

درمان دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین به وسیله قرنطینه ایمنی سلولهای جزایر لانگرهانس از طریق پیوند در موشهای صحرایی نر

دکتر عظیم اکبرزاده*، شیرین جمشیدی**، بهرخ فرهمند***، دکتر بهزاد لامع راد****، سیدمحمدعلی مفیدیان*****

دریافت: ۸۳/۸/۱۳، پذیرش: ۸۴/۷/۱۱

چکیده:

مقدمه و هدف: تزریق انسولین راه جدی مبارزه با عوارض دیابت شیرین تیپ I وابسته به انسولین می باشد. امروزه در تعدادی از آزمایشگاه های دنیا، محققین به دنبال درمان کامل این بیماری از طریق پیوند (Transplantation) سلولهای ترشح کننده انسولین موجود در جزایر لانگرهانس پانکراس می باشند. بهمین منظور این مطالعه با هدف درمان دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین به وسیله قرنطینه ایمنی سلولهای جزایر لانگرهانس از طریق پیوند در موشهای صحرایی نر صورت گرفت. **روش کار:** در این مطالعه تجربی بافت دهنده در هر مرحله کاری از شش سر موش های صحرایی ویستار نر بالغ با وزن ۲۵۰-۳۰۰ gr (۷۵-۹۰ روزه) تأمین شد. پیوند در راتهایی که ۴-۲ هفته قبل از پیوند توسط تزریق ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین بصورت داخل رگی (Intravenous) مبتلا به دیابت شده بودند صورت گرفت. تکنیک پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس به صورت داخل کپسولی (Encapsulation) در غیاب مهار کننده های ایمنولوژیکی برای حمایت بافت پیوند شده در مقابل سیستم ایمنی گیرنده پیوند (میزبان) راهی تازه برای موفقیت در این مسیر می باشد. **نتایج:** طبق این پروسه جزایر می توانند در یک غشاء نیمه تراوای طبیعی و یا مصنوعی احاطه شوند که اجازه رسیدن غذا و اکسیژن را به جزایر لانگرهانس و همچنین رها شدن انسولین را به درون جریان خون می دهد و همزمان باعث ایجاد سد مکانیکی جداکننده سلولهای ایمنی بالقوه مخرب و آنتی بادیاها از سلولهای جزایر و پس زده شدن پیوند می گردد. **نتیجه نهایی:** پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس خالص شده به زیر پوست بیضه و یا به داخل فضای صفاقی که یک پیوند ایمنوایزوله طبیعی می باشد بصورت پایدار و به سرعت حالت دیابتی را کنترل می کند.

کلید واژه ها: پیوند / دیابت شیرین / سلولهای جزایر لانگرهانس / قرنطینه ایمنی

مقدمه:

وابسته به انسولین (IDDM) نیز نامیده می شود بر اثر فقدان انسولین به وجود می آید (۲). ۲- دیابت نوع II که دیابت قندی غیروابسته به انسولین (NIDDM) نیز نامیده می شود بر اثر کاهش حساسیت بافتهای هدف به اثرات متابولیک انسولین به وجود می آید (۳). از این کاهش حساسیت به انسولین غالباً تحت عنوان "مقاومت به

دیابت قندی (Diabetes Mellitus) یک سندرم اختلال متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین است که توسط کمبود یا فقدان ترشح انسولین و یا کاهش حساسیت بافتها به انسولین به وجود می آید. دو نوع عمومی از دیابت قندی وجود دارد (۱). ۱- دیابت نوع I که دیابت قندی

* دانشیار بیوشیمی گروه پایلوت بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران (azimakbarzadeh@pasteur.ac.ir)

