

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-1-134-141

## ВНУТРИСЕЛЕЗЕНОЧНАЯ ИМПЛАНТАЦИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫСАМ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Г.Н. Скалецкая, Н.Н. Скалецкий, Л.А. Кирсанова, Г.Н. Бубенцова, В.И. Севастьянов  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

**Цель:** изучить влияние внутриселезеночной имплантации тканеинженерной конструкции поджелудочной железы (ТИК ПЖ) на течение экспериментального сахарного диабета (СД). **Материалы и методы.** Флотирующие островкоподобные культуры (ФОК) получали из ПЖ новорожденных кроликов. Для формирования ТИК ПЖ проводили инкубацию ФОК с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелем (БМКГ). Образцы ТИК ПЖ вводили в пульпу селезенки крыс с СД, индуцированным стрептозотоцином. **Результаты.** Формирование ТИК ПЖ, обладающей инсулинпродуцирующей активностью, происходило на 7–10-й день инкубации ФОК с БМКГ. После имплантации ТИК ПЖ у крыс-реципиентов было отмечено стойкое снижение гипергликемии и исчезновение клинических признаков СД. Гистологический анализ выявил в месте имплантации ТИК ПЖ наличие групп островковых клеток без признаков иммунной клеточной реакции. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что ксеногенные островковые клетки, находившиеся в составе ТИК ПЖ, способны выживать и активно функционировать после их имплантации в пульпу селезенки крыс с экспериментальным СД.

*Ключевые слова:* поджелудочная железа, новорожденные кролики, флотирующие островкоподобные культуры, биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель, тканеинженерная конструкция, крысы, стрептозотоциновый сахарный диабет, имплантация в селезенку, гликемия.

## INTRASPLENIC IMPLANTATION OF TISSUE-ENGINEERED PANCREATIC CONSTRUCT IN EXPERIMENTAL DIABETIC RATS

G.N. Skaletskaya, N.N. Skaletskiy, L.A. Kirsanova, G.N. Bubentsova, V.I. Sevastianov  
Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

**Objective:** to study the effect of intrasplenic implantation of a tissue-engineered pancreatic construct (TEPC) on experimental diabetes mellitus. **Materials and methods.** Floating islet-like cultures (FICs) were obtained from the pancreas of newborn rabbits. To form TEPC, FICs were incubated with biopolymer microheterogeneous collagen-containing hydrogel (BMCH). TEPC samples were injected into the splenic pulp of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Results.** TEPC with insulin-producing activity was formed on the 7–10th day of incubation of FICs with BMCH. After TEPC implantation in recipient rats, persistent decrease in hyperglycemia and disappearance of clinical signs of diabetes were noted. Histological analysis revealed the presence of groups of islet cells without signs of immune cell response at the TEPC implantation site. **Conclusion.** Our findings indicate that xenogeneic islet cells that were part of the TEPC of the pancreas can survive and actively function after implantation in the splenic pulp of diabetic rat.

*Keywords:* pancreas, newborn rabbits, floating islet-like cultures, biopolymer microheterogeneous collagen-containing hydrogel, tissue-engineered construct, rats, streptozotocin-induced diabetes, splenic implantation, glycemia.

**Для корреспонденции:** Скалецкая Галина Николаевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.  
Тел.: (499) 190-42-66; (903) 771-18-13. E-mail: Skalink@mail.ru

**For correspondence:** Skaletskaya Galina Nikolaevna. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.  
Tel.: (499) 190-42-66; (903) 771-18-13. E-mail: Skalink@mail.ru

