

*А.А. Глинник, О.П. Назарова*

## **Отдаленные результаты ксенотрансплантации островковых клеток поджелудочной железы в сосудистое русло**

*Белорусский государственный медицинский университет*

Объектом исследования являются пациенты, перенесшие ксенотрансплантацию островковых клеток поджелудочной железы в сосудистое русло. Цель работы- изучить отдаленные результаты ксенотрансплантации островковых клеток поджелудочной железы в сосудистое русло. В процессе работы проводились клинические, статистические исследования, использовался метод социологических опросов. В результате исследования было установлено что, внутрисосудистая ксенотрансплантация островковых клеток в сосудистое русло является высокоэффективным методом лечения сахарного диабета 1 типа в сроки до четырех лет. Внедрено в учебный процесс 2ой кафедры хирургических болезней БГМУ. Экономическая эффективность определяется длительным выживанием трансплантата с сохранением его высокой функциональной активности, без применения дорогостоящей иммуносупрессивной терапии. Для достижения дальнейших положительных результатов необходимо проведение повторной трансплантации.

Сахарный диабет(СД) – наиболее часто встречаемое заболевание эндокринной системы человека, и наряду с онкологическими и сердечно-сосудистыми заболеваниями – одна из главных проблем здравоохранения во всем мире[1].

По данным ВОЗ распространенность СД в 2009 году составила 285 млн. человек, что составляет 6,4% от всего населения.

Патогенетическую последовательность процессов при инсулинзависимом сахарном диабете можно представить в следующем виде. При наличии генетической предрасположенности и воздействии внешних факторов происходит развитие воспаления (инсулита) в поджелудочной железе, инфильтрация активированными Т-лимфоцитами островков Лангерганса; альтерация и трансформация поверхности  $\beta$ -клеток и восприятие их иммунной системой как «не своих». Следствием этого является прогрессирование иммунной реакции с выработкой цитотоксических антител, и, в итоге, разрушение  $\beta$ -клеток. И лишь затем наступает манифестация СД[2,3]. Основным методом медикаментозного лечения больных инсулинзависимым СД для достижения компенсации заболевания является инсулинотерапия. Однако инсулинотерапия не лишена недостатков. Даже тщательный мониторинг уровня глюкозы крови, многократные инъекции инсулина, использование высокоочищенных и биомодифицированных его форм не всегда позволяют добиться стойкой эугликемии. В настоящее время разработано два основных метода хирургического лечения СД: 1). трансплантация поджелудочной

железы(ТПЖ): полная или сегментарная, 2). свободная трансплантация островковых клеток поджелудочной железы. Имея безусловный приоритет, по сравнению с другими методами коррекции осложнений СД, приводя к стойкой нормогликемии, хирургический риск ТПЖ, риск иммуносупрессивной терапии и послеоперационных осложнений остается достаточно высоким. Поэтому вариант свободной трансплантации  $\beta$ -клеток является рациональным и безопасным методом, не требующим сложного хирургического вмешательства и послеоперационной иммуносупрессивной терапии[4]. Важным критерием оценки эффективности трансплантации является оценка качества жизни реципиентов.

### Материалы и методы

В нашем исследовании были обследованы 22 пациента, перенесших ксенотрансплантацию островковых клеток поджелудочной железы. В качестве источника клеточного материала были использованы плоды кроликов, что было обусловлено сродством человеческого и кроличьего инсулина. Трансплантация проводилась в различные участки сосудистого русла: 18 пациентам была выполнена имплантация в глубокую артерию бедра(ГАБ), 4 пациента были оперированы на артерио-венозном соустье предплечья(АВС).Срок после операции составил в среднем 4 года. Мужчин было 12, женщин – 10. Все пациенты были в возрасте 18-60 лет. Средний возраст пациентов составил 37,5 года.

Все пациенты были опрошены с помощью опросника качества жизни SF-36. Данный опросник является общепринятым для определения качества жизни после операций. Мы дополнили опросник следующими вопросами: 1. суточный уровень гликемии, 2. суточная инсулинопотребность, 3. наличие и прогрессирование различных осложнений. Учет результатов проводился с помощью компьютерного ключа.

