

Достижения регенеративной медицины в терапии сахарного диабета 1 типа. II. Применение стволовых клеток для лечения основного заболевания и его осложнений

И.П. Пастер*,
Н.Д. Тронько

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

Резюме. Представлены современные научные данные о достижениях регенеративной медицины в применении стволовых клеток для лечения сахарного диабета первого типа и его осложнений.

Ключевые слова: сахарный диабет первого типа, стволовые клетки.

Актуальность проблемы сахарного диабета

Сахарный диабет (СД) первого типа является хроническим заболеванием, поражающим генетически предрасположенных лиц, у которых инсулин-секретирующие β -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы (ПЖ) избирательно и необратимо разрушены в результате аутоиммунной “атаки” организма [1].

Число людей, страдающих СД, постоянно увеличивается. В 2011 году распространенность СД в целом по Украине составила 1264500 больных или 2773,1 человек на каждые 100 тысяч населения [2]. Количество лиц, у которых СД был впервые выявлен в 2011 году, превысило 116 тысяч [2].

Более 80 лет основной терапевтический под-

ход ограничивался лечением симптомов СД заместительной инсулинотерапией. Результаты проведенного исследования “Контроль сахарного диабета и его осложнений” (“Diabetes Control and Complications Trial”) показали, что жесткая регуляция уровня глюкозы крови при интенсивной инсулинотерапии приводит к значительному повышению риска тяжелых гипогликемических реакций, таких как приступы и кома, и не исключает вероятности развития вторичных деструктивных осложнений СД (нефропатия, нейропатия, ретинопатия и сердечно-сосудистая патология) [3,4].

Современные исследования по терапии СД направлены на поиск средств (препаратов), действия которых максимально приближены к физиологическим условиям динамики секреции инсулина [5]. Основные разработки ведутся фактически по трем направлениям: а) усовершенствование препаратов инсулина путем создания их аналогов с помощью генно-инженерной технологии; б) усовершенствование способов доставки инсулина

* адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна; e-mail: pasteur@bigmir.net

путем разработки аэрозольных форм для введения с помощью специальных ингаляторов или разработки пероральных форм, предварительно иммобилизованных в полимерном гидрогеле; в) усовершенствование методов трансплантации ПЖ, островков Лангерганса и β -клеток путем инкапсулирования трансплантата или использование полученных с помощью генно-инженерной технологии псевдо- β -клеток [5].

Цель регенеративной медицины при терапии СД заключается в создании неограниченного источника β -клеток, которые имеют происхождение от самого пациента и являются неиммуногенными, способные вырабатывать и секретировать инсулин соответственно физиологическим потребностям организма и способные к самообновлению [6].

Весьма перспективным методом терапии СД является также использование стволовых клеток (СК) в качестве практически неограниченного источника физиологически компетентного заменителя первичных островков Лангерганса [7,8]. Предметом данного обзора является возможность применения СК для лечения СД 1 типа и его осложнений.

Состояние стволовых клеток при сахарном диабете

У больных СД отмечается нарушение мобилизации СК из костного мозга [9] и функциональные нарушения в циркулирующих клетках-предшественниках [10,11]. Количество циркулирующих в крови эндотелиальных клеток-предшественников обратно пропорционально степени тяжести СД, в частности уровням HbA_{1c} и глюкозы в крови [12-14], а мобилизация клеток костного мозга чувствительна к гипергликемии [9,15].

Одним из механизмов токсических эффектов гипергликемии на СК костного мозга может быть дисбаланс между оксидом азота и активными формами кислорода [16]. Известно, что гипергликемия увеличивает образование активных форм кислорода, которые при взаимодействии с оксидом азота приводят к снижению его биодоступности и, как следствие, к замедлению пролиферации и мобилизации СК костного мозга [16,17].

Экспериментальные исследования в условиях *in vitro* показали, что моделирование условий СД приводит не только к ухудшению мобилизации СК костного мозга, но и влияет на продолжительность жизни и функциональные свойства взрослых СК, что можно объяснить сокращением количества циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников [18-22].

Хорошо известно, что гипергликемия приводит к активации процессов неферментативного гликозилирования белков и последующему образованию конечных продуктов гликирования, которые через каскад внутриклеточных взаимодействий вызывают повреждение тканей [23]. При этом конечные продукты гликирования непосредственно угнетают репаративные функции эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП) и мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [24-26].

Таким образом, результаты экспериментальных работ показывают, что СД негативно влияет на мобилизацию и функцию взрослых СК, что является основанием для использования этих клеток при лечении заболевания и его осложнений [27].

Стволовые клетки в нормализации уровня глюкозы при сахарном диабете

Нестин-положительные клетки протоков ПЖ преддиабетических взрослых мышей, которые в монослойной культуре экспрессировали глюкагон и инсулин, а также реагировали секрецией инсулина на изменение уровня глюкозы в среде культивирования, после трансплантации под капсулу почки диабетических мышей нормализовали гипергликемию в течение 55 дней [28].

Псевдоостровки с инсулин-секретирующими клетками, которые были получены из клеток протоков ПЖ новорожденных крыс после инкубации с бетацеллюлином (известным стимулятором роста и дифференциации β -клеток) и активинном А (пептидом, участвующим в регуляции клеточной дифференцировки и пролиферации), также реагировали секрецией инсулина на изменение уровня глюкозы [29]. Трансплантация 50 псевдоостровков в портальную вену мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД (уровень глюкозы в крови превышал 400 мг/дл) приводила к снижению уровня глюкозы до 200 мг/дл в течение двух недель [29].

СК, которые были получены из ПЖ плода человека после изоляции островков Лангерганса, после трансплантации под капсулу почки иммунодефицитных мышей активно трансформировались в эндокринные клетки с экспрессией инсулина, глюкагона и соматостатина, а также характеризовались появлением таких маркеров зрелых β -клеток, как С-пептид, фогрин, глюкокиназа и синаптофизин [30].

Трансплантация мышам со стрептозотоцин-индуцированным СД двухсот СК печени, которые способны секретировать инсулин *in vitro* в зави-

симости от уровня глюкозы в среде культивирования, приводила к восстановлению нормогликемии в течение 10 дней [31].

Трансплантация гепатоцитов плода человека, трансдуцированных в инсулин-продуцирующие клетки, под почечную капсулу мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД приводила к восстановлению нормогликемии в течение более чем 80 дней [32]. Внутривенный тест толерантности к глюкозе у этих мышей был положительный, а удаление трансплантата приводило к быстрому увеличению уровня глюкозы в крови до 400 мг/мл.

Трансплантация клеток костного мозга мышей или человека под капсулу почки мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД приводила к нормализации уровня глюкозы в крови [33-35]. Однако большинство данных свидетельствуют о свойстве клеток костного мозга способствовать регенерации β -клеток и не подтверждают их прямую дифференциацию в инсулин-продуцирующие клетки [33,35,36]. В то же время клеткам костного мозга отводится роль иммуномодулятора [34].

Инфузия клеток пуповинной крови человека диабетическим мышам снижала гипергликемию за счет их дифференцировки в клетки островков Лангерганса и увеличивала выживаемость животных [37,38].

Аллотрансплантация эмбриональных СК мышам со стрептозотоцин-индуцированным СД приводила к нормализации уровня гликемии в течение 1 недели после инфузии и сохранению эффекта в течение более чем 16 недель [39,40].

В клинике наиболее положительные результаты были получены при аутологичной трансплантации СК костного мозга 23 пациентам с СД 1 типа [41,42]. Согласно протоколу исследования, мобилизованные циклофосфамидом и колониестимулирующим фактором гранулоцитов СК костного мозга пациентов собирали методом лейкофореза и криоконсервировали. Через некоторое время пациентам вводили антитимоцитарный глобулин кролика и циклофосфамид, а затем проводили внутривенную инфузию СК (3 10^6 CD34+ клеток на 1 кг массы тела пациента) и подкожное введение колониестимулирующего фактора гранулоцитов. В результате, 20 из 23 пациентов полностью отказались от инъекций инсулина, из них 12 пациентов – на длительный период (до 4 лет) и еще 8 пациентов приобрели преходящую инсулинонезависимость. У большинства пациентов снизилась потребность в инсулине, что сопровождалось повышением уровня С-пептида в крови. Основными осложнениями этой процедуры были

лихорадка, крапивница, сыпь, двухсторонняя пневмония и эндокринные нарушения (болезнь Грейвса, гипотиреоз и преходящий гипогонадизм).