## ВВЕДЕНИЕ

По данным Международной федерации диабета (IDF), 415 миллионов человек во всем мире страдают сахарным диабетом, и их число, по прогнозам, увеличится до 642 миллионов к 2040 году (<http://www.diabetesatlas.org>), и в США, в частности, в 2050 году это заболевание будет диагностировано у 1 из 3 взрослых жителей. Лечение сахарного диабета 1-го типа, который составляет около 10% больных сахарным диабетом, за последнее столетие принципиально не изменилось – по-прежнему единственным способом сохранения жизни больного остается ежедневное введение инсулина. При этом применение интенсивной инсулинотерапии с использованием различных синтезированных препаратов гормона не способно обезопасить от развития и неуклонного прогрессирования поздних диабетических осложнений, таких как ретинопатия, нефропатия и нейропатия, являющихся основными причинами наступления инвалидности и преждевременной смерти пациентов с сахарным диабетом [1, 2]. Естественным направлением медицинской науки является разработка методов, способных возместить отсутствующие при СД 1 (вследствие аутоиммунной деструкции)  $\beta$ -клетки в островках поджелудочной железы путем введения донорских островковых клеток, активная функция которых помимо снижения потребности во введении препаратов инсулина (вплоть до полной их отмены на определенное время) способна приводить к регрессу диабетических ангиопатий. Однако аллотрансплантацию островков, которая считается наиболее эффективным способом заместительного лечения, перспективным направлением назвать сложно из-за непреодолимого дефицита источника островков, которым является поджелудочная железа посмертных доноров. При этом для достижения инсулиннезависимости реципиентов требуется, как правило, использование от 2 до 4 донорских органов [3], так как значительное количество островков повреждается в процессе их многоэтапной изоляции от экзокринной панкреатической ткани, а также в первые 3 суток после инфузии в воротную вену, в течение которых теряется до 60% трансплантированных островков. Причинами таких потерь являются прежде всего развитие в местах имплантации воспалительной реакции и отсутствие адекватной васкуляризации. Кроме того, интрапортальное введение остается небезопасным способом инфузии и требует ограничить массу вводимого клеточного материала из-за опасности массовой эмболизации ветвей воротной вены. В связи с этим целесообразен поиск более безопасных способов введения островков (островковых клеток) при условии обеспечения благоприятного микроокружения и достаточного кровоснабжения имплантата. Определенные надежды связываются

с созданием тканеинженерной конструкции поджелудочной железы (ТИК ПЖ), применение которой в той или иной степени может решить указанные выше проблемы.

Ранее нами были опубликованы материалы, посвященные разработке экспериментальной модели ТИК ПЖ [4] и результатам ее внутрибрюшинной имплантации. В настоящем исследовании изучено влияние внутриселезеночной имплантации ТИК ПЖ на течение экспериментального сахарного диабета у крыс, причем длительность наблюдения за животными-реципиентами была ограничена 4 неделями, так как сохранение признаков функционирования трансплантата в течение такого срока позволяет считать стойкое его приживание в организме реципиента свершившимся фактом. Выбор этого варианта введения был обусловлен прежде всего возможностью определения судьбы введенной ТИК ПЖ путем гистологического изучения места имплантации (пульпа селезенки).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Получение тканеинженерной конструкции поджелудочной железы

Животных-доноров (1–3-дневные новорожденные кролики) доставляли из специализированного питомника Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». ТИК ПЖ приготавливали путем совместной инкубации флотурирующих островкоподобных культур (ФОК), полученных из поджелудочной железы новорожденных кроликов с помощью разработанного нами метода [4], и биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля (БМКГ). В качестве БМКГ использовали отечественный *Сфера*<sup>®</sup>ГЕЛЬ [5].

Наблюдение за формированием ТИК проводили с помощью инвертированного микроскопа Nikon Eclipse TS 100 путем почти ежедневного мониторинга, и значимые изменения фиксировали с помощью цифровой фотокамеры.

Сбор ТИК ПЖ проводился непосредственно перед имплантацией с использованием культурального скребка.

### Подготовка животных с экспериментальным сахарным диабетом

Крыс-самцов линии Вистар массой тела 200–240 г доставляли из питомника лабораторных животных Федерального государственного унитарного предприятия «Опытно-производственное хозяйство «Манихино». Экспериментальный сахарный диабет

1-го типа вызывали с помощью дробного введения стрептозотоцина (70 мг/кг – по 12 мг/кг в течение 5 дней подряд), которое, по нашим данным [6], обеспечивает стойкий диабетический статус животных. Все манипуляции с животными проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986). Постпрandiaльную гликемию в капиллярной крови крыс определяли с помощью глюкометра One Touch Ultra (Life Scan Johnson & Johnson, США).

Из 16 крыс со стрептозотоциновым СД сформировали две группы: 1-я – 8 животных, которым не проводили никакого лечения (контроль) и 2-я – 8 животных, которым осуществляли внутриселезеночную имплантацию ТИК ПЖ (опыт).

### Техника имплантации ТИК ПЖ

Каждой из крыс 2-й группы вводился образец ТИК ПЖ, тканевый компонент которой содержал ФОК, полученные из 10 ПЖ новорожденных кроликов.

Образец ТИК ПЖ вводили подопытным наркотизированным животным (золетил внутривентриально в дозе 20 мг на 1 кг массы тела) следующим образом. После срединной лапаротомии селезенка осторожно выводилась в область операционной раны и помещалась на стерильную марлевую салфетку. С помощью силиконового катетера ТИК ПЖ в виде клеточно-гелевой композиции, суспендированной в

1,0–1,5 мл среды 199, забирали *ex tempore* в шприц объемом 2 мл. После отсоединения катетера на его место надевали инъекционную иглу диаметром не менее 1 мм. Иглой осторожно неглубоко прокалывали поверхность селезенки, и суспензию с ТИК ПЖ вводили медленно в пульпу органа. Для остановки кровотечения и предотвращения выхода введенных клеток место инъекции на 2–3 минуты плотно закрывали стерильным марлевым тампоном. Селезенку с имплантатом аккуратно возвращали в полость брюшины. Затем брюшную стенку послойно зашивали и операционную рану обрабатывали раствором йода.