** کارشناس ارشد گروه بیوشیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه الزهرا

*** کارشناس ارشد بیوشیمی گروه پایلوت بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران

**** دانشیار گروه بیوشیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه الزهرا

***** کارشناس ارشد سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی کرج

انسولین^۲ نام برده می شود. در هر دو نوع دیابت قندی متابولیسم تمام مواد غذایی دچار تغییر می شوند. اثر پایه ای فقدان انسولین یا مقاومت به انسولین روی متابولیسم گلوکز جلوگیری از برداشت و مصرف کارآمد گلوکز توسط قسمت اعظم سلولهای بدن به استثنای سلولهای مغز است(۴). در نتیجه، غلظت گلوکز خون افزایش می یابد، مصرف سلولی گلوکز به طور متزایدی به مقادیر پایین سقوط میکند، و مصرف چربیها و پروتئینها افزایش می یابد. دیابت نوع I معلول فقدان تولید انسولین توسط سلولهای بتای لوزالمعده است(۵). آسیب سلولهای بتای لوزالمعده یا بیماریهایی که تولید انسولین را مختل می کنند می توانند منجر به این نوع دیابت شوند. عفونتهای ویروسی یا اختلالات خود ایمنی ممکن است در انهدام سلولهای بتا در بسیاری از بیماران مبتلا به دیابت نوع I دخالت داشته باشند اگر چه توارث نیز نقش عمده ای در تعیین مستعد بودن سلولهای بتا برای انهدام توسط این عوامل مهاجم بازی می کند. در بعضی موارد، ممکن است یک تمایل ارثی برای دژنراسیون سلولهای بتا حتی بدون هرگونه عفونت یا بیماری خودایمنی وجود داشته باشد. شروع معمولی دیابت نوع I در حدود سن چهارده سالگی به وجود می آید و به این دلیل غالباً دیابت قندی نوجوانی نامیده میشود(۶). دیابت نوع I ممکن است به طور بسیار ناگهانی یادر طی مرحله چند روزه یا چند هفته باسه عارضه اصلی: افزایش بسیار بالای قند خون به میزان ۱۲۰۰-۳۰۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر، دفع گلوکز در ادرار و دزیدراتاسیون ظاهر شود. عوارض بلند مدت دیابت شیرین وابسته به انسولین مشکل بزرگی برای حفظ سلامتی شده است و امروزه مشخص شده که کنترل عوارض ناشی از هومئوستازی نامناسب قند خون با تزریق انسولین امکانپذیر است. با این حال کنترل دقیق آن بوسیله تزریق انسولین مشکل است. علائم قطع ترشح انسولین در موش های صحرانی که بطور شیمیایی با استرپتوزوتوسین دیابتیک شده اند می تواند بوسیله پیوند رفع شود(۷). این پیوندها شامل پیوند تمام پانکراس و پیوند اجزای پانکراس می باشد، پیوند اجزای پانکراس به صورت ترانس پلانتیشن بسیار آسانتر از پیوند کل پانکراس انجام می شود. پیوند اجزای پانکراس می تواند به یکی از صور زیر باشد: ۱- پیوند جزایر لانگرهانس تفکیک شده ۲- پیوند توده سلولهای جزایر لانگرهانس ۳- پیوند بافتهای

جنینی ۴- پیوند بافتهای نوزادی که با موفقیت در محللهای مختلف مانند کبد، مغز، صفاق، کلیه ها، طحال، بیضه ها و زیر پوست انجام شده است ولی پیوند جزایر لانگرهانس پانکراس به عنوان راه حل منطقی برای درمان این بیماران هنوز مورد بحث است(۸). پیوند سلول های جزایر لانگرهانس راهی جدید و نوپا برای علاج دیابت می باشد. استاندارد و بهینه نمودن شرایط جداسازی و تخلیص سلول های جزایر لانگرهانس یکی از مهمترین مراحل پیوند است. تنها پس از دستیابی و تثبیت چنین روشی است که محققین خواهند توانست مطالعاتی برای رفع مشکلات پیوند انجام دهند. عواملی از قبیل تعداد سلول های کاشته شده، گنجایش عملکرد محیط جدید و اندازه دستجات سلولی در کنترل نسبی سوخت و ساز پس از پیوند موثر می باشد(۹).

این مطالعه با هدف پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس در گروهی از نمونه های دیابتی به قسمت زیر پوست بیضه ها و در گروه دیگریه داخل فضای صفاقی و بازگشت سطح گلوکز خون به دامنه طبیعی بررسی گردیده است.

روش کار:

این مطالعه از نوع تجربی می باشد. مواد: کلاژناز، تریپسین کریستالی، پانکراس گاوی ، ۲-۴-۲- هیدروکسی اتیل- پیرازینیل- (۱)- اتان سولفونیک اسید (HEPES) ، سیلیکون و سرم آلبومین گاوی فاکتور پنج از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. پرکول یک محلول تجاری از ذرات سیلیکون است که با پلی وینیل پیرولیدون پوشانیده شده است. سیلیکون پوشیده شده با پلی وینیل پیرولیدون برای جداسازی سلولها به صورت استریل شده می باشد. وزانوسار یا استرپتوزوتوسین که از شرکت فارماسیای سوئد تهیه شد. اتیلن - گلیکول بیس (بتا-آمینواتیل- اتر)-N',N',N,N- تتراستیک اسید از محصولات سیگما می باشد.