Совсем недавно аналогичные исследования были выполнены у 8 пациентов в Польше [43]. После трансплантации аутологичных гематопоэтических СК все пациенты приобрели временную инсулинонезависимость: один пациент возобновил введение низких доз инсулина через 7 месяцев после трансплантации, а 6 пациентам давали акарбозу для улучшения контроля гликемии. У всех пациентов были отмечены хорошие показатели контроля гликемии: если на момент постановки диагноза средний уровень концентрации HbA_{1c} составлял 12,3%, то через 3 и 6 месяцев после трансплантации он снизился до 5,6 и 6,2%, соответственно.

Оба исследования позволяют предположить, что отказ от экзогенного введения инсулина у пациентов с впервые выявленным СД 1 типа может быть достигнут после иммуноабляции и восстановления иммунной системы с помощью трансплантации аутологичных гематопоэтических СК.

Стволовые клетки в терапии диабетических кардиомиопатий

Было показано, что после ишемического инсульта в сердце нервные СК участвовали в симпатической иннервации перинфарктной и инфарктной зон, формировании новых кровеносных сосудов и восстановлении ишемических повреждений [44-51]. Трансплантация МСК приводила к улучшению сердечной функции за счет значительного увеличения плотности миокардиальных артериол и снижения количества коллагена в диабетическом миокарде.

Трансплантация МСК увеличила активность матриксной металлопротеиназы-2 и снижала уровень транскрипции матриксной металлопротеиназы-9 [51]. В экспериментальных исследованиях на крысах с СД 1 типа показано положительное влияние внутривенных инфузий МСК на функцию сердца за счет расширения кровеносных сосудов и ослабления ремоделирования сердца [51]. Внутримышечное введение МСК хомякам с моделированным повреждением сердца привело к значительному улучшению функции желудочков, расширению капилляров, увеличению плотности миоцитов и уменьшению степени выраженности фиброза [52].

Существуют доказательства, что мультипо-

тентные клетки-предшественники в сердце дифференцируются в миоциты, эндотелиальные клетки и гладкие мышечные клетки [53].

Недавние исследования показывают, что СД способствует старению СК сердца и развитию сердечной недостаточности за счет нарушения роста и выживания мезенхимальных прогениторных клеток, в результате чего появляется чрезмерное число старых, отмирающих миоцитов с плохими межклеточными контактами [47]. Эти исследования показали, что СК могут быть потенциальной терапевтической целью при диабетической кардиомиопатии, что в конечном итоге способствует восстановлению сердечной функции [53].

В рандомизированных, двойных-слепых, плацебо-контролируемых, дозозависимых исследованиях показано, что внутрикоронарное введение СК костного мозга, клеток CD133⁺ или МСК больным с острым инфарктом миокарда приводит к улучшению общей фракции выброса левого желудочка, снижению конечного систолического объема левого желудочка и улучшению перфузии в области миокарда [54, 55].

Стволовые клетки в терапии диабетических ангиопатий

Одним из аргументов в пользу применения клеточной терапии, в частности ЭКП, являются результаты клинических исследований, в которых показана обратная зависимость между количеством этих клеток и частотой развития сердечно-сосудистых заболеваний [27].

У больных СД с сосудистыми осложнениями отмечается уменьшение количества и дисфункция эндотелиальных прогениторных клеток [10,14,56,57]. Так, в периферической крови больных СД наблюдается значительное снижение числа клеток CD34⁺, CD34⁺KDR⁺, CD34⁺CD133⁺KDR⁺, CD133⁺KDR⁺, CD117⁺KDR⁺ и CD34⁺CD31⁺ по сравнению со здоровыми людьми [14].

У пациентов с впервые диагностированным СД 1 типа количество эндотелиальных прогениторных клеток было жестко связано с уровнями гемоглобина A_{1c} и глюкозы в крови, т.е. зависело от тяжести заболевания [12,14,56]. Аналогичные результаты были получены и в экспериментальных исследованиях на животных [9,15,58].

У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями наблюдается уменьшение количества клеток CD133⁺, а количество клеток CD34⁺/VEGFR-2⁺ и CD133⁺ рассматривается в качестве предиктора возникновения сердечно-сосудистых

заболеваний в течение одного года после исследования [59,60].

Подсчет количества клеток CD34⁺ и CD34⁺/KDR⁺ может быть полезен при стратификации риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [61], в том числе и у пациентов с СД и метаболическим синдромом [9,15]. Полученные данные являются веским обоснованием гипотезы о том, что снижение количества циркулирующих клеток-предшественников является не только маркером, но и причинным фактором развития сердечно-сосудистых заболеваний [27].

Результаты использования ЭКП в экспериментальных исследованиях весьма противоречивы: наряду с сообщениями о способности этих клеток уменьшать стеноз общей сонной артерии у кроликов [62], имеются данные об отсутствии эффекта СК костного мозга на развитие атеросклероза у мышей [63]. Более того, клетки-предшественники гладких мышц участвуют в гиперплазии интимы сосудов у мышей с экспериментальным СД [64].

Подтверждением полученных данных является тот факт, что одним из основных побочных эффектов клинического применения клеточной терапии после инфаркта миокарда было обострение рестеноза [65]. Наибольшее количество случаев аритмии также было зарегистрировано после интрамиокардиального введения клеток, в первую очередь, скелетных миобластов [66].

В то же время, клеточная терапия с использованием взрослых СК представляется эффективным способом терапевтической неоваскуляризации при СД [67-69]. Так, ЭКП и МСК способны восстанавливать физиологические уровни ангиогенных факторов (в частности, фактора роста эндотелия сосудов VEGF и гипоксии-индуцированного фактора HIF-1 α), а также дифференцироваться в клетки периферических сосудов при восстановлении кровотока в нижних конечностях с ишемическими заболеваниями [70].

Трансплантация МСК больным СД с гангрой обеих верхних конечностей с целью терапевтической неоваскуляризации показала улучшение артериальной перфузии, хорошее заживление всех ран и прекращение боли [71].

Стволовые клетки в терапии диабетических нефропатий

Первые обнадеживающие результаты экспериментальных исследований об участии прогениторных клеток костного мозга в восстановлении функции почек [72-74] не нашли своего под-

тверждения в дальнейшем [35,75], что требует проведения дополнительных исследований по изучению эффективности клеточной терапии при диабетической нефропатии [76].

Предполагается, что применение МСК может быть эффективно для профилактики и лечения диабетической нефропатии [27]. Так, у мышей с СД 1 типа введение МСК предотвращало развитие диабетической нефропатии посредством регенерации островков Лангерганса и последующего улучшения гликемического контроля [77]. Также МСК способны замедлять прогрессирование диабетической нефропатии независимо от гликемического контроля путем дифференциации в клетки эндотелия почки и, возможно, мезангиальные клетки [35,78]. Это было связано с существенным снижением толщины слоя мезангиальных клеток, накопления внеклеточного матрикса и инфильтрации макрофагов [35].

Стволовые клетки в терапии диабетических нейропатий

В экспериментальных исследованиях на крысах со стрептозотоцин-индуцированным СД показан положительный потенциал применения СК при диабетической нейропатии [79-81].

Показано, что внутримышечные инъекции ЭКП улучшают кровоток и скорость нервной проводимости периферических нервов, возможно, за счет неоваскуляризации, а также увеличивают выработку эндотелиального фактора роста сосудов, фактора роста фибробластов и ряда других нейротропных факторов [79,81,82]. В условиях *in vitro* ЭКП стимулировали пролиферацию клеток Шванна и эндотелиальных клеток, а также сокращали количество апоптотических клеток [81].

Стволовые клетки в терапии диабетических ретинопатий

В большинстве клинических исследований показано уменьшение количества ЭКП у пациентов с непролиферативной диабетической ретинопатией и увеличение их количества у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией [83,84]. Предполагается, что уменьшение количества этих клеток у больных СД может predispose к развитию непролиферативной диабетической ретинопатии [76].