### Гистологические исследования

Контрольное изучение парафиновых срезов образцов ФОК проводили путем окраски гематоксилином и эозином, а также с помощью иммуногистохимического и иммунофлуоресцентного окрашивания антителами к инсулину.

Иссеченные фрагменты селезенки крыс-реципиентов, соответствующие предположительно месту введения ТИК ПЖ, фиксировали в формалине. После обработки указанного материала и приготовления парафиновых блоков готовили срезы, которые окрашивали классическими красителями (гематоксилин и эозин), а также по Маллори.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### Формирование ТИК ПЖ

Данные морфологического исследования ФОК как тканевого компонента ТИК ПЖ показали их хорошую морфологическую сохранность с наличием гормонсекретирующих  $\beta$ -клеток (рис. 1–3).

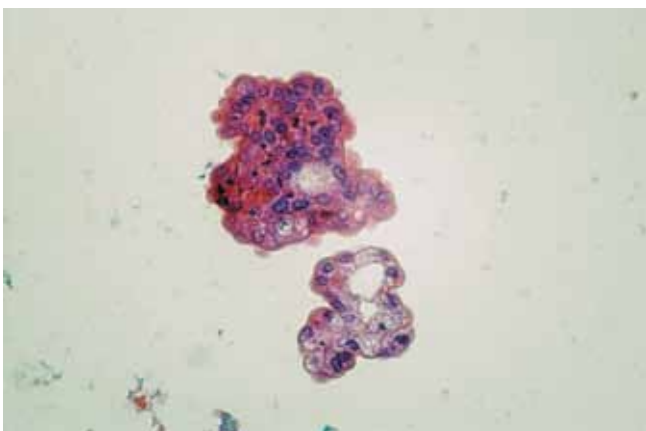


Рис. 1. Флотирующие островковоподобные культуры поджелудочной железы новорожденных кроликов, 10-й день инкубации. Окрашивание гематоксилином и эозином.  $\times 200$

Fig. 1. Flotation islet-like pancreatic cultures of newborn rabbits, 10th day of incubation. Hematoxylin and eosin staining.  $\times 200$

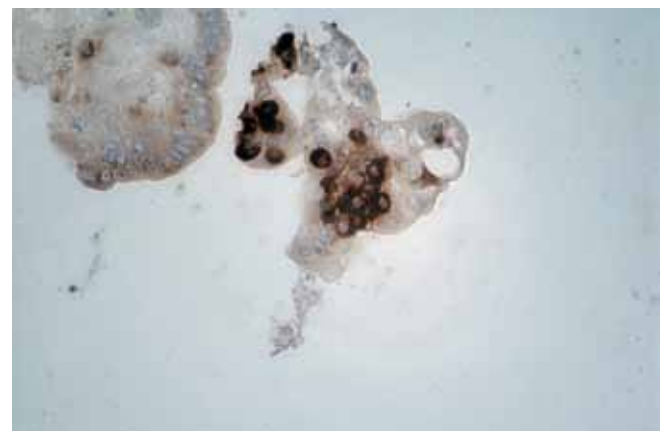


Рис. 2. Флотирующие островковоподобные культуры поджелудочной железы новорожденных кроликов, 10-й день инкубации. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к инсулину.  $\times 200$

Fig. 2. Flotation islet-like pancreatic cultures of newborn rabbits, 10th day of incubation. Immunohistochemical staining with insulin antibodies.  $\times 200$

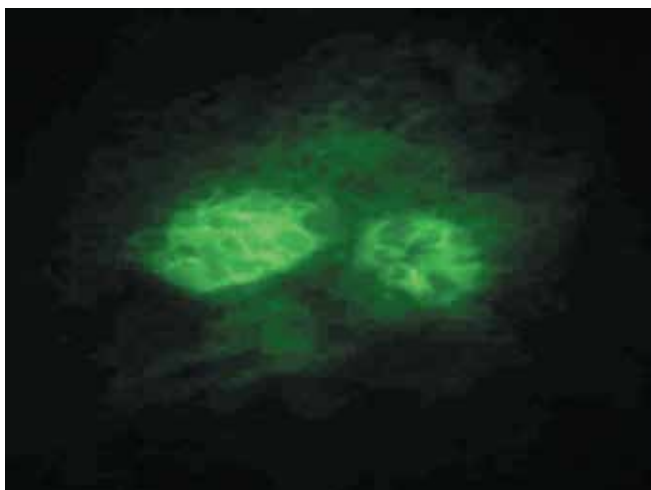


Рис. 3. Свечение гранул инсулина во флотирующих островковоподобных культурах поджелудочной железы. Иммунофлуоресцентное окрашивание антителами к инсулину.  $\times 200$

