



БІАЛОГІЯ

УДК 616.379-008.64

КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИЯ КЛЕТОК
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

А.А. Чиркин*, С.Г. Подолинский**, Э.А. Доценко***

Учреждение образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»**Учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»*****Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»*

В Республике Беларусь на кафедрах общей хирургии Белорусского и Витебского государственных медицинских университетов в 80–90-х годах прошлого века практически синхронно развивалось научное направление коррекции нарушенных функций организма пациента путем ксенотрансплантации клеток поджелудочной железы.

Цель статьи – представить материалы о вкладе белорусских ученых в проблему ксеногенной трансплантации клеток поджелудочной железы, поскольку в материалах по теме «Трансплантация островковых клеток» в русской и английской версиях Википедии такой информации не обнаружено.

Материал и методы. Источником эндокринной ткани для культивирования служила поджелудочная железа новорожденных несосавших поросят, из которой брали тело и хвост органа. Для приготовления культуры для одной ксенотрансплантации требуется 6–7 поджелудочных желез. Согласно патенту RU2135193C1, источником бета-клеток могут быть также железы новорожденных кроликов или их взрослых особей массой до 1 кг.

Результаты и их обсуждение. С 1994 по 1999 год в городе Витебске были проведены внутримышечные ксенотрансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы 56 пациентам, в том числе 30 больным с инсулинзависимым сахарным диабетом и 26 больным с инсулиннезависимым сахарным диабетом. В городе Минске был использован малоинвазивный метод путем трансплантации микроинкапсулированной ксеногенной клеточной культуры в сосудистое русло реципиента без применения иммуносупрессивной терапии.

Заключение. Рассматриваются два варианта ксенотрансплантации клеток поджелудочной железы. В первом варианте ксенотрансплантация островковых клеток поджелудочной железы была направлена на введение гормонпродуцирующих клеток в паренхиму печени, что переводило систему управления метаболизмом на уровень беспозвоночных, у которых гепатопанкреас отвечает за обменные и регуляторные функции метаболизма. Во втором варианте ксенотрансплантация инкапсулированных островковых клеток поджелудочной железы в кровеносное русло приводила к созданию временных биоискусственных фрагментов поджелудочной железы.

Ключевые слова: сахарный диабет, ксенотрансплантация, островковые клетки, поджелудочная железа.

XENOTRANSPLANTATION OF PANCREATIC CELLS IN THE REPUBLIC OF BELARUS

A.A. Chirkin*, S.G. Podolinsky**, E.A. Dotsenko***

*Education Establishment "Vitebsk State P.M. Masherov University"

**Education Establishment "Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University"

***Education Establishment "Belarusian State Medical University"

In the Republic of Belarus, at the Departments of General Surgery of the Belarusian and Vitebsk State Medical Universities in the 1980s and 1990s, the scientific direction of correcting impaired functions of the patient's body by xenotransplantation of pancreatic cells developed almost synchronously.

The purpose of the article is to present materials on the contribution of Belarusian scientists to the problem of pancreatic cell xenogenic transplant, since such information was not found in the materials on the topic of "Islet cell transplant" in the Russian and English versions of Wikipedia.

Material and methods. *The source of endocrine tissue for cultivation was the pancreas of newborn piglets that had not sucked, from which the body and tail of the organ were taken. To prepare the culture for one xenotransplantation, 6–7 pancreas are required. According to RU2135193C1 patent, the source of beta cells can also be the glands of newborn rabbits or their adult individuals which weigh up to 1 kg.*

Findings and their discussion. *From 1994 to 1999, in the City of Vitebsk, intramuscular xenogeneic transplanting of Pancreatic islet cell cultures was performed on 56 patients, including 30 patients with IDDM and 26 patients with NIDDM. In Minsk, a minimally invasive method was used by transplanting a microencapsulated xenogenic cell culture into the recipient's vascular bed without the use of immunosuppressive therapy.*