При воспалительной реакции происходит мобилизация ЭКП из костного мозга, что в конечном итоге вызовет патологическую неоваскуляриза-

цию, приводящую к пролиферативной диабетической ретинопатии. Таким образом, наличие этой патологии может быть противопоказанием для ангиогенной клеточной терапии [27].

Хотя на сегодняшний день нет данных о терапевтическом потенциале эндотелиальных прогениторных клеток при диабетической ретинопатии, экспериментальные исследования свидетельствуют, однако, о роли клеток костного мозга в восстановлении функции сетчатки. Так, в исследованиях на мышах было установлено участие клеток костного мозга в восстановлении сетчатки, а также способность прогениторных клеток костного мозга дифференцироваться в клетки эндотелия, микроглии и астроциты [85-88].

На экспериментальных моделях повреждения сосудов глаз было показано, что нормальные клетки CD34⁺ человека эффективно восстанавливают повреждения сетчатки мышей и крыс [89].

Стволовые клетки в терапии диабетических ран стопы

При СД в грануляционной ткани раневых участков было отмечено значительное снижение количества ЭКП, снижение пролиферации этих клеток и локальное увеличение апоптоза [90].

Если на ранних этапах исследования эффективности применения клеточной терапии для лечения ран у пациентов с СД использовали фибробласты, то сейчас основное внимание сосредоточено на прогениторных клетках костного мозга, которые ускоряют заживление ран у диабетических животных [91-96].

МСК ускоряют заживление, дифференцируясь в фибробласты и кератиноциты, а также способствуя неоваскуляризации, регенерации и перемещению клеток воспаления в раны [97,98]. Трансплантация ЭКП повышает заживление ран у мышей через паракринные факторы, в частности, фактор роста эндотелия сосудов, фактор роста гепатоцитов и ряд других [98-99].

Посредством этих же механизмов ЭКП и МСК повышают заживление ран и могут быть эффективным способом лечения язвы стопы у пациентов с СД [93,94,96].

Стволовые клетки в терапии диабетических эректильных дисфункций

К сожалению, на сегодняшний день нет данных о положительном влиянии клеточной терапии на диабетическую эректильную дисфункцию. Есть

сообщение о способности СК К10 при пересадке в пещеристое тело полового члена крысы дифференцироваться в эндотелиальные и гладкомышечные клетки [100]. МСК человека дифференцируются в эндотелиальные и гладкомышечные клетки [101]. Однако, в этих исследованиях не была проведена оценка функциональной/эректильной реакции. В других исследованиях было показано появление маркеров эндотелиальных и гладкомышечных клеток, а также улучшение эректильной реакции у крыс через 21 день после инъекции МСК [102].

Стволовые клетки в регенерации поджелудочной железы

Трансплантация комплекса островков Лангерганса, спленоцитов (как источника СК, которые способны дифференцироваться в β -клетки) и полного адьюванта Фрейнда под капсулу почки самок мышей со спонтанным СД приводила через 120 дней к восстановлению собственной ПЖ животных через регенерацию островков Лангерганса за счет положительного влияния спленоцитов [103,104].

Трансплантация клеток костного мозга мышам со стрептозотоцин-индуцированным СД снижает гипергликемию, возможно, за счет миграции СК в поврежденный орган, защиты оставшихся и регенерации новых β -клеток животных, что сопровождается восстановлением функции эндокринного органа и продукцией инсулина [33].

Показано снижение уровня глюкозы, увеличение массы β -клеток и островков Лангерганса у мышей с СД после введения МСК человека [35].

Активация овальных клеток печени мышей, которые имеют потенциал трансдифференциации в инсулин-продуцирующие клетки в условиях культивирования с высокими концентрациями глюкозы, путем содержания на специальной диете в течение 4 недель и последующая индукция гипергликемии у животных с помощью стрептозотоцина сопровождалась снижением уровня глюкозы с 341 ± 15 мг/дл до 185 ± 12 мг/дл в течение 6 недель [105]. Основным механизмом этого эффекта считают трансдифференциацию овальных клеток печени и регенерацию эндогенных β -клеток.

Стволовые клетки при трансплантации β -клеток

Одним из современных способов лечения СД 1 типа и многих случаев СД 2 типа является трансплантация целой ПЖ или клеток островков

Лангерганса. С разработкой Эдмонтонского протокола трансплантация островков стала более привлекательной альтернативой трансплантации целой ПЖ [106]. Трансплантация островков приводит к значительному снижению среднего уровня гликемии, нормализации уровня гликозилированного гемоглобина и отсутствию тяжелых гипогликемических состояний, что сопровождается значительным улучшением качества жизни пациентов [107,108].

Однако, несмотря на достигнутые успехи [109], этот способ лечения имеет недостаточную эффективность [110]. Внутривенная инфузия островков Лангерганса приводит к немедленной воспалительной реакции, тромбозу, ишемии ткани печени с повышением уровня печеночных ферментов в крови [111]. Важную роль в потере функциональной активности трансплантата играют неспецифические иммунные реакции и специфический клеточный иммунный ответ [112-114].

В настоящее время почти все классические препараты против отторжения трансплантатов имеют токсические свойства по отношению к β -клеткам ПЖ, что при их непрерывном использовании может привести к потере функции трансплантата [115,116].

Перспективным является достижение иммунной толерантности (явление гематопоэтического химеризма) у реципиентов островков Лангерганса путем трансплантации гематопоэтических СК костного мозга, что позволяет частично или полностью отказаться от иммуносупрессии [117-121].

Поскольку развитие СД 1 типа является следствием аутоиммунной деструкции β -клеток ПЖ, восстановление ауто толерантности может сохранить функциональные свойства этих клеток и улучшить долгосрочные клинические прогнозы для пациентов с этой патологией. Это предположение получило свое подтверждение в экспериментальных исследованиях после аллогенной трансплантации СК костного мозга [122].

Поскольку островки ПЖ хорошо васкуляризованы, быстрое и адекватное восстановление притока крови имеет решающее значение для выживания и функционирования соответствующего трансплантата. В процесс ревазуляризации островков Лангерганса вовлечены гематопоэтические и мезенхимальные СК, а также эндотелиальные прогениторные клетки [111]. На сегодняшний день известны два механизма: 1) образование сосудов путем дифференциации в зрелые эндотелиальные клетки (эндотелиальные прогениторные клетки) [123] и 2) освобождение проангиогенных факто-

ров, таких как фактор роста гепатоцитов и фактор роста эндотелия сосудов [124,125]. Не исключена также роль МСК в угнетении Т-клеточного иммунного ответа против новых β -клеток [126].

Подтверждением таких возможностей является способность эндотелиальных прогениторных клеток и МСК стимулировать неоваскуляризацию ПЖ как *in vitro*, так и *in vivo*, включая случаи стрептозотоцинового поражения [127-129]. При этом главная роль в обеспечении выживания и дифференциации эндотелиальных клеток, а также содействии неоваскуляризации путем мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток отводится ангиогенным цитокинам, таким как сосудистый эндотелиальный фактор роста А, фактор роста фибробластов, ангиопоэтин-1, матричные металлопротеиназы и трансформирующий фактор роста- β [93,130-133].

Кроме того, увеличение количества СК костного мозга в периферической крови приводит к усилению васкуляризации и улучшению функции островков Лангерганса при интрапортальной трансплантации [134,135].

В качестве практического применения было предложено стимулировать реваскуляризацию и, соответственно, улучшать функциональное состояние трансплантированных островков Лангерганса путем совместного использования β -клеток, эндотелиальных клеток и МСК [121,135-138]. Так, совместная трансплантация островков Лангерганса с клетками костного мозга под капсулу почки мышей со стрептозотоциновым СД приводила к значительно более выраженному снижению уровня глюкозы в крови, чем при трансплантации одних островков [137].

Аналогичные результаты и значительно лучшие результаты внутривенного теста на толерантность к глюкозе были получены на крысах со стрептозотоциновым СД при совместной трансплантации островков Лангерганса с МСК из костного мозга [121]. При этом также отмечалось значительное увеличение количества капилляров в трансплантате островков Лангерганса [121,136,137]. Выдвинута гипотеза о том, что между трансплантированными β -клетками и СК устанавливаются прямые контакты [139].