محیط ها: تمامی محیط ها توسط فیلترهای ۰/۲۲ میکرومتر استریل گشته و مواد اتوکلاو شدند یا به صورت مواد استریل یکبار مصرف خریداری گردیدند. ظروف شیشه ای مورد استفاده جهت جمع کردن سلولهای جزایر لانگرهانس با سیلیکون سیلیکونیزه شدند. پوشش سیلیکونی دادن شامل ۳۰ دقیقه انکوباسیون ظروف مورد استفاده با محلول استریل سیلیکون 10µgr/ml بعد از شستشو با آب مقطر می باشد. عمل جداسازی جزیره و

جمع آوری شدند و در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و پس از جدا کردن لخته با انجام سانتریفوژ سرم جداسازی گردید.

میزان گلوکز خون به روش گلوکز اکسیداز و انسولین و C-پپتید سرم به روش بتاکانت سنجش شد. این مرحله از کار هر ۲-۴ هفته یکبار در موشهای صحرایی دیابتی و پیوندی و همچنین در کنترلهای آنها انجام گرفت.

فلوسایتومتری: هدف ما از انجام فلوسایتومتری دستیابی به اطلاعاتی در مورد هموژنیسیته سلولهای بتا و درصد هموژنیسیته این سلولها در سوسپانسیون سلولی به دست آمده در پایان عمل تخلیص سلولهای جزایر لانگرهانس بود. تا به این ترتیب درصد سلولهای بتا در سوسپانسیون پیوندی معین گردد. با توجه به تفاوت قابل ملاحظه در اندازه انواع سلولهای جزایر لانگرهانس می توان نمونه محلول سوسپانسیون سلولی را به سیستم فلوسایتومتر تزریق نمود و گراف مربوطه را که مشخص کننده انواع سلولها و درصد آنها در سوسپانسیون می باشد تهیه کرد (۱۱، ۱۲).

پیوند سلولهای بتای جزایر لانگرهانس: پیوند سلولهای تخلیص شده جزایر لانگرهانس به موشهای صحرایی دیابتی تحریک شده با STZ در گروهی از نمونه های دیابتی به قسمت زیر پوست بیضه ها و در گروه دیگر به داخل فضای صفاقی صورت گرفت. پیوند سوسپانسیون سلولی در سرم فیزیولوژیک با استفاده از سوزن شماره ۲۰ به محل های مورد نظر در هر موش صحرایی بیمار انجام شد.

بافت برداری و بافت شناسی: دو ماه بعد از انجام پیوند محلهای انجام پیوند جهت شناسایی سلول های جزایر لانگرهانس رشد یافته در گیرنده پیوندکالبد شکافی شد. به این منظور بیضه موش های صحرایی دریافت کننده پیوند برداشته شد و در بافر فرمالین ۱۰٪ تثبیت و برای بررسی میکروسکوپی به بخش میکروسکوپ الکترونیکی تحویل داده شد. پس از قالب باپارافین برشهای نازک بافتی به ضخامت ۳ میکرونی آماده گردید. رنگ آمیزی بوسیله رنگ همتوکسیلین و ائوزین جهت تشخیص جزایر پیوند شده انجام شد (تصویر ۱ با میکروسکوپ Leitz).

تخلیص سلول در محیط بافری EH که شامل اجزای زیر می باشد صورت گرفت:

123 mM NaCl , 1.8 mM CaCl₂ , 0.8 mM MgSO₄
5.4 mM KCl , 1.0 mM NaH₂PO₄
4.2 mM NaHCO₃ , 2.8 mM Glucose
10 mM HEPS

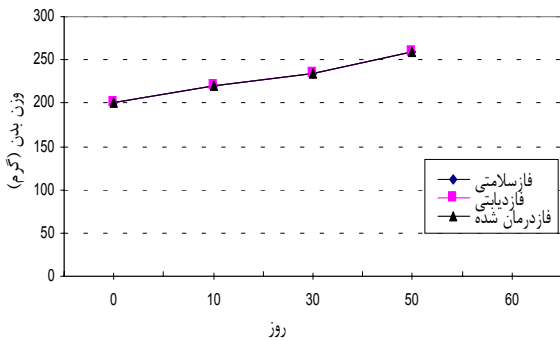
محیط با محلولهای ۲/۵٪ و ۵٪ از سرم آلبومین گاوی فراکشن V تکمیل شد و با CO₂ ۵٪ در دمای اتاق ، pH آن به ۷/۳ کنترل شد و حجم نهائی به یک لیتر رسانده شد.

