مقاله پژوهشی

درمان دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین به وسیله قرنطینه ایمنی سلولهای جزایر لانگرهانس از طریق پیوند درموشهای 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 القاءِ 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 صحرائی ویستار نر بالغ با وزن gr ۲۵۰-۳۰۰ (۹۰-۷۵ روزه) تأمین شد . پیوند در راتهایی که ٤-۲ هفته قبل از پیوند توسط تزریق ۶۰mg/kg استرپتوزوتوسین بصورت داخل رگی (Intravenous) مبتلا به دیابت شده بودند صورت گرفت. تکنیک پیوند سلولهای جزایرلانگرهانس به صورت داخل کپسولی (Encapsulation) در غیاب مهار کننده‌های ایمنولوژیکی برای حمایت بافت پیوند شده در مقابل سیستم ایمنی گیرنده پیوند (میزبان) راهی تازه برای موفقیت در این مسیر می‌باشد.

نتایج: طبق این پروسه جزایر می‌توانند در یک غشاءِ 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 می‌دهد و همزمان باعث ایجاد سد مکانیکی جداکننده سلولهای ایمنی بالقوه مخرب و آنتی بادیها از سلولهای جزایر و پس زده شدن پیوند می‌گردد.

نتیجه نهائی : پیوند سلولهای جزایرلانگرهانس خالص شده به زیر پوست بیضه و یا به داخل فضای صفاقی ,که یک پیوند ایمنوایزوله طبیعی می باشد بصورت پایدار وبه سرعت حالت دیابتی را کنترل می کند.

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

مقدمه :

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

* 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" نام برده می شود. در هر دو نوع دیابت قندی متابولیسم تمام مواد غذایی دچار تغییرمی شوند. اثرپایه 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، ومصرف 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 نوعI 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 وبه این دلیل غالباً دیابت قندی نوجوانی نامیده مشود(۶). دیابت نوع I ممکن است به طور بسیار ناگهانی یادر طی مرحلهٔ چند روزه یا چند هفته باسه عارضهٔ اصلی: افزایش بسیار بالای قند خون به میزان ۱۲۰۰-۳۰۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر، دفع گلوکز در ادرار ودزیدراتاسیون 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 صحرائی 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 جزایرلانگرهانس تفکیک شده ۲- پیوند توده سلولهای جزایرلانگرهانس ۳- پیوند بافتهای جنینی ۴- پیوند بافتهای نوزادی که با موفقیت در محلهای 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 دیگربه 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 ، Dnase پانکراس گاوی ، ۲-(۴-۲- هیدروکسی اتیل)- پیرازینیل- (۱)- اتان سولفونیک اسید (HEPES) ، سیلیکون و سرم آلبومین گاوی فاکتور پنج ازشرکت 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′ - تترااستیک 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 مورداستفاده جهت جمع کردن سلولهای جزایر لانگرهانس با سیلیکون سیلیکونیزه شدند. پوشش سیلیکونی دادن شامل ۳۰ دقیقه انکوباسیون ظروف مورد استفاده با محلول استریل سیلیکون10μgr/mlبعد از شستشو با آب مقطر می باشد. عمل جداسازی جزیره و

تخلیص سلول در محیط بافری EH که شامل اجـزای زیـر می باشد صورت گرفت:

123 mM NaCl , 1.8 mM $CaCl_2$, 0.8 mM $MgSO_4$
5.4 mM KCl , 1.0 mM NaH_2PO_4
4.2 mM $NaHCO_3$, 2.8 mM Glucose
10 mM HEPS

محـیط بامحلولهـای ۲/۵٪ و۵٪ از سـرم آلبـومین گـاوی فراکشنV تکمیل شد و با CO_2 ۵٪در دمای اتاق ، pH آن به ۷/۳ کنترل شد و حجم نهائی به یک لیتر رسانده شد.