Последние данные свидетельствуют о том, что мультипотентные МСК играют также важную роль в иммуномодуляции в основном за счет прямого ингибирования клеточной дифференцировки и пролиферации, изменения секреции цитокинов Т-клетками, В-лимфоцитами, дендритными клетками, естественными клетками-киллерами, а также

индукции Т-регуляторных клеток [140-144]. Эти иммуномодулирующие свойства мультипотентных МСК весьма перспективны для терапевтического применения при лечении многочисленных аутоиммунных заболеваний и индукции толерантности при аллотрансплантации [143,145].

Мультипотентные МСК также могут предотвратить аутоиммунное разрушение β -клеток и последующее развитие диабета [146]. При совместной трансплантации островков Лангерганса и клеток костного мозга мультипотентные МСК повышают приживление и функционирование островков через механизм повышения числа Т-регуляторных клеток в периферической крови [147].

Места трансплантации стволовых клеток

Весьма важным условием успешной трансплантации β -клеток является правильный подбор места посадки СК, которое обеспечит длительное сохранение жизнеспособности и функциональной активности введенных клеток, а также легко доступно для гарантирования максимальной безопасности пациента [148, 149].

В настоящее время наиболее оптимальной является трансплантация β -клеток в печень через портальную вену, так как в естественных условиях синтезируемый ПЖ инсулин попадает, в первую очередь, в печень, где, в основном, и оказывает свое влияние [149, 150]. Однако в силу целого ряда причин (низкого напряжения кислорода, активного иммунного ответа, немедленной воспалительной реакции, тромбоза, высоких уровней токсинов и лекарств в печени) половина β -клеток погибает вскоре после трансплантации в портальную вену [111,149,151,152]. Важную роль в потере функциональной активности трансплантата играют неспецифические иммунные реакции и специфический клеточный иммунный ответ [112-114].

В качестве альтернативы рассматривается возможность трансплантации β -клеток под почечную капсулу, внутрибрюшинно, в сальниковую сумку, под почечную капсулу или подкожно [152-154]. Последний вариант наиболее приемлем с точки зрения пациента.

Необходимость иммуносупрессии при трансплантации стволовых клеток

В настоящее время имеются противоречивые данные об отсутствии [155,156] или развитии [157,158] иммунного ответа после трансплантации эмбриональных СК человека и их высококодиф-

ференцированных производных. К сожалению, получение аутологичных β -клеток из индуцированных плюрипотентных СК не исключает необходимости подавления ауто- и аллоиммунитета при СД [149,157,159]. Аллогенная трансплантация эмбриональных СК человека также требует обязательной иммуносупрессивной терапии, которая оказывает крайне негативное влияние на β -клетки, репликацию и выживание [160].

В настоящее время почти все классические препараты против отторжения трансплантатов имеют токсические свойства по отношению к β -клеткам ПЖ, что при их непрерывном использовании может привести к потере функции трансплантата [115,116].

Отсутствие иммуногенности у β -клеток является крайне желательным, но не обязательным условием, если достижения в области макро- и микроинкапсуляции ткани или клеток позволят исключить презентацию антигена трансплантата при возможности неограниченной диффузии питательных веществ, мессенджеров и метаболитов [161-165].

Весьма перспективным является использование CD3-специфических антител для индукции длительной толерантности к аутоантигенам [166], трансплантация клеток в иммунопривилегированные места (под капсулу почки, в переднюю камеру глаза или яичко), создание крупных банков эмбриональных СК с целью подбора пар донор-реципиент по HLA-фенотипу [167-169] или применение эмбриональных СК из партеногенетических эмбрионов в качестве источника гистосовместимых клеток и тканей для клеточной терапии [170].

Проблемы безопасности при трансплантации стволовых клеток

Одной из основных проблем, связанных с трансплантацией СК, является возможность злокачественной трансформации [149,154]. Так, длительный период инкубации МСК в условиях *in vitro* может увеличить риск возникновения хромосомной нестабильности и злокачественной трансформации [171]. Склонность к злокачественной трансформации зависит от вида (например, человек или мышь), источника (например, жировая ткань или костный мозг), подготовки трансплантационного материала и клеточного цикла в момент применения СК.

Образование тератом, которые являются доброкачественными опухолями и содержат ткани из всех трех зародышевых листков, было зарегистрировано

в многочисленных исследованиях по трансплантации плюрипотентных СК, в том числе и при получении инсулин-продуцирующих клеток из эмбриональных СК человека [149,172,173].

Вместе с тем, известно, что зрелые СК обладают более низкой пластичностью, чем эмбриональные [111]. Кроме того, использование зрелых СК в качестве хелперов для поддержания пересаженных тканей или клеток менее рискованно, чем их использование в качестве клеток-предшественников.

Весьма актуальной является разработка дополнительных методик, которые позволяют *in vitro* и *in vivo* обнаруживать остатки недифференцированных СК и элиминировать их. Для этого может быть использована как стандартная процедура сортировки СК, так и более современные подходы с использованием молекул или антитело-токсин конъюгатов, способных избирательно уничтожать недифференцированные СК [149,174]. Существенный риск образования тератом (превышающим 15% [175]) можно было бы предотвратить путем строгого отбора полностью дифференцированных клеток [6].

Один из способов решения проблемы онкогенного потенциала эмбриональных СК и индуцированных плюрипотентных СК заключается в селекции и развитии чистых популяций наиболее подходящих для трансплантации клеток [176]. Также необходимы дальнейшие исследования для изучения механизмов созревания β -клеток в естественных условиях и сигналов, которые управляют дифференциацией эндокринных предшественников и/или зрелых β -клеток, с целью реализации потенциала этого вида терапии [176].

Выводы

Таким образом, клеточная терапия имеет большие перспективы для лечения СД 1 типа. Однако дальнейшее развитие регенеративной медицины требует решения многих сложных задач, в первую очередь, внедрения крайне дорогостоящих методов обработки клеточного материала согласно надлежащей производственной практике (GMP), соблюдения стандартных протоколов всех процедур и жестких критериев выпуска продукции, а также обеспечения специализированными учреждениями и высокопрофессиональным персоналом [177]. Весьма важным является контроль за соблюдением протокола клинических испытаний по использованию СК при лечении СД 1 типа, который могут проводить комитеты по этике и независимые клинические научно-исследовательские организации.

Кроме того, весьма важным является стандартное определение клеточной идентичности, жизнеспособности, гормонального потенциала и фенотипических характеристик для каждого клеточного продукта перед его трансплантацией. Настоящие и будущие исследования с использованием СК помогут оценить безопасность и эффективность применения соответствующих клинических протоколов, в частности, оптимальный тип клеток или их комбинаций для конкретных условий, оптимальные маркеры клеток для определения их характеристик, а также оптимальные схемы лечения для пациентов [177].

Наиболее рациональным представляется проведение многоцентровых рандомизированных клинических исследований при соблюдении условий стандартизации обработки клеточного материала и клинических протоколов, основанных на результатах пилотных исследований. В реестры клинических испытаний необходимо вносить данные только тех исследований, которые соответствуют международным этическим стандартам, позволяют четко интерпретировать результаты, оценить безопасность и эффективность предложенного способа лечения. Выполнение всех этих положений, несомненно, приведет к ускорению прогресса в этой области медицинской науки.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Пастер Н.И. за техническую помощь в подготовке рукописи.