Кроме того были проведены иммунологические исследования, в которых определялись показатели иммунологического состояния организма: CD3, CD4, CD8, CD25. Процедура выполнялась по стандартной методике на базе лаборатории иммунологии 10 ГКБ.

### Результаты

Оценка полученных результатов проводилась с помощью статистического пакета Statistika 6,0.

Длительность заболевания СД составила 5-40 лет (в среднем 26,5 лет). Дооперационное течение болезни сопровождалось постоянными неконтролируемыми гипер- и гипогликемическими состояниями, нарастающей инсулинопотребностью. У всех пациентов регистрировались хронические осложнения диабета (таблица 1.).

Таблица 1. Распределение и структура осложнений сахарного диабета у больных,

перенесших трансплантацию островковых клеток в сосудистое русло

Пол		Осложнения диабета								Инсулинопотребность, ЕД/сут	Уровень гликемии, ммоль/л
м	ж	Кома	Нефропатия	ХПН	диабетическая ангиопатия	Ретинопатия	Поллинейропатия	Язвенно-некротическое поражение ЖКТ	Всего		
12	10	22	13	5	19	4	6	1	70	54,8±12,4	13,45±3,31

В результате проведенного обследования было установлено, что в течение первого года после трансплантации у всех больных отмечалось улучшение качества жизни. Уровень гликемии снизился на 48,8% (среднее  $5,52 \pm 0,74$ ,  $p < 0,05$ ). Суточная инсулинопотребность сократилась на 59% (среднее  $32,4 \pm 6,2$ ,  $p < 0,05$ ), прогрессирования осложнений не отмечалось.

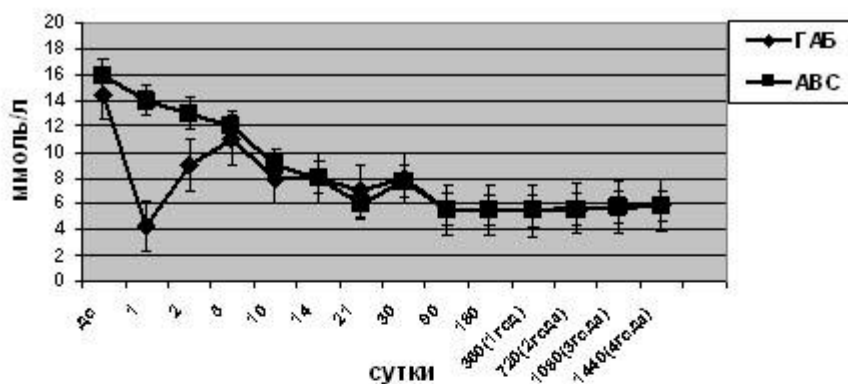


Рисунок 1. Изменение среднесуточных показателей гликемии (ммоль/л) у реципиентов после трансплантации.

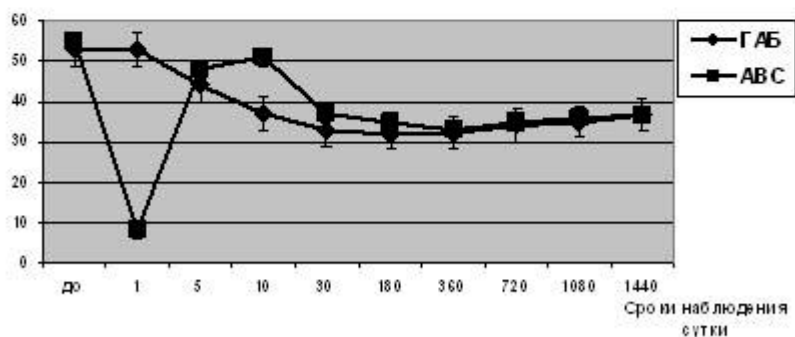


Рисунок 2. Изменение уровня суточной потребности в экзогенном инсулине (мкЕд) у реципиентов после трансплантации.