Fig. 3. Glow insulin granules in flotation islet-like pancreatic cultures. Immunofluorescence staining with insulin antibodies.  $\times 200$

После того как в течение 8–10 суток происходило формирование ФОК, проводилась их инкубация с биоматриком (БМКГ). В процессе совместной инкубации ФОК оседали на дно культурального флакона, равномерно покрытого биоматриком. Контакт с последним оказывал благоприятное влияние на культуры. Происходило успешное прикрепление их к БМКГ (рис. 4) с последующим образованием однослойных зон роста вокруг места адгезии ФОК, что свидетельствовало о хороших матричных свойствах БМКГ относительно ФОК. В результате сокультивирования ФОК и биоматрикса *in vitro* происходило формирование ТИК ПЖ (рис. 5).

### Наблюдение за состоянием животных и результаты определения гликемии

В группе № 1 (контрольная диабетическая) через 2 недели после введения стрептозотоцина у всех 8 животных отмечались характерные клинические признаки сахарного диабета: потеря массы тела, полидипсия, полиурия, вялость, пожелтение и выпадение шерсти. Столь выраженному диабетическому статусу соответствовали высокие уровни гликемии – от 22,5 до 32,4 ммоль/л (табл. 1). Ни у одной из крыс этой группы не было отмечено тенденции к существенному снижению гипергликемии, что свидетельствовало о надежности примененной в данном исследовании модели сахарного диабета 1-го типа. При этом две крысы (№ 17 и № 24) с наиболее высокими уровнями гипергликемии за время наблюдения погибли на фоне крайнего истощения.

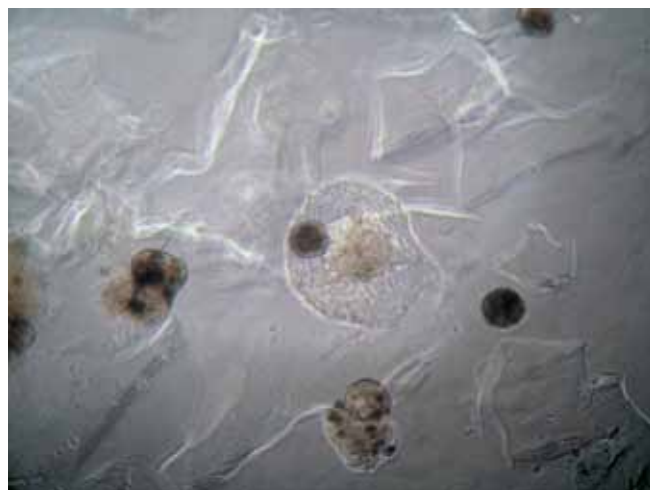


Рис. 4. Прикрепление флотирующих островковоподобных культур к матриксу. Инвертированный микроскоп.  $\times 40$

Fig. 4. Attachment of flotation islet-like cultures to matrix. The inverted microscope.  $\times 40$

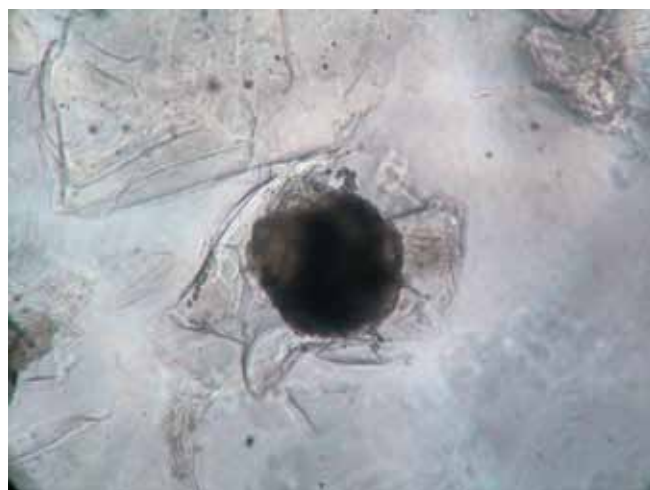


Рис. 5. Формирование тканеинженерной конструкции поджелудочной железы. Инвертированный микроскоп.  $\times 100$

Fig. 5. Formation of pancreatic tissue engineering construct. The inverted microscope.  $\times 100$