Список использованной литературы

- Burns C.J., Persaud S.J., Jones P.M. Stem cell therapy for diabetes: do we need to make beta cells? // *J. Endocrinol.* 2004, 183, 437-443.
- Довідник основних показників діяльності ендокринологічної служби України за 2011 рік // *Ендокринологія.* 2012, 17, № 1, додаток 2, 36 с.
- Nathan D.M. Long-term complications of diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* 1993, 328, 1676-1685.
- The DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* 1993, 29, 977-986.
- Аметов А.С. Перспективы развития диабетологии // *Тер. архив.* 2005, № 10, 5-9.
- Yechoor V., Chan L. Minireview: beta-cell replacement therapy for diabetes in the 21st century: manipulation of cell fate by directed differentiation // *Mol. Endocrinol.* 2010, 24, 1501-1511.
- Тронько Н.Д., Пастер И.П. Достижения регенеративной медицины в терапии сахарного диабета 1 типа. I. Источники получения б-клеток (1 часть) // *Ендокринологія.* 2012, 17, № 2, 66-73.
- Тронько Н.Д., Пастер И.П. Достижения регенеративной медицины в терапии сахарного диабета 1 типа. I. Источники получения б-клеток (2 часть) // *Ендокринологія.* 2012, 17, № 3, 74-84.
- Fadini G.P., Sartore S., Schiavon M. et al. Diabetes impairs progenitor cell mobilisation after hindlimb ischaemia reperfusion injury in rats // *Diabetologia.* 2006, 49, 3075-3084.
- Tepper O.M., Galiano R.D., Capla J.M. et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures // *Circulation.* 2002, 106, 2781-2786.
- Loomans C.J.M., De Koning E.J.P., Staal F.J.T. et al. Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 Diabetes // *Diabetes.* 2004, 53, 195-199.
- Kusuyama T., Omura T., Nishiya D. et al. Effects of treatment for diabetes mellitus on circulating vascular progenitor cells // *J. Pharmacol. Sci.* 2006, 102, 96-102.
- Fadini G.P., Pucci L., Vanacore R. et al. Glucose tolerance is negatively associated with circulating progenitor cell levels // *Diabetologia.* 2007, 50, 2156-2163.
- Egan C.G., Lavery R., Caporali F. et al. Generalised reduction of putative endothelial progenitors and CXCR4-positive peripheral blood cells in type 2 diabetes // *Diabetologia.* 2008, 51, 1296-1305.
- Fadini G.P., Sartore S., Albiero M. et al. Number and function of endothelial progenitor cells as a marker of severity for diabetic vasculopathy // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006, 26, 2140-2146.
- Heissig B., Hattori K., Dias S. et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of Kit-ligand // *Cell.* 2002, 109, 625-637.
- Segal M.S., Shah R., Afzal A. et al. Nitric oxide cytoskeletal-induced alterations reverse the endothelial progenitor cell migratory defect associated with diabetes // *Diabetes.* 2006, 55, 102-109.
- Vasa M., Breitschopf K., Zeiher A.M., Dimmeler S. Nitric oxide activates telomerase and delays endothelial cell senescence // *Circ. Res.* 2000, 87, 540-542.
- Kuki S., Imanishi T., Kobayashi K. et al. Hyperglycemia accelerated endothelial progenitor cell senescence via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase // *Circ. J.* 2006, 70, 1076-1081.
- Rosso A., Balsamo A., Gambino R. et al. p53 mediates the accelerated onset of senescence of endothelial progenitor cells in diabetes // *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 4339-4347.
- Balestrieri M.L., Rienzo M., Felice F. et al. High glucose downregulates endothelial progenitor cell number via SIRT1 // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008, 1784, 936-945.
- Di Stefano V., Cencioni C., Zaccagnini G. et al. P66 ShcA modulates oxidative stress and survival of endothelial progenitor cells in response to high glucose // *Cardiovasc. Res.* 2009, 82, 421-429.
- Calcutt N.A., Cooper M.E., Kern T.S., Schmidt A.M. Therapies for hyperglycaemia-induced diabetic complications: from animal models to clinical trials // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009, 8, 417-429.
- Scheibel R.J., Kahrstedt S., Weber H. et al. Depression of progenitor cell function by advanced glycation endproducts (AGEs): potential relevance for impaired angiogenesis in advanced age and diabetes // *Exp. Gerontol.* 2006, 41, 540-548.
- Chen Q., Dong L., Wang L. et al. Advanced glycation end products impair function of late endothelial progenitor cells through effects on protein kinase Akt and cyclooxygenase-2 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009, 381, 192-197.
- Sun C., Liang C., Ren Y. et al. Advanced glycation end products depress function of endothelial progenitor cells via p38 and ERK 1/2 mitogen-activated protein kinase Pathways // *Basic Res. Cardiol.* 2009, 104, 42-49.
- Bernardi S., Severini G.M., Zauli G., Secchiero P. Cell-based therapies for diabetic complications // *Exp. Diabetes Res.* 2012, 2012, Article ID 872504.
- Ramiya V.K., Maraist M., Arfors K.E. et al. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from

- pancreatic stem cells // *Nat. Med.* 2000, 6, 278-282.
29. Ogata T., Park K.Y., Seno M., Kojima I. Reversal of streptozotocin-induced hyperglycemia by transplantation of pseudoislets consisting of cells derived from ductal cells // *Endocr. J.* 2004, 51, 381-386.
 30. Hao E., Tyrberg B., Itkin-Ansari P. et al. b-cell differentiation from nonendocrine epithelial cells of the adult human pancreas // *Nat. Med.* 2006, 12, 310-316.
 31. Yang L., Li S., Hatch H. et al. In vitro trans-differentiation of adult hepatic stem cells into pancreatic endocrine hormone-producing cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002, 99, 8078-8083.
 32. Zalzman M., Gupta S., Giri R.K. et al. Reversal of hyperglycemia in mice by using human expandable insulin-producing cells differentiated from fetal liver progenitor cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003, 100, 7253-7258.
 33. Hess D., Li L., Martin M. et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration // *Nat. Biotechnol.* 2003, 21, 763-770.
 34. Kang E.M., Zickler P.P., Burns S. et al. Hematopoietic stem cell transplantation prevents diabetes in NOD mice but does not contribute to significant islet cell regeneration once disease is established // *Exp. Hematol.* 2005, 33, 699-705.
 35. Lee R.H., Seo M.J., Reger R.L. et al. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006, 103, 17438-17443.
 36. Hasegawa Y., Ogihara Y., Yamada T. et al. Bone marrow (BM) transplantation promotes b-cell regeneration after acute injury through BM cell mobilization // *Endocrinology.* 2007, 148, 2006-2015.
 37. Ende N., Chen R., Reddi A.S. Transplantation of human umbilical cord blood cells improves glycemia and glomerular hypertrophy in type 2 diabetic mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004, 321, 168-171.
 38. Ende N., Chen R., Reddi A.S. Effect of human umbilical cord blood cells on glycemia and insulinitis in type 1 diabetic mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004, 325, 665-669.
 39. Soria B., Roche E., Bern G. et al. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice // *Diabetes.* 2000, 49, 157-162.
 40. Schroeder I.S., Rolletschek A., Blyszczuk P. et al. Differentiation of mouse embryonic stem cells to insulin-producing cells // *Nat. Protoc.* 2006, 1, 495-507.
 41. Voltarelli J.C., Couri C.E., Stracieri A.B. et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus // *JAMA.* 2007, 297, 1568-1576.
 42. Couri C.E., Oliveira M.C., Stracieri A.B. et al. C-peptide levels and insulin independence following autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus // *JAMA.* 2009, 301, 1573-1579.
 43. Snarski E., Milczarczyk A., Torosian T. et al. Independence of exogenous insulin following immunoablation and stem cell reconstitution in newly diagnosed diabetes type I // *Bone Marrow Transplant.* 2011, 46, 562-566.
 44. Lloyd C.E., Kuller L.H., Ellis D. et al. Coronary artery disease in IDDM. Gender differences in risk factors but not risk // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996, 16, 720-726.
 45. Solang L., Malmberg K., Ryden L. Diabetes mellitus and congestive heart failure. Further knowledge needed // *Eur. Heart J.* 1999, 20, 789-795.
 46. Bauters C., Lamblin N., Mc Fadden E.P. et al. Influence of diabetes mellitus on heart failure risk and outcome // *Cardiovasc. Diabetol.* 2003, 2, 1.
 47. Rota M., LeCapitaine N., Hosoda T. et al. Diabetes promotes cardiac stem cell aging and heart failure, which are prevented by deletion of the p66shc gene // *Circ. Res.* 2006, 99, 42-52.
 48. Aneja A., Tang W.H., Bansilal S. et al. Diabetic cardiomyopathy: insights into pathogenesis, diagnostic challenges, and therapeutic options // *Am. J. Med.* 2008, 121, 748-757.
 49. El-Helou V., Beguin P.C., Assimakopoulos J. et al. The rat heart contains a neural stem cell population; role in sympathetic sprouting and angiogenesis // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2008, 45, 694-702.
 50. El-Helou V., Proulx C., Gosselin H. et al. Dexamethasone treatment of post-MI rats attenuates sympathetic innervation of the infarct region // *J. Appl. Physiol.* 2008, 104, 150-156.
 51. Zhang N., Li J., Luo R. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce angiogenesis and attenuate the remodeling of diabetic cardiomyopathy // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2008, 116, 104-111.
 52. Shabbir A., Zisa D., Suzuki G., Lee T. Heart failure therapy mediated by the trophic activities of bone marrow mesenchymal stem cells: a noninvasive therapeutic regimen // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009, 296, H1888-H1897.
 53. Mishra P.K., Singh S.R., Joshua I.G., Tyagi S.C. Stem cells as a therapeutic target for diabetes // *Front. Biosci.* 2010, 15, 461-477.
 54. Dimmeler S., Burchfield J., Zeiher A.M. Cell-based therapy of myocardial infarction // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008, 28, 208-216.
 55. Hare J.M., Traverse J.H., Henry T.D. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009, 54, 2277-2286.
 56. Fadini G.P., Miorin M., Facco M. et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005, 45, 1449-1457.
 57. Fadini G.P., Sartore S., Agostini C., Avogaro A. Significance of endothelial progenitor cells in subjects with diabetes // *Diabetes Care.* 2007, 30, 1305-1313.
 58. Yan J., Tie G., Park B. et al. Recovery from hindlimb ischemia is less effective in type 2 than in type 1 diabetic mice: Roles of eNOS and endothelial progenitor cells // *J. Vasc. Surg.* 2009, 50, 1412-1422.
 59. Schmidt-Lucke C., Rössig L., Fichtlscherer S. et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair // *Circulation.* 2005, 111, 2981-2987.
 60. Werner N., Kosiol S., Schiegl T. et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes // *N. Engl. J. Med.* 2005, 353, 999-1007.
 61. Fadini G.P., Maruyama S., Ozaki T. et al. Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification: a pooled analysis // *PLoS ONE.* 2010, 5, Article ID: e11488.
 62. Ma Z.L., Mai X.L., Sun J.H. et al. Inhibited atherosclerotic plaque formation by local administration of magnetically labeled endothelial progenitor cells (EPCs) in a rabbit model // *Atherosclerosis.* 2009, 205, 80-86.
 63. Silvestre J.S., Gojova A., Brun V. et al. Transplantation of bone marrow-derived mononuclear cells in ischemic apolipoprotein E-knockout mice accelerates atherosclerosis without altering plaque composition // *Circulation.* 2003, 108, 2839-2842.
 64. Westerweel P.E., van Velthoven C.T.J., Nguyen T.Q. et al. Modulation of TGF- β /BMP-6 expression and increased levels of circulating smooth muscle progenitor cells in a type I diabetes mouse model // *Cardiovasc. Diabetol.* 2010, 9, 55.
 65. Kang H.J., Kim H.S., Zhang S.Y. et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial // *Lancet.* 2004, 363, 751-756.
 66. Menasche P. Stem cell therapy for heart failure: are arrhythmias a real safety concern? // *Circulation.* 2009, 119, 2735-2740.
 67. Schattman G.C., Hanlon H.D., Jiao C. et al. Blood-derived