Conclusion. *Two variants of pancreatic cell xenotransplantation are considered. In the first variant, xenotransplantation of pancreatic islet cells was aimed at introducing hormone-producing cells into the liver parenchyma, which transferred the metabolic control system to the level of invertebrates, in which the hepatopancreas is responsible for metabolic and regulatory functions of metabolism. In the second variant, xenotransplantation of encapsulated pancreatic islet cells into the bloodstream led to the creation of temporary bioartificial fragments of the pancreas.*

Key words: *diabetes mellitus, xenotransplant, islet cells, pancreas.*

В Республике Беларусь на кафедрах общей хирургии Белорусского и Витебского государственных медицинских университетов в 80–90-х годах прошлого века практически синхронно развивалось научное направление коррекции нарушенных функций организма больных путем ксенотрансплантации клеток поджелудочной железы. В СССР первая трансплантация культуры островковых клеток поджелудочной железы была произведена в октябре 1979 г. в Институте трансплантологии и искусственных органов Министерства здравоохранения СССР В.И. Шумаковым и сотрудниками [1–3]. В приведенных статьях вторым или третьим автором был профессор В.Н. Блюмкин, который в 60-е годы возглавлял кафедру гистологии в то время Витебского государственного медицинского института. В списке авторов был также Н.Н. Скалецкий, защитивший в 1987 году кандидатскую диссертацию по ксенотрансплантации культур клеток поджелудочной железы плодов человека крысам с экспериментальным диабетом. В.Н. Блюмкин и Н.Н. Скалецкий разработали оригинальные методы ксенотрансплантации клеток поджелудочной железы, полученных из несосавших новорожденных крыс и кроликов. В это же время в витебской медсанчасти строительных организаций, на кафедре общей хирургии по инициативе профессора Ю.Б. Мартова и в Республиканском липидном лечебно-диагностическом центре метаболической терапии – РЛЛДЦМТ (научный руководитель профессор А.А. Чиркин; главный врач доктор медицинских наук Э.А. Доценко) под контролем В.Н. Блюмкина была организована лаборатория выделения и культивирования клеток островков Лангерганса и обучен ее персонал. Все клинические исследования проводились под общим руководством профессора Ю.Б. Мартова.

Целью статьи является изложение материалов о вкладе белорусских ученых в проблему ксеногенной трансплантации клеток поджелудочной железы, поскольку в материалах по теме «Трансплантация островковых клеток» в русскоязычном и англоязычном вариантах Википедии такой информации не оказалось [4].

Материал и методы. В работе был применен принцип патента RU2135193C1 «Способ получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, для трансплантации больным сахарным диабетом с использованием феномена миграции клеток, материала, содержащего бета-клетки поджелудочной