Во 2-й группе (опыт) предтрансплантационный уровень гликемии через 2 недели после последней инъекции стрептозотоцина был почти таким же, как в эти же сроки у контрольных диабетических животных (табл. 2). Однако уже через неделю после имплантации ТИК ПЖ была отмечена отчетливая тенденция к уменьшению гипергликемии, и еще через неделю средний уровень гликемии у крыс-реципиентов оказался достоверно сниженным ( $p < 0,05$ ), опустившись до 17,1 ммоль/л. На этом сроке трех животных с относительно умеренным снижением гипергликемии (№ 13, 19 и 21) подвергли эвтаназии

Таблица 1

**Изменения гликемии (ммоль/л) у крыс контрольной группы (№ 1)  
(стрептозотоциновый сахарный диабет без лечения)**

**Changes in glycemia (mmol/L) in control group rats (№ 1)  
(streptozotocin diabetes mellitus without treatment)**

№ крысы	Недели до (–) и после (+) имплантации в группе № 2						
	–2	–1	0	+1	+2	+3	+4
2	25,1	23,3	<b>22,0</b>	24,5	23,9	22,5	25,4
5	26,2	24,4	<b>26,3</b>	25,1	24,8	25,0	25,4
6	22,5	23,7	<b>24,1</b>	23,2	23,4	22,8	23,6
9	26,9	27,4	<b>26,0</b>	28,5	27,9	27,5	26,4
17	32,4	>33,3	> <b>33,3</b>	гибель			
23	27,7	30,0	<b>28,7</b>	27,3	28,1	25,5	26,4
24	31,8	32,5	> <b>33,3</b>	>33,3	>33,3	гибель	
29	28,1	28,5	<b>26,1</b>	27,2	27,9	27,5	28,4
<b>М</b>	<b>27,6</b>	<b>27,1</b>	<b>25,9</b>	<b>25,8</b>	<b>25,4</b>	<b>25,5</b>	<b>26,2</b>

Таблица 2

**Изменения гликемии (ммоль/л) у крыс 2-й группы после имплантации  
тканеинженерной конструкции поджелудочной железы в пульпу селезенки**

**Changes in glycemia (mmol/L) in rats of the 2nd group following implantation  
of pancreatic tissue-engineering construct into spleen pulp**

№ крысы	Недели до (–) и после (+) имплантации						
	–2	–1	0	+1	+2	+3	+4
3	25,2	23,9	<b>24,3</b>	19,8	16,4	17,7	14,0
4	29,6	25,8	<b>25,7</b>	19,2	15,3	13,9	14,1
11	20,3	21,6	<b>22,0</b>	19,9	12,8	14,9	12,5
13	26,9	23,2	<b>26,5</b>	24,9	18,4	эвт.	
19	27,7	23,1	<b>26,0</b>	21,4	16,1	эвт.	
20	24,4	28,6	<b>31,1</b>	26,6	14,7	15,8	16,4
21	25,3	24,7	<b>27,2</b>	22,1	21,9	эвт.	
28	33,1	32,2	<b>31,1</b>	28,2	21,1	21,4	21,0
<b>М</b>	<b>26,5</b>	<b>24,9</b>	<b>25,5</b>	<b>22,8</b>	<b>17,1</b>	<b>16,7</b>	<b>15,6</b>

с целью гистологического изучения фрагмента селезенки, куда предположительно был введен образец ТИК ПЖ. За остальными крысами-реципиентами наблюдение было продолжено до 4 недель после имплантации. Хотя ни у одной из подопытных крыс не произошло нормализации концентрации глюкозы в крови, не было отмечено и возврата гликемии к высокому дотрансплантационному уровню. При этом у всех животных 2-й группы практически исчезли выраженные клинические признаки диабетического статуса, началась медленная, но устойчивая прибавка массы тела, в том числе у крысы № 28, у которой до трансплантации был наиболее высокий уровень гликемии (31,1 ммоль/л). По-видимому, снижение концентрации глюкозы в крови на 1/3 позволило животному адаптироваться к ежедневной относительно высокой гликемии и сохранить жизнеспособность. До окончания постимплантационного наблюдения клиническая ремиссия диабетического статуса у животных 2-й группы сохранялась.

**Данные гистологических исследований  
селезенки крыс-реципиентов**

Результаты морфологического изучения селезенки крыс-реципиентов представляли особый интерес, так как появилась возможность в определенной степени выяснить судьбу ТИК ПЖ, имплантированной крысам с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа. При этом сначала для выявления постимплантационного состояния ТИК ПЖ в ближний срок после ее введения (2 недели) 3 крысы 2-й группы были подвергнуты эфтаназии с целью последующего гистологического исследования селезенки. У одной из этих крыс (№ 21), у которой гипергликемия снизилась незначительно (см. табл. 2), структуры, похожие на имплантаты, выявлены не были, однако определялись признаки травматизации пульпы селезенки в виде ее разрывов. По-видимому, в процессе введения суспензии, содержащей ТИК ПЖ, через разрывы, сделанные инъекционной иглой, часть имплантата вышла за пределы селезенки и попала в неблагопри-