حیوانات مورداستفاده : بافت دهنده در هر مرحلـه کـاری از شش سـر مـوش هـای صـحرائی ویسـتار نـر بـالغ بـا وزن gr ۳۰۰-۲۵۰ (۹۰-۷۵ روزه) تأمین شد. پیوند در راتهایی کـه ۴-۲ هفتـه قبـل از پیونـد توسـط تزریـق ۶۰mg/kg استرپتوزوتوسـین(STZ) بصـورت داخـل رگـی مبـتلا بـه دیابت شده بودند صورت گرفت. STZ ظرف سـه روز بـا از بین بردن سلول های بتا دیابت را القا مـی کنـد. حیوانـات پیوندی و کنترلهـای دیـابتی و غیـر دیـابتی در قفسـهای متـابولیکی (metabolic cages) بـه صـورت انفـرادی و جداگانه نگهداری شدند و از نظر تغذیه ای و متابولیسـمی تحت کنترل بودند. میزان مصرف غذا (gr)،آب(ml) وحجم ادرار(ml) بطور روزانه اندازه گیری وهمچنـین هـر ۴-۲ هفتـه سـطح c- پپتیـد، انسـولین و گلـوکز سـرم خـون اندازه گیری شد تا دیابت شیمیایی در موش های صحرائی که متحمل تزریق استرپتوزوتوسین شـده انـد و انسـولین آنها به حداقل رسیده مسلم گردد و نیز علائم بهبـودی در موش های صحرائی پیوند شده ثابت شود.

جداسازی جزایر لانگرهانس وآماده سازی : جزایر لانگرهـانس پـانکراس بـا روش اصـلاح شـده هضـم کلاژنـازی از موشهای صحرائی دهنده پیوند جدا شدند . در ادامـه روش سـلولها بـه واحـدهای تـک تبـدیل شـدند. در نهایـت سوسپانسـیون سـلولی در سـرم فیزیولوژیـک محلـول گردید(۱۱-۹) .

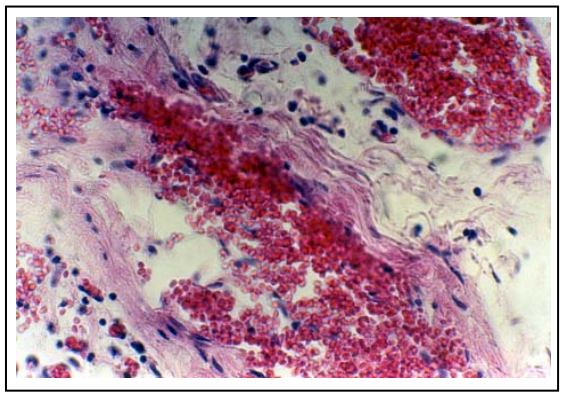
اندازه گیـری گلوکز،انسـولین وc- پپتیـد خـون : موشـهای صـحرائی نرمـال ، دیـابتی و پیونـدی بـا اتـر بـی هـوش شدند.(دو دقیقه تماس با اتر هیچ تأثیری بر روی غلظتهای گلوکز، انسولین و c- پپتیـد سـرم نـدارد). از مـوش هـای صحرائی جهت انـدازه گیـری میـزان قنـد، انسـولین و c- پپتید هر بار ۱/۵ میلی لیتـر خـونگیری شـد.خـونگیری از قلب انجام گرفته و نمونه ها در لوله های استریـــــــــل جمع آوری شدند و در۴ درجه سانتیگراد نگهداری و پس از جدا کردن لخته بـا انجـام سـانتریفوژ سـرم جداسـازی گردید.

میزان گلوکز خون به روش گلوکز اکسیداز و انسولین و c- پپتید سرم به روش بتاکانتر سنجش شد. این مرحلـه از کـار هـر ۴-۲ هفتـه یکبـار در موشـهای صـحرائی دیـابتی و پیونـدی و همچنـین در کنترلهـای آنهـا انجـام گرفت.

فلوسایتومتری : هدف ما از انجام فلوسایتومتری دستیابی به اطلاعـاتی در مـورد هموژنیسـیته سـلولهای بتـا و درصـد هموژنیسـیته ایـن سـلولها در سوسپانسـیون سـلولی بـه دسـت آمـده در پایـان عمـل تخلـیص سـلولهای جزایـر لانگرهـــانس بـــود. تـــا بـــه ایـــن ترتیـــب درصـــد سـلولهای بتـا در سوسپانسـیون پیونـدی معـین گـردد. با توجه به تفاوت قابل ملاحظـه در انـدازه انـواع سـلولهای جزایـــر لانگرهـــانس مـــی تـــوان نمونـــه محلـــول سوسپانسیون سلولی را به سیستم فلوسایتومتر تزریق نمود و گـراف مربوطـه را کـه مشـخص کننـده انـواع سـلولها و درصـــد آنهـــا در سوسپانســـیون مـــی باشـــد تهیـــه کرد(۱۱،۱۲).