- angioblasts accelerate blood-flow restoration in diabetic mice // *J. Clin. Invest.* 2000, 106, 571-578.
68. Hirata K., Li T.S., Nishida M. et al. Autologous bone marrow cell implantation as therapeutic angiogenesis for ischemic hindlimb in diabetic rat model // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003, 284, H66-H70.
 69. Amin A.H., Abd Elmageed Z.Y., Nair D. et al. Modified multipotent stromal cells with epidermal growth factor restore vasculogenesis and blood flow in ischemic hind-limb of type II diabetic mice // *Lab. Invest.* 2010, 90, 985-996.
 70. Gehling U.M., Ergun S., Schumacher U. et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells // *Blood.* 2000, 95, 3106-3112.
 71. Comerota A.J., Link A., Douville J., Burchardt E.R. Upper extremity ischemia treated with tissue repair cells from adult bone marrow // *J. Vasc. Surg.* 2010, 52, 723-729.
 72. Poulsom R., Forbes S.J., Hodivala-Dilke K. et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration // *J. Pathol.* 2001, 195, 229-235.
 73. Ikarashi K., Li B., Suwa M. et al. Bone marrow cells contribute to regeneration of damaged glomerular endothelial cells // *Kidney Int.* 2005, 67, 1925-1933.
 74. Togel F., Hu Z., Weiss K. et al. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2005, 289, F31-F42.
 75. Duffield J.S., Park K.M., Hsiao L.L. et al. Restoration of tubular epithelial cells during repair of the postischemic kidney occurs independently of bone marrow-derived stem cells // *J. Clin. Invest.* 2005, 115, 1743-1755.
 76. Jarajapu Y.P., Grant M.B. The promise of cell-based therapies for diabetic complications: challenges and solutions // *Circ. Res.* 2010, 106, 854-869.
 77. Ezquer F.E., Ezquer M.E., Parrau D.B. et al. Systemic administration of multipotent mesenchymal stromal cells reverts hyperglycemia and prevents nephropathy in type 1 diabetic mice // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008, 14, 631-640.
 78. Ezquer F., Ezquer M., Simon V. et al. Endovenous administration of bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells prevents renal failure in diabetic mice // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009, 15, 1354-1365.
 79. Naruse K., Hamada Y., Nakashima E. et al. Therapeutic neovascularization using cord blood-derived endothelial progenitor cells for diabetic neuropathy // *Diabetes.* 2005, 54, 1823-1828.
 80. Hasegawa T., Kosaki A., Shimizu K. et al. Amelioration of diabetic peripheral neuropathy by implantation of hematopoietic mononuclear cells in streptozotocin-induced diabetic rats // *Exp. Neurol.* 2006, 199, 274-280.
 81. Jeong J.O., Kim M.O., Kim H. et al. Dual angiogenic and neurotrophic effects of bone marrow-derived endothelial progenitor cells on diabetic neuropathy // *Circulation.* 2009, 119, 699-708.
 82. Shibata T., Naruse K., Kamiya H. et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves diabetic polyneuropathy in rats // *Diabetes.* 2008, 57, 3099-3107.
 83. Lee I.G., Chae S.L., Kim J.C. Involvement of circulating endothelial progenitor cells and vasculogenic factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy // *Eye.* 2006, 20, 546-552.
 84. Brunner S., Scherthaner G.H., Satler M. et al. Correlation of different circulating endothelial progenitor cells to stages of diabetic retinopathy: first in vivo data // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009, 50, 392-398.
 85. Grant M.B., May W.S., Caballero S. et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization // *Nat. Med.* 2002, 8, 607-612.
 86. Otani A., Dorrell M.I., Kinder K. et al. Rescue of retinal degeneration by intravitreally injected adult bone marrow-derived lineage-negative hematopoietic stem cells // *J. Clin. Invest.* 2004, 114, 765-774.
 87. Ritter M.R., Banin E., Moreno S.K. et al. Myeloid progenitors differentiate into microglia and promote vascular repair in a model of ischemic retinopathy // *J. Clin. Invest.* 2006, 116, 3266-3276.
 88. Kielczewski J.L., Jarajapu Y.P., McFarland E.L. et al. Insulin-like growth factor binding protein-3 mediates vascular repair by enhancing nitric oxide generation // *Circ. Res.* 2009, 105, 897-905.
 89. Caballero S., Sengupta N., Afzal A. et al. Ischemic vascular damage can be repaired by healthy, but not diabetic, endothelial progenitor cells // *Diabetes.* 2007, 56, 960-967.
 90. Albiero M., Menegazzo L., Boscaro E. et al. Defective recruitment, survival and proliferation of bone marrow-derived progenitor cells at sites of delayed diabetic wound healing in mice // *Diabetologia.* 2011, 54, 945-953.
 91. Stepanovic V., Awad O., Jiao C. et al. Leprdb diabetic mouse bone marrow cells inhibit skin wound vascularization but promote wound healing // *Circ. Res.* 2003, 92, 1247-1253.
 92. Awad O., Jiao C., Ma N. et al. Obese diabetic mouse environment differentially affects primitive and monocytic endothelial cell progenitors // *Stem Cells.* 2005, 23, 575-583.
 93. Wu Y., Chen L., Scott P.G., Tredget E.E. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis // *Stem Cells.* 2007, 25, 2648-2659.
 94. Kwon D.S., Gao X., Liu Y.B. et al. Treatment with bone marrow-derived stromal cells accelerates wound healing in diabetic rats // *Int. Wound J.* 2008, 5, 453-463.
 95. Lin C.D., Allori A.C., Macklin J.E. et al. Topical lineage-negative progenitor-cell therapy for diabetic wounds // *Plast. Reconstr. Surg.* 2008, 122, 1341-1351.
 96. Barcelos L.S., Duplaa C., Krankel N. et al. Human CD133⁺ progenitor cells promote the healing of diabetic ischemic ulcers by paracrine stimulation of angiogenesis and activation of Wnt signaling // *Circ. Res.* 2009, 104, 1095-1102.
 97. Gill M., Dias S., Hattori K. et al. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2⁺AC133⁺ endothelial precursor cells // *Circ. Res.* 2001, 88, 167-174.
 98. Wu Y., Zhao R.C.H., Tredget E.E. Concise review: bone marrow-derived stem/progenitor cells in cutaneous repair and regeneration // *Stem Cells.* 2010, 28, 905-915.
 99. Suh W., Kim K.L., Kim J.M. et al. Transplantation of endothelial progenitor cells accelerates dermal wound healing with increased recruitment of monocytes/macrophages and neovascularization // *Stem Cells.* 2005, 23, 1571-1578.
 100. Song Y.S., Lee H.J., Park I.H. et al. Human neural crest stem cells transplanted in rat penile corpus cavernosum to repair erectile dysfunction // *BJU Int.* 2008, 102, 220-224.
 101. Song Y.S., Lee H.J., Park I.H. et al. Potential differentiation of human mesenchymal stem cell transplanted in rat corpus cavernosum toward endothelial or smooth muscle cells // *Int. J. Impot. Res.* 2007, 19, 378-385.
 102. Bivalacqua T.J., Deng W., Kendirli M. et al. Mesenchymal stem cells alone or ex vivo gene modified with endothelial nitric oxide synthase reverse age-associated erectile dysfunction // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007, 292, H1278-H1290.
 103. Ryu S., Kodama S., Ryu K. et al. Reversal of established autoimmune diabetes by restoration of endogenous b-cell function // *J. Clin. Invest.* 2001, 108, 63-72.
 104. Kodama S., Khtreiber W., Fujimura S. et al. Islet regeneration during the reversal of autoimmune diabetes in NOD mice // *Science.* 2003, 302, 1223-1227.
 105. Kim S., Shin J.S., Kim H.J. et al. Streptozotocin-induced diabetes can be reversed by hepatic oval cell activation through hepatic transdifferentiation and pancreatic islet regeneration // *Lab. Invest.* 2007, 87, 702-712.
 106. Shapiro A.M., Lakey J.R., Ryan E.A. et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen // *N. Engl. J. Med.* 2000, 343, 230-238.
 107. Benhamou P.Y., Milliat-Guittard L., Wojtuszczyzn A. et al. Quality of life after islet transplantation: data from the