حیوانات مورد استفاده: بافت دهنده در هر مرحله کاری از شش سر موش های صحرایی ویستار نر بالغ با وزن ۲۵۰-۳۰۰ gr (۷۵-۹۰ روزه) تأمین شد. پیوند در رانهایی که ۲-۴ هفته قبل از پیوند توسط تزریق ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) بصورت داخل رگی مبتلا به دیابت شده بودند صورت گرفت. STZ ظرف سه روز با از بین بردن سلول های بتا دیابت را القا می کند. حیوانات پیوندی و کنترلهای دیابتی و غیر دیابتی در قفسهای متابولیکی (metabolic cages) به صورت انفرادی و جداگانه نگهداری شدند و از نظر تغذیه ای و متابولیسمی تحت کنترل بودند. میزان مصرف غذا (gr)، آب (ml) و حجم ادرار (ml) بطور روزانه اندازه گیری و همچنین هر ۲-۴ هفته سطح C-پپتید، انسولین و گلوکز سرم خون اندازه گیری شد تا دیابت شیمیایی در موش های صحرایی که متحمل تزریق استرپتوزوتوسین شده اند و انسولین آنها به حداقل رسیده مسلم گردد و نیز علائم بهبودی در موش های صحرایی پیوند شده ثابت شود.

جداسازی جزایر لانگرهانس و آماده سازی: جزایر لانگرهانس پانکراس با روش اصلاح شده هضم کلاژنازی از موشهای صحرایی دهنده پیوند جدا شدند. در ادامه روش سلولها به واحدهای تک تبدیل شدند. در نهایت سوسپانسیون سلولی در سرم فیزیولوژیک محلول گردید (۹-۱۱).

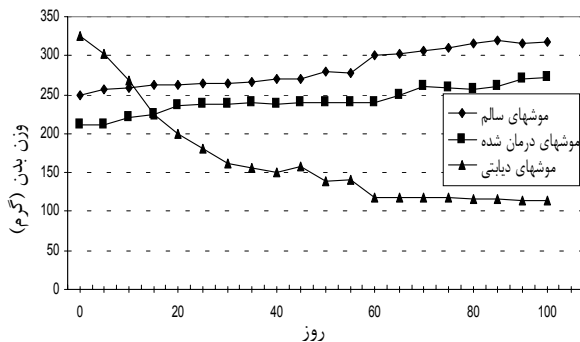
اندازه گیری گلوکز، انسولین و C-پپتید خون: موشهای صحرایی نرمال، دیابتی و پیوندی با اتر بی هوش شدند (دو دقیقه تماس با اتر هیچ تأثیری بر روی غلظتهای گلوکز، انسولین و C-پپتید سرم ندارد). از موش های صحرایی جهت اندازه گیری میزان قند، انسولین و C-پپتید هر بار ۱/۵ میلی لیتر خونگیری شد. خونگیری از قلب انجام گرفته و نمونه ها در لوله های استریل

در سه مرحله سلامتی، دیابتی و درمان شده نشان میدهد.

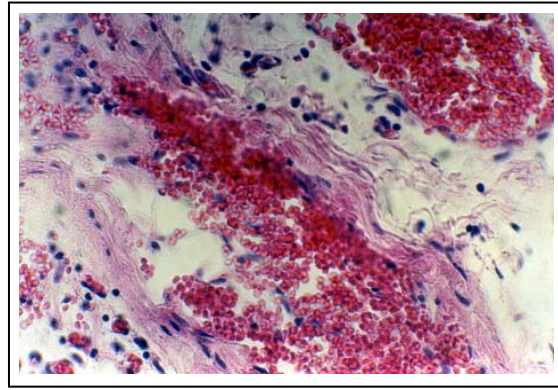


نمودار ۱: منحنی میانگین تغییرات پیوسته وزن بدن، ۸ موش صحرائی نابالغ در سه مرحله، دیابتی و درمان شده