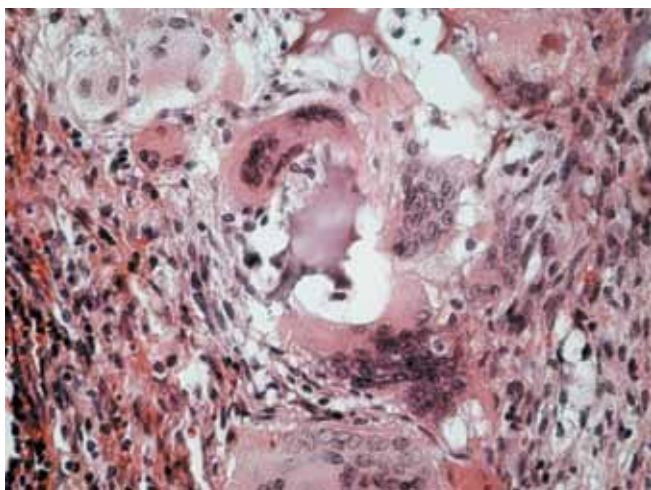


Рис. 6. Селезенка крысы № 19 через 2 недели после интрапульпарной имплантации ТИК ПЖ. В центре – резорбирующийся фрагмент БМКГ с фестончатыми краями, окруженный группами лейкоцитов. ×200

Fig. 6. Spleen from the Rat No 19 in 2 weeks after intrapulpary implantation of pancreatic tissue engineering construct (PTEC). In the center – resorbable fragment of biopolymeric microheterogeneous collagen-containing hydrogel (BMCG) with festooned edges, surrounded by groups of leukocytes. ×200

ятные условия, не позволившие введенным островковым клеткам проявить себя в достаточной мере.

У крысы № 19, с более выраженным снижением гипергликемии, были выявлены структурные образования, которые можно отнести к фрагментам имплантированной ТИК ПЖ (рис. 6), так как они содержали как группы эпителиальных (островковых) клеток, так и остатки биоматрикса, окруженные группами лейкоцитов, которые, по-видимому, принимали активное участие в резорбции БМКГ. У крысы № 21, подвергшейся эвтаназии также через 2 недели после введения ТИК ПЖ, были обнаружены участки пульпы селезенки с умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией вокруг группы островковоподобных структур и с формированием нежной соединительно-тканной капсулы (рис. 9, 10), которая, возможно, образовалась в процессе резорбции остатков имплантированного биоматрикса.

По окончании эксперимента – через 4 недели после имплантации ТИК ПЖ – у двоих крыс-реципиентов (№ 4 и № 11) удалось обнаружить островковоподобные имплантаты эпителиальных клеток (рис. 9, 10). При этом у обоих животных к моменту эвтаназии отмечалось снижение гликемии по сравнению с доимплантационным уровнем практически вдвое, при отсутствии характерных клинических проявлений диабетического статуса.

Важно отметить, что при этом не было выявлено гистологических признаков клеточной иммунной реакции на имплантированный в составе ТИК ПЖ



Рис. 7. Селезенка крысы № 21 через 2 недели после интрапульпарной имплантации ТИК ПЖ. В центре – группы островковоподобных структур и остатки биоматрикса. Окрашивание гематоксилином и эозином. ×100

Fig. 7. Spleen from the rat No 21 in 2 weeks after intrapulpary implantation of PTEC. In the center – groups of islet-like structures and residues of biomatrix. Hematoxylin and eosin staining. ×100