железы, для трансплантации больным сахарным диабетом и способ лечения сахарного диабета методом его трансплантации». Источником эндокринной ткани для культивирования служили поджелудочные железы новорожденных, не сосавших поросят, у которых забирали тело и хвост органа. Для подготовки культуры на одну ксенотрансплантацию требуется 6–7 поджелудочных желез. Согласно упомянутому патенту источником бета-клеток могут служить железы новорожденных кроликов или их взрослых особей массой до 1 кг. После забора желез в строго асептических условиях их измельчают, удаляют мелкие кровеносные сосуды и соединительнотканые элементы, капсулу, фрагменты жира и помещают для промывания в раствор Хенкса (без индикатора) с антибиотиком. Полученную крупнозернистую взвесь повторно измельчают еще 2–3 раза с промыванием после каждого измельчения раствором Хенкса (без индикатора) с антибиотиком, а затем средой для культивирования 199 (с феноловым красным). Таким образом получается мелкозернистая гомогенная масса в виде манной крупы, которую переносят в матрасные колбы и заливают 120 мл среды для культивирования 199 с 10% сыворотки плодов крупного рогатого скота и раствором антибиотика в дозе 100 мкг/мл. Культивирование проводится в термостате при температуре +37 °С. Каждые 2–3 дня производится смена культуральной среды. На 3–4 сутки колбы переносят в термостат с температурой +24 °С с целью уничтожения в культуре дендритных клеток. По истечении 7–8 суток культура пригодна для трансплантации. В процессе культивирования забирают часть материала для гистологического исследования, культуральную жидкость также исследуют на содержание С-пептида и иммунореактивного инсулина. Помутнение культуральной среды, изменение ее pH, а также образование пузырьков газа или явный визуальный рост колоний свидетельствовали о бактериальном загрязнении и гибели культуры. Известны различные способы лечения сахарного диабета путем свободной трансплантации островковых клеток поджелудочной железы (ОКПЖ), в частности, путем введения в печень, через воротную вену или ее ветви, в реканюлированную пупочную вену, в пульпу селезенки, в полость брюшины, в специально создаваемый мышечный карман или внутримышечно (в прямую мышцу живота). В то же время в БГМУ разрабатывался новый метод хирургического лечения сахарного диабета первого типа на основе клеточных трансплантационных технологий под руководством доктора медицинских наук, профессора, ныне академика НАН Беларуси С.И. Третьяка. Основным направлением исследования было развитие способа пересадки ксеногенных ОКПЖ плодов кроликов в ток крови и изучение ответной реакции реципиента (собаки) с экспериментальным аллоксановым диабетом на ксенотрансплантацию. Это был малоинвазивный метод путем трансплантации микроинкапсулированной ксеногенной культуры клеток в сосудистое русло реципиента без использования иммуносупрессивной терапии. В дополнение к методу В.Н. Блюмкина для создания высокоактивного и устойчивого трансплантата впервые была использована инкубация клеток в условиях атмосферы азота и одновременного понижения температуры инкубации до +24 °С [5]. Кроме того за 6 дней до трансплантации в культуру клеток вносили стерильные растворы диабетопротекторов (в разведении 1:100) и сульфата цинка (10 мг/мл). Такие модификации обеспечивали замедление метаболизма и пролиферации клеток и снижение рецепторной чувствительности клеток к действию повреждающих агентов [6]. Следует отметить, что под руководством С.И. Третьяка было создано большое количество оригинальных подходов к повышению выживаемости и обеспечению инсулинпродуцирующей функции вводимых клеток больным диабетом.

Результаты и их обсуждение. В 1994 году были утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь подготовленные Ю.Б. Мартовым и С.Г. Подолинским методические рекомендации «Особенности лечения некоторых хирургических заболеваний у больных сахарным диабетом», в которых было указано об аллотрансплантации поджелудочной железы, часто совместно с почкой. Это наиболее эффективный метод лечения сахарного диабета, но он относится к наиболее сложным и опасным хирургическим вмешательствам и применяется главным образом у больных с диабетической нефропатией и ее терминальной стадией. Для группы больных, у которых специфические осложнения еще не наступили или выражены слабо, существует альтернатива органной пересадки – свободная трансплантация островковых клеток поджелудочной железы. Указанный метод оказался эффективным после предварительного культивирования тканей органа с целью выделения наибольшего числа бета-клеток островков Лангерганса. В это же время были сформулированы основные показания к свободной алло- и ксенотрансплантации островковых клеток поджелудочной железы: 1) лабильное течение инсулинзависимого сахарного диабета; 2) инсулинзависимый диабет, осложненный дистальной нефропатией; 3) инсулинзависимый диабет с висцеральной нефропатией; 4) инсулинзависимый диабет

с диабетической нефропатией в доклинической и пренефротической стадиях; 5) инсулинзависимый диабет с диабетической ретинопатией. В лабораториях РЛЛДЦМТ исследовались биологические материалы, поступавшие для контроля эффективности ксенотрансплантаций ОКПЖ у больных инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) и инсулиннезависимым сахарным диабетом (ИНСД).