ولی در موش های صحرائی بالغ، دیابت با کاهش وزن همراه است. ۲ الی ۴ هفته بعد از القاء دیابت و مشاهده عوارض آن ترانس پلاتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس تخلیص شده به روش کلاژناز با ۹۱٪ سلول بتا در سوسپانسیون سلولی جهت درمان دیابت صورت گرفت. نمودار ۲ مقایسه منحنی های مربوط به میانگین تغییرات وزن بدن در سه گروه موش صحرائی سالم، دیابتی و پیوند شده؛ از دست دادن وزن بدن و لاغری در اثر تیمار استرپتوزوتوسین برای القای دیابت در موشهای صحرائی بالغ و برطرف شدن آن در اثر پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس پانکراس در این نمودار نشان داده شده است که با تجزیه و تحلیل آماری مقدار میانگین خطای استاندارد آن برابر با ۸/۱۹ و $F = ۴۰/۸۷$ ؛ $d.f = ۲, ۵۷$ ؛ $p < ۰/۰۰۱$ است که کاهش وزن موشهای بالغ دیابتی را به خوبی نشان می دهد.



نمودار ۲: مقایسه منحنی های مربوط به میانگین تغییرات وزن بدن در سه گروه موش صحرائی سالم، دیابتی و پیوند شده؛ از دست دادن وزن بدن و لاغری در اثر تیمار استرپتوزوتوسین برای القای دیابت در موشهای صحرائی بالغ و برطرف شدن آن در اثر پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس پانکراس در این نمودار نشان داده شده است



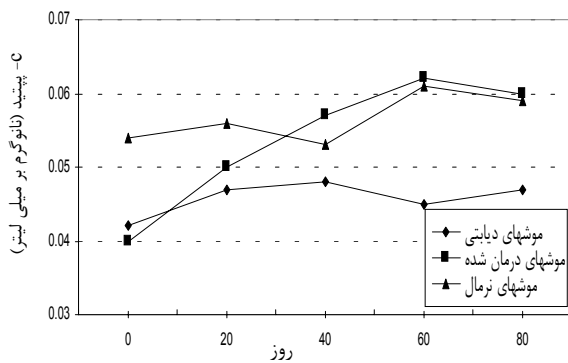
تصویر ۱: سلولهای جزایر لانگرهانس ترانس پلانت شده موجود در زیر پوست بیضه موش صحرائی دیابتی که از طریق ترانس پلاتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس بهبود یافته بود. بزرگنمایی (×۴۰۰۰)

آنالیز آماری: اطلاعات بدست آمده با نرم افزار SPSS.12 و آزمون آماری ANOVA تجزیه و تحلیل گردید.

نتایج:

سطح نرمال گلوکز، انسولین و c-پپتید خون در موشهای صحرائی سالم و بالغ به ترتیب برابر $۴/۹۶ \pm ۱۳۴/۶$ mg/dl ، $۰/۱۹ \pm ۲/۱$ MIU/L و $۰/۰۳ \pm ۰/۰۵۶$ ng/ml به دست آمد همچنین میزان مصرف روزانه آب و غذا در موش های صحرائی سالم و بالغ به ترتیب برابر ۳۰ ± ۵ cc و ۱۰ ± ۲ gr بود، حجم ادرار روزانه در موش های صحرائی سالم و بالغ ۱۰ ± ۱ cc اندازه گیری شده است. سطح گلوکز، انسولین و c-پپتید خون در موش های صحرائی دیابتی به ترتیب $۱۹/۶۱ \pm ۵۰۰$ mg/dl ، $۱۷ \pm ۱/۵$ MIU/L و $۰/۰۲ \pm ۰/۰۴۵$ ng/ml به دست آمد و همچنین میزان مصرف روزانه آب و غذا در آنها به ترتیب برابر ۱۴۵ ± ۵ cc و ۴ ± ۴ gr بود، حجم ادرار روزانه در موشهای صحرائی دیابتی ۱۳۰ ± ۵ cc اندازه گیری شده است. تغییرات وزن در موش های صحرائی دیابتی بالغ و نابالغ متفاوت است. از آنجایی که موشهای نابالغ در دوران رشد هستند کاهش وزن در اثر دیابتی شدن در آنها دیده نمی شود و حتی به طور ناچیزی افزایش وزن نشان می دهند. نمودار ۱ منحنی میانگین تغییرات پیوسته وزن بدن، ۸ موش صحرائی نابالغ در سه مرحله سلامتی، دیابتی و درمان شده، که مقدار میانگین خطای استاندارد (S.E.M.) آن برابر با $۱۲/۶۴$ است و افزایش ناچیز وزن موشهای نابالغ را