پیوند سلولهای بتـای جزایـر لانگرهـانس : پیونـد سـلولهای تخلیص شـده جزایـر لانگرهـانس بـه موشـهای صـحرائی دیابتی تحریـک شـده بـا STZ درگروهـی از نمونـه هـای دیابتی به قسمت زیر پوست بیضه ها و در گـروه دیگـر بـه داخل فضای صفاقی صـورت گرفـت. پیونـد سوسپانسـیون سلولی در سرم فیزیولوژیک با استفاده از سوزن شماره ۲۰ به محل های مورد نظر در هر موش صحرائی بیمـار انجـام شد.

بافت برداری و بافت شناسـی : دو مـاه بعـد از انجـام پیونـد محلهای انجام پیوند جهت شناسـایی سـلول هـای جزایـر لانگرهانس رشد یافته در گیرنده پیوندکالبد شـکافی شـد. به این منظور بیضه موش هـای صـحرائی دریافـت کننـده پیونـد برداشـته شـد و در بـافر فرمـالین ۱۰٪ تثبیـت و بـرای بررسـی میکروسـکوپی بـه بخـش میکروسـکوپ الکترونیکی تحویل داده شد.پس ازقالب باپارافین برشـهای نازک بافتی به ضـخامت ۳ میکرونـی آمـاده گردیـد. رنـگ آمیـزی بوسـیله رنـگ هماتوکسـیلین و ائـوزین جهـت تشـخیص جزایرپیونـد شـده انجـام شـد(تصـویر۱ بـا میکروسکوپ Leitz).

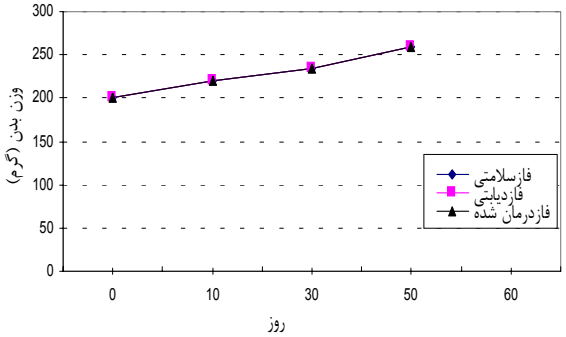


تصویر ۱ : سلولهای جزایر لانگرهانس ترانس پلانت شده موجود در زیر پوست بیضه موش صحرایی دیابتی که از طریق ترانس پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس بهبود یافته بود. بزرگنمائی (۴۰۰۰×)

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

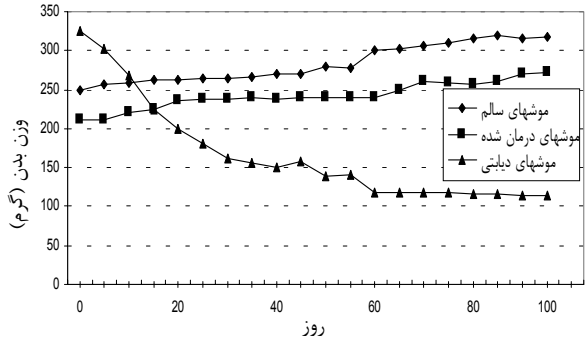
نتایج :

سطح نرمال گلوکز، انسولین و c- پپتید خون در موشهای صحرائی سالم و بالغ به ترتیب برابر ۴/۹۶ mg/dl ±۱۳۴/۶ ، MIU/L ۰/۱۹±۲/۱ و ۰/۰۰۳ ng/ml ±۰/۰۵۶ به دست آمد همچنین میزان مصرف روزانه آب و غذا در موش های صحرائی سالم و بالغ به ترتیب برابر ۵ cc ±۳۰ و ۲ gr ±۱۰ بود، حجم ادرار روزانه در موش های صحرائی سالم و بالغ ۱cc ±۱۰ اندازه گیری شده است. سطح گلوکز، انسولین و c - پپتید خون در موش های صحرائی دیابتی به ترتیب ۱۹/۶۱mg/dl ±۵۰۰ ، MIU/L ۰/۱۷±۱/۵ و ۰/۰۰۲ ng/ml ±۰/۰۴۵ به دست آمد و همچنین میزان مصرف روزانه آب و غذا در آنها به ترتیب برابر ۵ cc ±۱۴۵ و ۴ gr ± ۴۵ بود، حجم ادرار روزانه در موشهای صحرائی دیابتی ۵cc±۱۳۰ 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. نمودار۱ منحنی میانگین تغییرات پیوسته وزن بدن، ۸موش صحرائی نابالغ درسه مرحله سلامتی،دیابتی و درمان شده،که مقدارمیانگین خطای استاندارد(S.E.M.) آن برابر با۱۲/۶۴ است و افزایش ناچیزوزن موشهای نابالغ را درسه مرحله سلامتی،دیابتی ودرمان شده نشان میدهد.