На 23 Пленуме Правления общества белорусских хирургов и на юбилейной конференции, посвященной 60-летию эндокринологической службы Республики Беларусь, в 1999 году было сообщено, что с 1994 по 1999 год в городе Витебске были проведены внутримышечная ксеногенная трансплантация культур ОКПЖ 56 пациентам, в том числе 30 больным ИЗСД и 26 пациентам с ИНСД. В то время у больных ИЗСД были недостаточно изучены взаимосвязи нарушений обмена углеводов с функциональным состоянием щитовидной железы. В процессе исследований было показано, что ксенотрансплантация культуры ОКПЖ в комплексном лечении больных сахарным диабетом оказалась эффективным способом стабилизации обмена углеводов за счет снижения уровней гликемии и глюкозурии, а также гликемического профиля крови при одновременном снижении суточной потребности в экзогенном инсулине у больных как ИЗСД, так и ИНСД. У больных ИЗСД в процессе лечения снижалась концентрация тироксина и увеличивалось содержание трийодтиронина, а у больных ИНСД повышенные концентрации тироксина и трийодтиронина постепенно снижались. У больных ИЗСД после ксенотрансплантации культуры ОКПЖ установлены положительная корреляционная зависимость между концентрациями трийодтиронина и отрицательная корреляционная зависимость с показателями обмена углеводов, а у больных ИНСД – выявлены положительная корреляционная зависимость концентрации тироксина и отрицательная корреляционная зависимость концентрации трийодтиронина с показателями обмена углеводов [7]. У больных ИЗСД было достигнуто снижение суточной потребности в экзогенном инсулине на 28%. Отмечались нормализация уровня триглицеридов сыворотки крови в 60% случаев и снижение концентрации холестерина липопротеинов низкой плотности у 75% больных. У больных ИНСД наблюдались снижение уровня гликемии, глюкозурии и потребности в экзогенном инсулине в среднем на 33%, а также нормализация уровня холестерина липопротеинов высокой плотности, особенно у пациентов с поздними стадиями ангиопатии. Напряженность клеточного и иммунного ответа к антигенам ксенокультуры (по реакции бласттрансформации) у больных ИЗСД и ИНСД после ксенотрансплантации в ранние сроки была невысокой, а к исходу третьего месяца после операции сенсibilизации лимфоцитов реакции к антигенам ксенокультуры не было выявлено. В целом продолжительность эффекта операции у больных ИЗСД составила 7–9 месяцев, а у больных ИНСД – 5–7 месяцев [8]. В 1996 году были опубликованы обзоры о ксенотрансплантации ОКПЖ в процессе лечения осложнений сахарного диабета в хирургической клинике [9; 10].

В это же время на кафедре общей хирургии БГМУ было установлено, что при перемещении культуры ОКПЖ в организм реципиента возможны клеточный «посттрансплантационный стресс», утрата большого количества клеток за счет апоптоза, снижение жизнеспособности и их функциональной активности. Для борьбы с этими негативными явлениями ксенотрансплантации культур ОКПЖ были предложены микрокапсуляция культур ОКПЖ и трансплантация их в сосудистое русло. В результате удалось добиться повышения резистентности перевиваемых клеток на 40% и сохранение жизнеспособности 90% перевитых клеток. Более того, микрокапсуляция ОКПЖ и трансплантация в сосудистое русло позволили осуществлять ксенотрансплантации без иммуносупрессивной терапии. Установлено, что в предложенном способе ксенотрансплантации ОКПЖ в первые дни после операции питание инкапсулированных клеток осуществляется за счет диффузии трофогенов в полость капсулы через ее микропоры. В первые дни после ксенотрансплантации развиваются процессы организации и ангиогенеза, за счет которых поддерживается жизнеспособность и функционирование трансплантата. К 6-му месяцу после пересадки ОКПЖ полностью формируется организованная структура биоискусственной поджелудочной железы. Следовательно, внутрисосудистая ксенотрансплантация фетальных ОКПЖ является высокоэффективным методом хирургического лечения сахарного диабета 1 типа, позволяющим снизить инсулинопотребность на 60–75%. На протяжении 2,5 лет активность трансплантата остается стабильной. Себестоимость одной внутрисосудистой ксенотрансплантации по разработанной методике составляет 500–600 долларов США [6].