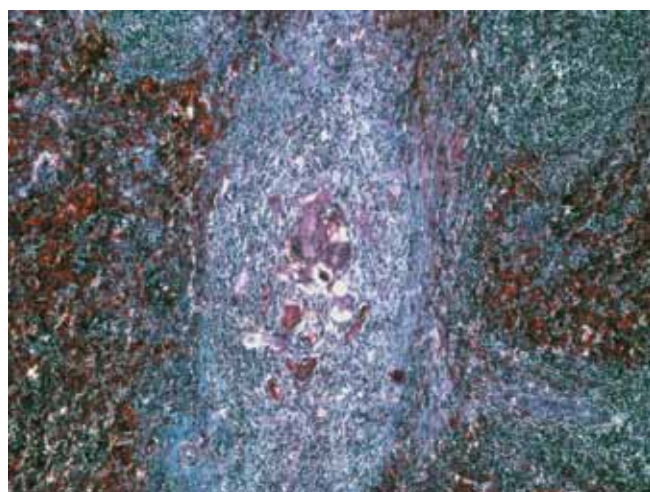


Рис. 8. То же. Окрашивание по Маллори. ×200

Fig. 8. The same. Mallory staining. ×200

клеточный ксенотрансплантат при полном отсутствии остатков биоматрикса. По-видимому, к исходу 4-й недели после имплантации ТИК ПЖ в пульпу селезенки полностью завершалась резорбция БМКГ и исчезала сопутствовавшая этому процессу лейкоцитарная реакция. Возможно, сохранявшийся определенное время биоматрикс переключал в какой-то степени иммунную реакцию селезенки на себя и позволял ксеногенным островковоподобным структурам длительно выживать и функционировать в организме чужеродного реципиента. В то же время входившие в состав ТИК ПЖ культуры островковых клеток сами



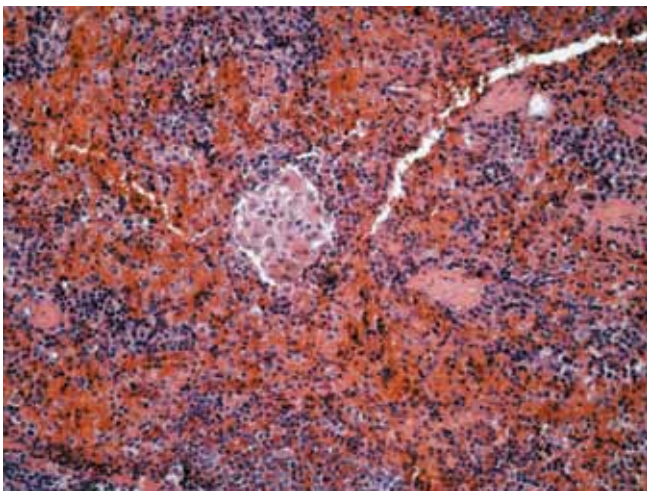


Рис. 9. Селезенка крысы № 4 через 4 недели после интрапульпарной имплантации ТИК ПЖ. В центре – эпителиальная островковоподобная структура без признаков деструкции и клеточной иммунной реакции при отсутствии остатков БМКГ. Окрашивание гематоксилином и эозином.  $\times 200$

Fig. 9. Spleen from the rat No 4 in 4 weeks after intrapulparary implantation of PTEC. In the center is epithelial islet-like structure with no signs of destruction and cellular immune response in the absence of BMCG residues. Hematoxylin and eosin staining.  $\times 200$

по себе, как было показано ранее, обладают существенно сниженной иммуногенностью [7].

Таким образом, опыты по внутриселезеночной имплантации тканеинженерной конструкции поджелудочной железы, состоящей из флолирующих островковоподобных культур и биodeградируемого микрогетерогенного коллагенсодержащего матрикса, крысам со стрептозотоциновым сахарным диабетом подтвердили ее морфологическую сохранность и функциональную активность в условиях *in vivo*. Однако гипогликемизирующее действие имплантации ТИК ПЖ в селезенку оказалось менее выраженным по сравнению с внутрибрюшинным введением аналогичных образцов ТИК ПЖ, которое было осуществлено нами ранее [4]. По-видимому, такое различие можно объяснить тем, что при имплантации образца ТИК ПЖ в полость брюшины все его количество попадает в место назначения, что обеспечивается дополнительным промыванием шприца и инъекционной иглы с целью введения остатков клеточно-гелевой суспензии. Однако при введении в пульпу селезенки количество вводимого образца ТИК ПЖ естественным образом ограничено, и попытки увеличить объем имплантата чреваты разрывами органа и обратного выхода суспензии. Поэтому масса и функциональная способность внутриселезеночного и внутрибрюшинного имплантата может существенно различаться. В то же время в настоящем исследовании в определенной степени достигнута

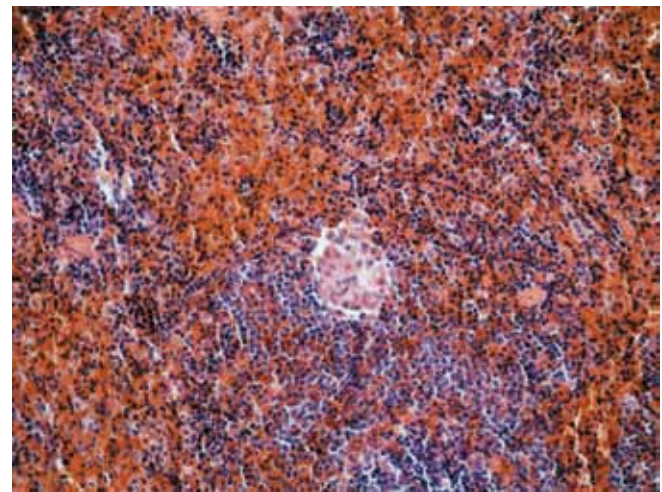


Рис. 10. Селезенка крысы № 11 через 4 недели после интрапульпарной имплантации ТИК ПЖ. В центре – островковоподобная структура без признаков деструкции и клеточной иммунной реакции. Окрашивание гематоксилином и эозином.  $\times 200$