Спустя 4 года после операции уровень гликемии снизился на 33% (среднее  $5,89 \pm 1,31$ ,  $p < 0,05$ ), суточная инсулинопотребность сократилась на 56,3% (среднее  $36,7 \pm 8,87$ ,  $p < 0,05$ ). Ухудшение относительно предоперационного периода отметились у 2 пациентов (что составило 9% всех больных) с прогрессированием ретино- и нефропатического состояния. У одного из них возобновились гипогликемии. У 5 пациентов (23%) состояние не изменилось, у одного из этих пациентов был достаточно высокий уровень качества жизни до операции. У остальных 15 пациентов (68%) отметились улучшения. У 2 пациентов с ухудшением качества жизни уровень гликемии и инсулинопотребность остались на предоперационном периоде. Мы связываем это со снижением функциональной активности пересаженных  $\beta$ -клеток прямо пропорционально увеличению послеоперационного срока.

Для оценки иммунологического ответа пациентов на ксенотрансплантацию использовали свежееотмытые лимфоциты 22 реципиентов. Забор крови осуществляли до операции, 12, 18, 24, 30, 36 месяцев спустя. После отмывания в растворе Хэнкса и физиологическом растворе лимфоциты ресуспензировали в 20 мкл рабочего раствора моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD25 (Vecton

Dickinson), меченных FITS. Далее смесь инкубировали в течение 30 мин при температуре 370 С. После повторного отмывания осадка физиологическим раствором и увеличения его объема до 200 мкл, проводился анализ раствора методом проточной цитофлуориметрии с использованием аппарата FACS Vantage. По результатам иммунологических исследований были получены следующие данные.(таблица 2.).

Таблица 2. Динамика показателей основных субклассов Т-лимфоцитов больных, перенесших трансплантацию островковых клеток в изолированный участок сосудистого русла

Т-лимфоциты годы	CD3	CD4	CD8	CD25
До операции	53,75± 5,9*	57,33± 4,8*	20,43± 0,75*	16,73± 0,49*
1 год	53,92± 5,39*	57,4± 5,13*	20,28± 1,17*	16,83± 0,73*
1,5 года	53,23± 6,67*	57,03± 3,86*	20,93± 1,07*	16,95± 0,47*
2 года	54,48± 6,4*	58,15± 3,41*	20,95± 1,06*	17,05± 0,43*
2,5 года	51,8± 5,77*	58,0 ±3,81*	20,88± 0,65*	16,9± 0,70*
3 года	52,72± 5,74*	57,93± 3,40*	20,82± 0,51*	16,7± 0,58*
норма	59,2 ±11,4	20,7± 2,4	18,9± 3,0	16,0± 2,1

\*-  $p > 0,05$

Результаты исследований свидетельствуют о стабильности Т-клеточного звена иммунитета на протяжении всего периода наблюдения. Исследование изменений уровней CD3, CD4, CD8 не показало достоверного изменения данных показателей, что означает отсутствие реакции отторжения. Также не были получены достоверные данные, свидетельствующие об увеличении либо снижении показателей CD25.

## Выводы

1. Внутрисосудистая ксенотрансплантация фетальных островковых клеток кролика является высоко эффективным методом хирургического лечения СД I типа и улучшает качество жизни пациентов в сроки до 4-х лет. Хороший антидиабетический эффект заключается в быстрой компенсации диабета не только сразу после операции, но и в отдаленные сроки.

2. Отсутствие реакции иммунологического отторжения свидетельствует о высокой степени иммунопротекции сосудистого русла, что позволяет добиться длительного выживания трансплантата с его высокой функциональной активностью, без применения иммуносупрессивной терапии, что обуславливает высокую экономическую эффективность данного метода.

3. Для достижения дальнейших положительных результатов лечения необходима повторная трансплантация островковых клеток поджелудочной железы.

#### Литература

1. Shapiro, A. M. International trial of the monton protocol for islet transplantation / A. M. Shapiro [et al.] // *N Engl J Med.* 28;355(13):1318–30.
2. Kulseng, B. Alginate-lylysine microcapsules as immune barrier: permeability of tokines and immunoglobulins over the capsule membrane / B. Kulseng [et al.] // *Transplant.* 1997 Jul-Aug;6(4):387–94.
3. Prevost, P. Rolland Application of AN69 hydrogel to islet encapsulation / P. Prevost [et al.] // *Ann NY Acad Sci.* 1997 Dec 31;831:344–9.
4. de Vos, P. Considerations successful transplantation of encapsulated pancreatic islets / P. de Vos, A. F. Hamel, K. Tatarkiewicz // *Diabetologia.* 2002 Feb;45(2):159–73.