Заключение. Таким образом, изложены два наиболее актуальных направления ксенотрансплантации островковых клеток поджелудочной железы, разработанные в Витебском государственном медицинском университете и Белорусском государственном медицинском университете. В первом варианте

ксенотрансплантация островковых клеток поджелудочной железы была направлена на введение гормон-продуцирующих клеток в паренхиму печени, что переводило систему управления метаболизмом на уровень беспозвоночных организмов, у которых за метаболические и регуляторные функции обмена веществ отвечает гепатопанкреас. Во втором варианте ксенотрансплантация инкапсулированных островковых клеток поджелудочной железы в кровеносное русло приводила к созданию временных биоискусственных фрагментов поджелудочной железы. Дальнейшая разработка этих методов является актуальной задачей, поскольку в России в декабре 2024 года впервые провели уникальную операцию по пересадке островков Лангерганса после удаления поджелудочной железы в печень. Хирурги Приволжского исследовательского медицинского университета (ПИМУ) выполнили аутоотрансплантацию островков Лангерганса пациентам с хроническим панкреатитом. Подобная инновационная методика позволяет бороться с тяжелым болевым синдромом и снижает риск развития панкреатогенного диабета, сохраняя остаточную функцию эндокринной системы. Операция включала полное удаление поджелудочной железы у двух пациентов, страдающих от невыносимой боли, и пересадку собственных островков Лангерганса в печень [11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Шумаков, В.И. Культуры островковых клеток поджелудочной железы плодов человека и трансплантация их больной сахарным диабетом / В.И. Шумаков, В.Н. Блюмкин, Б.И. Шальнев [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 1981. – № 1. – С. 25–31.
2. Шумаков, В.И. Клинические результаты аллогенной и ксеногенной трансплантации культуры островковых клеток поджелудочной железы больным сахарным диабетом / В.И. Шумаков, С.Н. Игнатенко, В.Н. Блюмкин [и др.] // Трансплантация и искусственные органы. – М., 1984. – С. 19–21.
3. Шумаков, В.И. Результаты трансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы больным сахарным диабетом / В.И. Шумаков, В.Н. Блюмкин, С.Н. Игнатенко [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 1985. – № 5. – С. 67–70.
4. Трансплантация островковых клеток. – URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Трансплантация_островковых_клеток (дата обращения: 24.01.2025).
5. Шумаков, В.И. Клиническая свободная трансплантация островковых клеток поджелудочной железы больным сахарным диабетом / В.И. Шумаков, В.Н. Блюмкин, Н.Н. Скалецкий [и др.] // Трансплантация островковых клеток поджелудочной железы: очерки. – М.: «Канон», 1995. – С. 38–42, 122–311.
6. Прохоров, А.В. Хирургическое лечение инсулинзависимого сахарного диабета путем ксенотрансплантации островковых клеток поджелудочной железы в артериальное русло (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.27 / Прохоров Александр Викторович; Белорус. мед. акад. последиплом. образования. – Минск, 2005. – С. 9–13, 29–32.
7. Подолинский, С.Г. Уровень трийодтиронина и тироксина и углеводный обмен у больных, перенесших ксенотрансплантацию культуры островковых клеток поджелудочной железы по поводу сахарного диабета / С.Г. Подолинский, Ю.Б. Мартов, А.А. Чиркин, В.А. Дивин // Медицинские новости. – 1999. – № 4. – С. 61–63.
8. Подолинский, С.Г. Ксенотрансплантация культуры островковых клеток в лечении сахарного диабета и его осложнений / С.Г. Подолинский, Ю.Б. Мартов, А.А. Чиркин, Э.А. Доценко, Т.А. Путилина // Актуальные вопросы эндокринологии. – Минск, 1999. – С. 147–148.
9. Мартов, Ю.Б. Современные методы профилактики и лечения диабетической ангиопатии / Ю.Б. Мартов, С.Г. Подолинский // Новости хирургии. – 1996. – № 1. – С. 46–53.
10. Мартов, Ю.Б. Трансплантация культуры β -клеток поджелудочной железы в лечении больных сахарным диабетом / Ю.Б. Мартов, С.Г. Подолинский // Международные обзоры по медицинским технологиям и лечебной практике. – 1996. – № 1. – С. 3–7.
11. Первая в России трансплантация островков Лангерганса: что это значит для пациентов. – URL: <https://медуниверситет.рф/news/pervaya-v-rossii-transplantatsiya-ostrovkov-langergansa-chto-eto-znachit-dlya-patsientov> (дата обращения: 30.12.2024).