- GRAGIL 1 and 2 trials // *Diabet Med.* 2009, 26, 617-621.
108. Speight J., Reaney M.D., Woodcock A.J. et al. Patient-reported outcomes following islet cell or pancreas transplantation (alone or after kidney) in type 1 diabetes: a systematic review // *Diabet Med.* 2010, 27, 812-822.
 109. Shapiro A.M., Ricordi C., Hering B.J. et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation // *N. Engl. J. Med.* 2006, 355, 1318-1330.
 110. Ryan E.A., Paty B.W., Senior P.A. et al. Five-year follow-up after clinical islet transplantation // *Diabetes.* 2005, 54, 2060-2069.
 111. Sordi V., Piemonti L. Mesenchymal stem cells as feeder cells for pancreatic islet transplants // *Rev. Diabet Stud.* 2010, 7, 132-143.
 112. Mohanakumar T., Narayanan K., Desai N. et al. A significant role for histocompatibility in human islet transplantation // *Transplantation.* 2006, 82, 180-187.
 113. Campbell P.M., Senior P.A., Salam A. et al. High risk of sensitization after failed islet transplantation // *Am. J. Transplant.* 2007, 7, 2311-2317.
 114. Cardani R., Pileggi A., Ricordi C. et al. Allosensitization of islet allograft recipients // *Transplantation.* 2007, 84, 1413-1427.
 115. Pham P.T., Pham P.C., Lipshutz G.S., Wilkinson A.H. New onset diabetes mellitus after solid organ transplantation // *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* 2007, 36, 873-890.
 116. Zahr E., Molano R.D., Pileggi A. et al. Rapamycin impairs in vivo proliferation of islet beta-cells // *Transplantation.* 2007, 84, 1576-1583.
 117. Sykes M. Immune tolerance: mechanisms and application in clinical transplantation // *J. Intern. Med.* 2007, 262, 288-310.
 118. Kawai T., Cosimi A.B., Spitzer T.R. et al. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression // *N. Engl. J. Med.* 2008, 358, 353-361.
 119. Scandling J.D., Busque S., Dejbakhsh-Jones S. et al. Tolerance and chimerism after renal and hematopoietic-cell transplantation // *N. Engl. J. Med.* 2008, 358, 362-368.
 120. Ding Y., Xu D., Feng G. et al. Mesenchymal stem cells prevent the rejection of fully allogeneic islet grafts by the immunosuppressive activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 // *Diabetes.* 2009, 58, 1797-1806.
 121. Ito T., Itakura S., Todorov I. et al. Mesenchymal stem cell and islet co-transplantation promotes graft revascularization and function // *Transplantation.* 2010, 89, 1438-1445.
 122. Inverardi L., Ricordi C. Tolerance and pancreatic islet transplantation // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2001, 356, 759-765.
 123. Asahara T., Murohara T., Sullivan A. et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis // *Science.* 1997, 275, 964-967.
 124. Di Santo S., Yang Z., Wyler von Ballmoos M. et al. Novel cell-free strategy for therapeutic angiogenesis: in vitro generated conditioned medium can replace progenitor cell transplantation // *PLoS ONE.* 2009, 4, e5643.
 125. Park K.S., Kim Y.S., Kim J.H. et al. Trophic molecules derived from human mesenchymal stem cells enhance survival, function, and angiogenesis of isolated islets after transplantation // *Transplantation.* 2010, 89, 509-517.
 126. Urb n V.S., Kiss J., Kov cs J. et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes // *Stem Cells.* 2008, 26, 244-253.
 127. Al-Khaldi A., Eliopoulos N., Martineau D. et al. Postnatal bone marrow stromal cells elicit a potent VEGF-dependent neoangiogenic response in vivo // *Gene Ther.* 2003, 10, 621-629.
 128. Mathews V., Hanson P.T., Ford E. et al. Recruitment of bone marrow-derived endothelial cells to sites of pancreatic b-cell injury // *Diabetes.* 2004, 53, 91-98.
 129. Gruber R., Kandler B., Holzmann P. et al. Bone marrow stromal cells can provide a local environment that favors migration and formation of tubular structures of endothelial cells // *Tissue Eng.* 2005, 11, 896-903.
 130. Asahara T., Takahashi T., Masuda H. et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells // *EMBO J.* 1999, 18, 3964-3972.
 131. Kaigler D., Krebsbach P.H., Polverini P.J., Mooney D.J. Role of vascular endothelial growth factor in bone marrow stromal cell modulation of endothelial cells // *Tissue Eng.* 2003, 9, 95-103.
 132. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S. et al. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms // *Circulation.* 2004, 109, 1543-1549.
 133. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S. et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms // *Circ. Res.* 2004, 94, 678-685.
 134. Contreras J.L., Smyth C.A., Eckstein C. et al. Peripheral mobilization of recipient bone marrow-derived endothelial progenitor cells enhances pancreatic islet revascularization and engraftment after intraportal transplantation // *Surgery.* 2003, 134, 390-398.
 135. Johansson U., Rasmusson I., Niclou S.P. et al. Formation of composite endothelial cell-mesenchymal stem cell islets: a novel approach to promote islet revascularization // *Diabetes.* 2008, 57, 2393-2401.
 136. Figliuzzi M., Cornolti R., Perico N. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve islet graft function in diabetic rats // *Transplant. Proc.* 2009, 41, 1797-1800.
 137. Sakata N., Chan N.K., Chrisler J. et al. Bone marrow cell cotransplantation with islets improves their vascularization and function // *Transplantation.* 2010, 89, 686-693.
 138. Sordi V., Melzi R., Mercalli A. et al. Mesenchymal cells appearing in pancreatic tissue culture are bone marrow-derived stem cells with the capacity to improve transplanted islet function // *Stem Cells.* 2010, 28, 140-151.
 139. Olerud J., Kanaykina N., Vasylovska S. et al. Neural crest stem cells increase beta cell proliferation and improve islet function in co-transplanted murine pancreatic islets // *Diabetologia.* 2009, 52, 2594-2601.
 140. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E. et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions // *Blood.* 2006, 107, 367-372.
 141. Sato K., Ozaki K., Oh I. et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells // *Blood.* 2007, 109, 228-234.
 142. Ozawa K., Sato K., Oh I. et al. Cell and gene therapy using mesenchymal stem cells (MSCs) // *J. Autoimmun.* 2008, 30, 121-127.
 143. Bartholomew A., Polchert D., Szilagyi E. et al. Mesenchymal stem cells in the induction of transplantation tolerance // *Transplantation.* 2009, 87 (Suppl), S55-S57.
 144. Ghannam S., Pene J., Torcy-Moquet G. et al. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype // *J. Immunol.* 2010, 185, 302-312.
 145. Tyndall A., Uccelli A. Multipotent mesenchymal stromal cells for autoimmune diseases: teaching new dogs old tricks // *Bone Marrow Transplant.* 2009, 43, 821-828.
 146. Madec A.M., Mallone R., Afonso G. et al. Mesenchymal stem cells protect NOD mice from diabetes by inducing regulatory T cells // *Diabetologia.* 2009, 52, 1391-1399.
 147. Berman D.M., Willman M.A., Han D. et al. Mesenchymal stem cells enhance allogeneic islet engraftment in nonhuman primates // *Diabetes.* 2010, 59, 2558-2568.
 148. Merani S., Toso C., Emamaullee J., Shapiro A.M. Optimal implantation site for pancreatic islet transplantation // *Br. J. Surg.* 2008, 95, 1449-1461.
 149. Mayhew C.N., Wells J.M. Converting human pluripotent stem cells into beta cells: recent advances and future challenges // *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2010, 15, 54-60.
 150. Yonekawa Y., Okitsu T., Wake K. et al. A new mouse model for intraportal islet transplantation with limited hepatic