نمودار ۵ منحنی های تغییرات میانگین سطح C- پپتید سرم خون، ۱۹ موش صحرایی دیابتی، درمان شده بوسیله پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس و نرمال در طول ۸۰ روز را نشان میدهد که مقدار میانگین خطای استاندارد آن برابر با $F = ۴/۸۵$ ؛ $df = ۲, ۱۲$ ؛ $p < ۰/۰۲۹$ است. همچنین میزان مصرف روزانه آب و غذا به حد نسبتاً نرمال ۴۰ ± ۵ و ۳۰ ± ۵ گرم رسید و حجم ادرار روزانه در موشهای صحرایی درمان شده ۳۵ ± ۵ اندازه گیری شد.

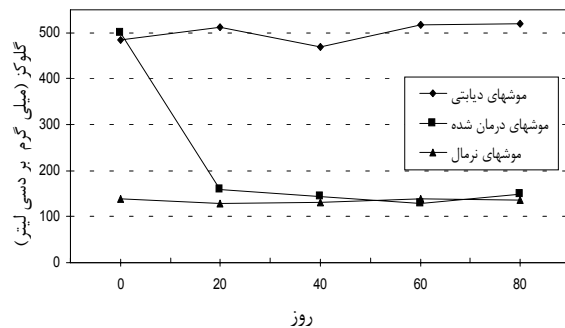


نمودار ۵: منحنی های تغییرات میانگین سطح C- پپتید سرم خون، ۱۹ موش صحرایی دیابتی، درمان شده بوسیله پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس نرمال و در طول ۸۰ روز

بحث:

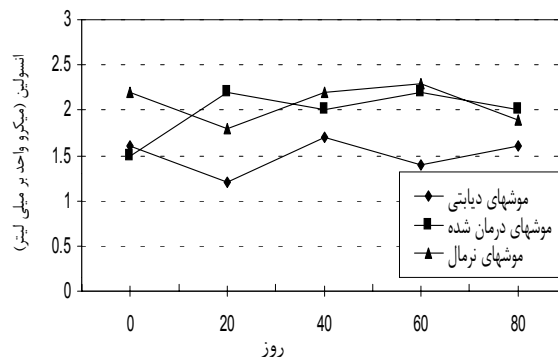
با پیوند سوسپانسیون سلولی به دست آمده انتظار می رفت در اثر ترشح انسولین بوسیله سلول های بتای ترانس پلانت شده سطح گلوکز سرم خون تا دامنه طبیعی و سالم پائین آید و میزان انسولین و C- پپتید پلاسما بالا رود و همچنین تظاهرات بالینی بیماری مثل پلی اوری، پلی فاژی و پلی دیپسی برطرف گردد که البته همگی این موارد بلافاصله روز بعد از انجام ترانس پلانتیشن به طور کاملاً واضحی مشاهده گردید (۱۲). نکته قابل توجه در این پژوهش عدم استفاده از موشهای صحرایی اینبرد (Inbred) به عنوان گیرنده و دهنده پیوند بود که علیرغم این مسئله هیچگونه علامتی دال بر پس زده شدن پیوند دیده نشد (۱۳). برای توضیح این مسئله باید گفت پدیده ایمنوایزوله نمودن در اثر ترانس پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس، در یک فضای قرنطینه از نظر ایمنی، مانع از دستیابی سلولهای ایمنی به سلولهای ترانس پلانت شده خارجی و پس زده شدن پیوند شد (۱۴). ترانس پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس در واقع عموماً جهت درمان

با انجام این عمل علائم بهبودی به مرور در این موشهای صحرایی مشاهده شد، به طوری که سطح گلوکز، انسولین و C- پپتید خون در موش های صحرایی پیوند شده به ترتیب $۱۱/۲ \pm ۱۴۵$ mg/dl و $۰/۲۵ \pm ۱/۹۸$ MIU/L و $۰/۰۵۳ \pm ۰/۰۰۸$ ng/ml به دست آمد. نمودار ۳ منحنیهای تغییرات میانگین سطح گلوکز سرم خون، ۱۹ موش صحرایی دیابتی، درمان شده بوسیله پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس و نرمال در طول ۸۰ روز را نشان میدهد که مقدار میانگین خطای استاندارد آن برابر با $F = ۹۰۳/۱۸$ ؛ $df = ۲, ۱۱$ ؛ $p < ۰/۰۰۱$ است. که داده موفقیت طرح پیوند را نشان میدهد.