Fig. 10. Spleen from the rat No 11 in 4 weeks after intrapulparary implantation of PTEC. In the center is an islet-like structure with no signs of destruction and cellular immune response. Hematoxylin and eosin staining.  $\times 200$

основная его цель, достижение которой не могло быть реализовано при внутрибрюшинном введении ТИК ПЖ. Если отыскать введенный за несколько недель до эвтаназии имплантат в полости брюшины нереально, то его обнаружение в пульпе селезенки крыс-реципиентов вполне возможно. Проведенный гистологический анализ позволил определить, что через 2 недели после внутриселезеночной имплантации ТИК ПЖ происходила активная резорбция биоматрикса, а еще через 2 недели он полностью рассасывался и имплантат сохранялся в виде островковоподобных структур. Их морфологическая целостность и отсутствие признаков клеточной иммунной реакции позволили объяснить полученный антидиабетический эффект функционированием островковых клеток, входивших в состав ТИК ПЖ.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

*The authors declare no conflict of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Van Belle TL, Coppieters KT, von Herrath MG. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev.* 2011; 79–118. doi: 10.1152/physrev.00003.2010.
2. Lind M, Svensson A-M, Kosiborod M. Glycemic control and excess mortality in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 371: 1972–1982. doi: 10.1056/NEJMoa1408214.

3. *Pellegrini S, Cantarelli E, Sordi V, Nano R, Piemonti L.* The state of the art of islet transplantation and cell therapy in type 1 diabetes. *Acta Diabetol.* 2016: 683–691. doi: 10.1007/s00592-016-0847-z.
4. *Скалецкая ГН, Севастьянов ВИ.* Экспериментальная модель тканеинженерной конструкции поджелудочной железы. *Трансплантология: итоги и перспективы.* Том IX. 2017 год / Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2018: 283–299. *Skaletskaya GN, Sevastianov VI.* Eksperimentalnaya model tkaneinzhenernoy konstruksii podzheludochnoy zhelezy. *Transplantologia: itogi i perspektivy.* Tom IX. 2017 god / Pod red. S.V. Gautier. M.–Tver': Triada. 2018: 283–299.
5. *Севастьянов ВИ, Перова НВ.* Инъекционный гетерогенный биополимерный гидрогель для заместительной и регенеративной хирургии и способ его получения. Патент РФ № 2433828 (2010). *Sevastianov VI, Perova NV.* Inyeksionniy geterogenniy biopolimerniy gidrogel dla zamestitelnoy regenerativnoy khirurgii i sposoby ego polucheniya. Patent RF 2433828 (2010).
6. *Севастьянов ВИ., Шагидулин МЮ, Скалецкий НН, Перова Н., Довжик ИА, Готье СВ.* Доклинические исследования безопасности и эффективности БМКП для регенерации суставного хряща, печени и поджелудочной железы. *Методические рекомендации по проведению доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов* / Под ред. акад. В.А. Ткачука. М.: МГУ, 2017: 187–255. *Sevastianov VI, Shagidulin MYu, Skaletskiy NN, Perova NV, Dovzhik IA, Gautier SV.* Doklinicheskiye issledovaniya bezopasnosti i effektivnosti BMKP dla regeneratsii sustavnogo khrashcha, pecheni i podzheludochnoy zhelezy. *Metodicheskiye rekomendatsii po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy biomeditsinskykh kletochnykh produktov* / Pod red. akad. V.A. Tkachuka. M.: MGU, 2017: 187–255.
7. *Богданова НБ, Абрамов ВЮ, Скалецкий НН, Петрова ИА, Пушкова ИА, Баранова НВ, Бубенцова ГН.* Исследование фиксации сывороточных иммуноглобулинов человека на культивированных островковых клетках поджелудочной железы кролика. *IV Всероссийский съезд трансплантологов.* М., 2008: 227–228. *Bogdanova NB, Abramov VYu, Skaletskiy NN, Petrova IA, Pushkova IA, Bubentsova GN.* Issledovanie fiksatsii syvorotochnykh immunoglobulinov cheloveka na kultivirovannykh ostrovkovykh kletkah podzheludochnoy zhelezy. *IV Vserossiyskiy s'yezd transplantologov.* M., 2008: 227–228.

*Статья поступила в редакцию 7.02.2020 г.  
The article was submitted to the journal on 7.02.2020*