овалась в инсулине, снизившаяся с 52 до 24 ЕД/сут по-
сле трансплантации, возвратилась к исходному пока-
зателю после удаления инвазивной имплантата.

Две пациентки с аутоиммунным ИЗСД через 11 и
12 мес после трансплантации вернулись к прежнему до-
зам экстенсивного инсулина, хотя уровень тошкотового и
посттрансплантационного С-пептида остаются у них доволь-
но высокими до настоящего времени. Это косвенно
подтверждает функциональное трансплантата.

Наиболее благоприятный результат ксенотранс-
плантации был отмечен у реципиентов с панкреато-
генным ИЗСД и у больных с нормальной массой тела.
Максимальное снижение у них потребности в инсу-
лине составило 70—85% при стабильном уровне гли-
кемии в течение всего периода наблюдения. Долго-
временный эффект трансплантации у этих реципи-
ентов скорее всего связан с неиммунной природой
диабета и низкой питококсией плазмы. Как
показали наши исследования, низкая питококсия
нормализуется в отношении пересаживаемой культу-
ры клеток является одним из важнейших критериев
отбора реципиентов для трансплантации. К сожале-
нию, несной остается причина отсутствия полного
нормализующего эффекта трансплантации при
достаточно позитивных лабораторно-функциональ-
ных тестах. При этом количество пересаженных ост-
ровков существенно не влияло на послеоперацион-
ный результат. Особо следует отметить, что у 2 паци-
ентов, которые через 11 и 12 мес вернулись к прежнему
суточным дозам инсулина, островковые клетки продол-
жали функционировать, что подтверждалось доволь-но