نمودار ۳: منحنی های تغییرات میانگین سطح گلوکز سرم خون، ۱۹ موش صحرایی دیابتی، درمان شده بوسیله پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس نرمال و در طول ۸۰ روز

نمودار ۴ منحنی های تغییرات میانگین سطح انسولین سرم خون، ۱۹ موش صحرایی دیابتی، درمان شده بوسیله پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس و نرمال در طول ۸۰ روز را نشان میدهد که مقدار میانگین خطای استاندارد آن برابر با $F = ۸/۵۳$ ؛ $df = ۲, ۱۲$ ؛ $p < ۰/۰۰۵$ است.



نمودار ۴: منحنی های تغییرات میانگین سطح انسولین سرم خون، ۱۹ موش صحرایی دیابتی، درمان شده بوسیله پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس نرمال و در طول ۸۰ روز

لانگرهانس ترانس پلانت شده را با موفقیت نشان میدهد، یعنی در یک فضای قرنطینه از نظر ایمنی، مانع از دست یابی سلولهای ایمنی به سلولهای ترانس پلانت شده خارجی و مانع پس زده شدن پیوند می شود و صددرصد با ترشح انسولین از سلولهای جزایر لانگرهانس ترانس پلانت شده در زیر پوست بیضه، موش ها میگردد. در این روش حدود ۵۰۰۰ جزیره برای هرکیلو وزن بدن موش موردنیاز است. این روش بعلت ساده و قابل دسترس بودنش قابل اهمیت میباشد. در واقع با تخلیص پانکراس یک موش صحرایی نرمال بالغ میتوان پیوند موفق رابه یک موش صحرایی دیابتی انجام داد. در حالی که در بافت زیر پوست بیضه موشهای صحرایی نرمال و دیابتی هیچ گونه تغییراتی دیده نمیشود. درمورد روش تزریق داخل فضای صفاقی درحال بررسی هستیم. از لحاظ داده های آماری "F, d.f., P, غذا، آب، ادرار، وزن بدن و S.E.M." در همه گروه آزمایش، موفقیت آمیزبودن القاء دیابت ودرمان آنرا با پیوند جزایر لانگرهانس در موشهای صحرایی درمقایسه داده های رفرانس های (۱،۳،۴) در مدت ۸۰ روز را نشان می دهد. داده های آماری حاصل از کار ما در مقایسه باکار لانزا، پای پلرز و گری قابل قبول و دقیقتر می باشد.

منابع:

1. Lanza RP, Ecker DM, Kuhlreiber WM, Marsh JP, Ringeling J, Chink WL. Transplantation of islets using micro encapsulation: studies in diabetic rodents and dogs. *J Mol Med* 1999; 77 (1): 206-210.
2. Boker A, Rothenberg L, Hernandez C, Kenyon N.S, Ricordi C, Alejandro R. Human islet transplantation update. *World J Surg* 2001; 25: 481-486.
3. Gray DWR, Morris PJ. Developments in isolated pancreatic islet transplantation. *Transplantation* 1987; 43 (3): 321-331.
4. Pipellers DG, Pipeleers MM, Vanbrabant B, Duys AS. Transplantation of purified islet cells in diabetic rats. *Diabetes* 1991; 40: 920-930.
5. Yasumizu R, Sugiura K, Iwai H, Inaba M, Makino S, Ida T. Treatment of type 1 diabetes mellitus in non-obese diabetic mice by transplantation of allogeneic bone marrow and pancreatic tissue. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84: 6555-6557.

نوعی از دیابت که ناشی از تخریب خود ایمنی سلولهای بتای این جزایر است بکار می رود، باتوجه به این مسئله همانطور که انتظارمی رود این روند خود ایمنی نسبت به سلولهای بتای ترانس پلانت شده نیز ادامه دارد، در این پژوهش با انجام ترانس پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس پانکراس در قسمت هایی از بدن، با موفقیت خاص ایمونایزوله خطر تخریب سلولهای بتای ترانس پلانت شده توسط روند خود ایمنی در دریافت کننده پیوند کاملاً رفع گردید(۱۵). تکنیک ترانس پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس به صورت داخل کیسولی در غیاب مهار کننده های ایمونولوژیکی برای حمایت بافت پیوند شده در مقابل سیستم ایمنی گیرنده پیوند (میزبان) راهی تازه برای موفقیت در این مسیر می باشد(۱۶). طبق این پروسه جزایر می توانند در یک غشاء نیمه تراوا احاطه شوند که اجازه رسیدن غذا و اکسیژن را به جزایر لانگرهانس و همچنین رها شدن انسولین را به درون جریان خون می دهد و همزمان باعث ایجاد سد مکانیکی جداکننده سلولهای ایمنی بالقوه مخرب و آنتی بادیها از سلولهای جزایر و پس زده شدن پیوند می گردد(۱۷). داده های آماری F, d.f., P, غذا، آب، ادرار، وزن بدن و S.E.M., در همه گروه آزمایش، در مقایسه با نتایج کار لانزا، پای پلرز و گری (۱،۳،۴) موفقیت آمیزبودن پیوند جزایر لانگرهانس در موشهای صحرایی نسبت به کارهای ایشان را نشان میدهد.