REFERENCES

1. Shumakov V.I., Blumkin V.N., Shalnev B.I. *Problemy endokrinologii* [Issues of Endocrinology], 1981, 1, pp. 25–31.
2. Shumakov V.I., Ignatenko S.N., Blumkin V.N. *Transplantatsiya i iskusstvennyye organy* [Transplant and Artificial Organs], M., 1984, pp. 19–21.
3. Shumakov V.I., Blumkin V.N., Ignatenko S.N. *Problemy endokrinologii* [Issues of Endocrinology], 1985, 5, pp. 67–70.
4. *Transplantatsiya ostrovkovykh kletok* [Islet Cell Transplant], URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Transplantatsiya_ostrovkovykh_kletok (Accessed: 24.01.2025).
5. Shumakov V.I., Blumkin V.N., Shkaletski N.N. *Transplantatsiya ostrovkovykh kletok podzheludochnoy zhelezy (ocherki)* [Pancreas Islet Cell Transplant (Essays)], M.: “Kanon”, 1995, pp. 38–42, 122–311.
6. Prokhorov A.V. *Khirurgicheskoye lecheniye insulinzavisimogo sakharnogo diabeta putem ksenotransplantatsii ostrovkovykh kletok podzheludochnoy zhelezy v arterialnoye ruslo (eksperimentalno-klinicheskoye issledovaniye): avtoref. dis. ... dokt. med. nauk* [Surgery of Insulin Dependant Diabetes by Xenogeneic Transplanting of Pancreatic Islet Cells into Arterial Current (Experimental and Clinical Research): Dr.Sc. (Medicine) Dissertation Abstract], Minsk, 2005, pp. 9–13, 29–32.
7. Podolinski S.G., Martov Yu.B., Chirkin A.A., Divin V.A. *Meditsinskiye novosti* [Medical News], 1999, 4, pp. 61–63.
8. Podolinski S.G., Martov Yu.B., Chirkin A.A., Dotsenko E.A., Putilina T.A. *Aktualniye voprosy endokrinologii* [Current Issues of Endocrinology], Minsk, 1999, pp. 147–148.
9. Martov Yu.B., Podolinski S.G. *Novosti khirurgii* [News of Surgery], 1996, 1, pp. 46–53.
10. Martov Yu.B., Podolinski S.G. *Mezhdunarodnyye obzory po meditsinskim tekhnologiyam i lechebnoy praktike* [Medical Technology International Reviews], 1996, 1, pp. 3–7.
11. *Pervaya v Rossii transplantatsiya ostrovkov Langergansa: chto eto znachit dlya patsiyentov* [The first transplantation of islets of Langerhans in Russia: what does this mean for patients], URL: <https://meduniversitet.rf/news/pervaya-v-rossii-transplantatsiya-ostrovkov-langergansa-chto-eto-znachit-dlya-patsientov> (Accessed: 30.12.2024).

Поступила в редакцию 28.01.2025

Адрес для корреспонденции: e-mail: alexchir43@gmail.com – Чиркин А.А.