- lobe as a graft site // *Transplantation*. 2006, 82, 712-715.
151. Fiorina P., Shapiro A.M., Ricordi C., Secchi A. The clinical impact of islet transplantation // *Am. J. Transplant.* 2008, 8, 1990-1997.
 152. van der Windt D.J., Echeverri G.J., Ijzermans J.N., Cooper D.K. The choice of anatomical site for islet transplantation // *Cell Transplant.* 2008, 17, 1005-1014.
 153. Juang J.H., Hsu B.R., Kuo C.H. Islet transplantation at subcutaneous and intramuscular sites // *Transplant. Proc.* 2005, 37, 3479-3481.
 154. Borowiak M. The new generation of beta-cells: replication, stem cell differentiation, and the role of small molecules // *Rev. Diabet Stud.* 2010, 7, 93-104.
 155. Li L., Baroja M.L., Majumdar A. et al. Human embryonic stem cells possess immune-privileged properties // *Stem Cells*. 2004, 22, 448-456.
 156. Drukker M., Katchman H., Katz G. et al. Human embryonic stem cells and their differentiated derivatives are less susceptible to immune rejection than adult cells // *Stem Cells*. 2006, 24, 221-229.
 157. Grinnemo K.H., Kumagai-Braesch M., Mansson-Broberg A. et al. Human embryonic stem cells are immunogenic in allogeneic and xenogeneic settings // *Reprod. Biomed. Online*. 2006, 13, 712-724.
 158. Swijnenburg R.J., Schrepfer S., Govaert J.A. et al. Immunosuppressive therapy mitigates immunological rejection of human embryonic stem cell xenografts // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008, 105, 12991-12996.
 159. Swijnenburg R.J., Tanaka M., Vogel H. et al. Embryonic stem cell immunogenicity increases upon differentiation after transplantation into ischemic myocardium // *Circulation*. 2005, 112, I166-I172.
 160. Robertson R.P. Islet transplantation as a treatment for diabetes – a work in progress // *N. Engl. J. Med.* 2004, 350, 694-705.
 161. Fort A., Fort N., Ricordi C., Stabler C.L. Biohybrid devices and encapsulation technologies for engineering a bioartificial pancreas // *Cell Transplant.* 2008, 17, 997-1003.
 162. Pickup J.C., Zhi Z.L., Khan F. et al. Nanomedicine and its potential in diabetes research and practice // *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2008, 24, 604-610.
 163. Lee S.H., Hao E., Savinov A.Y. et al. Human b-cell precursors mature into functional insulin-producing cells in an immunoisolation device: implications for diabetes cell therapies // *Transplantation*. 2009, 87, 983-991.
 164. Teramura Y., Iwata H. Bioartificial pancreas microencapsulation and conformal coating of islet of Langerhans // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010, 62, 827-840.
 165. McQuilling J.P., Arenas-Herrera J., Childers C. et al. New alginate microcapsule system for angiogenic protein delivery and immunoisolation of islets for transplantation in the rat omentum pouch // *Transplant Proc.* 2011, 43, 3262-3264.
 166. Chatenoud L., Bluestone J.A. CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity // *Nat. Rev. Immunol.* 2007, 7, 622-632.
 167. Taylor C.J., Bolton E.M., Pocock S. et al. Banking on human embryonic stem cells: estimating the number of donor cell lines needed for HLA matching // *Lancet*. 2005, 366, 2019-2025.
 168. Rao M.S., Auerbach J.M. Estimating human embryonic stem-cell numbers // *Lancet*. 2006, 367, 650.
 169. Osafune K., Caron L., Borowiak M. et al. Marked differences in differentiation propensity among human embryonic stem cell lines // *Nat. Biotechnol.* 2008, 26, 313-315.
 170. Hao J., Zhu W., Sheng C. et al. Human parthenogenetic embryonic stem cells: one potential resource for cell therapy // *Sci. China, C, Life Sci.* 2009, 52, 599-602.
 171. Tolar J., Nauta A.J., Osborn M.J. et al. Sarcoma derived from cultured mesenchymal stem cells // *Stem Cells*. 2007, 25, 371-379.
 172. Blum B., Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic stem cells // *Adv. Cancer Res.* 2008, 100, 133-158.
 173. Kroon E., Martinson L.A., Kadoya K. et al. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo // *Nat. Biotechnol.* 2008, 26, 443-452.
 174. Chung S., Shin B.S., Hedlund E. et al. Genetic selection of sox1GFP-expressing neural precursors removes residual tumorigenic pluripotent stem cells and attenuates tumor formation after transplantation // *J. Neurochem.* 2006, 97, 1467-1480.
 175. D'Amour K.A., Bang A.G., Eliazar S. et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2006, 24, 1392-1401.
 176. Wen Y., Chen B., Ildstad S.T. Stem cell-based strategies for the treatment of type 1 diabetes mellitus // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2011, 11, 41-53.
 177. Fotino C., Ricordi C., Lauriola V. et al. Bone marrow-derived stem cell transplantation for the treatment of insulin-dependent diabetes // *Rev. Diabet Stud.* 2010, 7, 144-157.

(Надійшла 5.10.2012)

Досягнення регенеративної медицини в терапії цукрового діабету 1 типу. II. Застосування стовбурових клітин для лікування основного захворювання та його ускладнень

І.П. Пастер, М.Д. Тронько

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин

ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Представлені сучасні наукові дані про досягнення регенеративної медицини в застосуванні стовбурових клітин для лікування цукрового діабету першого типу та його ускладнень.

Ключові слова: цукровий діабет першого типу, стовбурові клітини.

Advances of regenerative medicine in the therapy of type 1 diabetes mellitus. II. Use of stem cells for the therapy of main disease and its complications

I.P. Pasteur, M.D. Tronko

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and

Metabolism, Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine»

Summary. Modern scientific data are presented, on the advances of regenerative medicine in the use of stem cells for the therapy of type 1 diabetes mellitus and its complications.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, stem cells.