نتیجه نهایی:

جزایر لانگرهانس ۱-۲٪ وزن پانکراس را تشکیل میدهد. قطر آنها ۰/۲-۰/۵ میلی متر است. تعداد جزایر لانگرهانس قابل جداکردن ۳۶۰۰۰۰ جزیره است. هر جزیره چند هزار سلول دارد. در روش انفوزیون جزایر از طریق ورید پورت به داخل کبد و تکثیر جزایر در آنجا و برگرداندن آنها بطور پشتیبانی (back-up) حدود ۹۰۰۰ جزیره لانگرهانس بر هر کیلو وزن بدن موش لازم است. بعبارتی برای موش ۲۵۰ گرمی حدود ۲۵۰۰ جزیره لازم است. ثانیاً در این روش غیر از نیاز بیشتر به جزایر مسئله عمده سیستم کمپلکس سازگاری HLA بافتی اصلی درگیرنده و دهنده جزایر است که در این مورد درحال بررسی هستیم. ثالثاً این روش روش گران و برای همه قابل دسترس نیست. اما در روش ترانس پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس در زیر پوست بیضه رتهای دیابتی (تصویر ۱) سلولهای جزایر

6. Ikebukuro K, Adachi Y, Yamada Y, Fujimoto S, Seino Y, Oyaizu H, et al. Treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus by transplantation of islet cells plus bone marrow cells via portal vein in rats. *Transplantation* 2002;73(4):512-518.
7. Rastellini C, Shapiro R, Corry R, Fung JJ, Starzl TE, Rao AS. An attempt to reverse diabetes by delayed islet cell transplantation in humans. *Transplantation proceedings* 1997; 29: 2238-2239.
8. Scharp DW, Lacy PE, Santiago JV, McCullough CS, Weide LG, Boyle PJ. Results of our First nine intraportal islet allografts in type 1, insulin-dependent diabetic patients. *Transplantation* 1991; 51 (1): 76-85.
9. Garcia-Ocana A. Using β -cell growth factors to enhance human pancreatic islet transplantation. *J Clin Endocrinol Metabol* 2004; 86 (3): 984-988.
10. Keymeulen B. Length of metabolic normalization after rat islet cell transplantation depends on endocrine cell Composition of graft and on donor age. *Diabetologia* 1997; 40: 1152-1158.
11. Lacy PE, Kostianovsky M, Louis St. Method for the isolation of intact islets of langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 1967; 16: 35-39.
12. Pipellers DG. A new in vitro model for the study of pancreatic A and B cells. *Endocrinol Soc* 1985;117(3): 806-816.
13. Titus T, Badet L, Gray DWR. Islet cell transplantation for insulin-dependant diabetes mellitus: perspectives from the present and prospects for the future. *Expert Reviews in Molecular Medicine://www. Expert reviews. Org/ Accession information: (00) 00186-1h. htm (Short code: txt 001 dgo); 6 Sep 2000: 1-27.*
14. Sutherland DER. Pancreas transplantation for treatment of diabetes mellitus. *World J Surg* 2001; 25: 487-496.
15. Lenza RP. Transplantation of islets using micro encapsulation, *J Mol Med* 1999; 77: 206-210.
16. Thomas FT. Reversal of naturally occurring diabetes in primates by unmodified islet xenografts without chronic immunosuppression. *Transplantation* 1999; 67(6): 846 – 854.
17. Titus T, Badet L, Gray DWR. Islet cell Transplantation for diabetes-perspectives from the present and prospects for the future. *//www.jr2.ox.ac.uk/ nds/ isletxrv/ 2004: 1-24.*