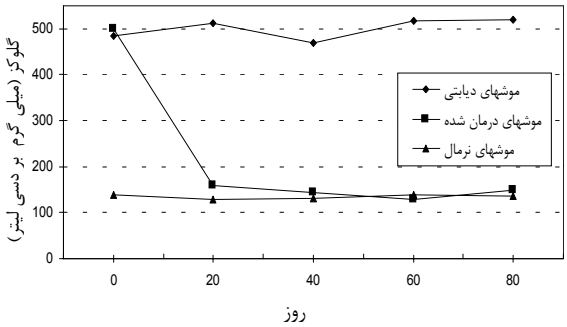
نمودار ۱ : منحنی میانگین تغییرات پیوسته وزن بدن ، ۸ موش صحرائی نابالغ در سه مرحله ، دیابتی و درمان شده

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 پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس تخلیص شده به روش کلاژناز با ۹۱٪ سلول بتا در سوسپانسیون سلولی جهت درمان دیابت صورت گرفت. نمودار۲ مقایسه منحنی های مربوط به میانگین تغییرات وزن بدن در سه گروه موش صحرایی سالم، دیابتی و پیوند شده ؛ از دست دادن وزن بدن و لاغری در اثر تیمار استرپتوزوتوسین برای القای دیابت در موشهای صحرایی 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 با۸/۱۹ و F = ۴۰/۸۷; d.f = ۲، ۵۷ ; p<۰/۰۰۱ است که کاهش وزن موشهای بالغ دیابتی را به خوبی نشان می دهد.



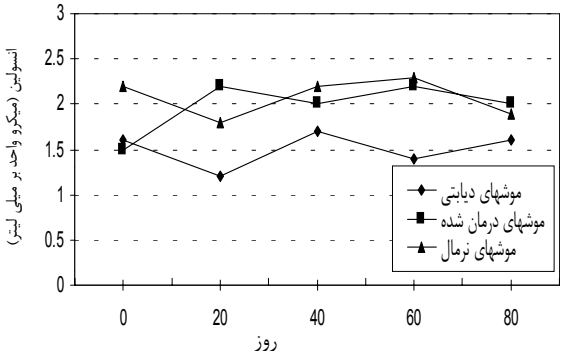
نمودار ۲ : مقایسه منحنی های مربوط به میانگین تغییرات وزن بدن در سه گروه موش صحرایی سالم، دیابتی و پیوند شده ؛ از دست دادن وزن بدن و لاغری در اثر تیمار استرپتوزوتوسین برای القای دیابت در موشهای صحرایی بالغ و برطرف شدن آن در اثر پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس پانکراس در این نمودار نشان داده شده است

با انجام این عمل علائم بهبودی به مرور در ایـن موشـهای صحرائی مشاهده شد، به طوری که سطح گلوکز، انسـولین و c- پپتید خون در موش های صـحرائی پیونـد شـده بـه ترتیـب mg/dl ۱۱/۲ ±۱۴۵ وMIU/L ۰/۲۵ ±۱/۹۸ و ng/ml ۰/۰۰۸ ±۰/۰۵۳ به دست آمد. نمودار۳ منحنیهـای تغییرات میانگین سطح گلوکز سرم خون، ۱۹موش صحرائی دیابتی، درمان شده بوسیله پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس و نرمال در طول ۸۰ روز را نشان میدهد که مقدار میانگین خطـای اسـتاندارد آن برابـر بـا ۴۸/۱; F= ۹۰۳/۱۸ ; p<۰/۰۰۱; df= ۲، ۱۱ است. که داده موفقیت طرح پیونـد را نشان میدهد.



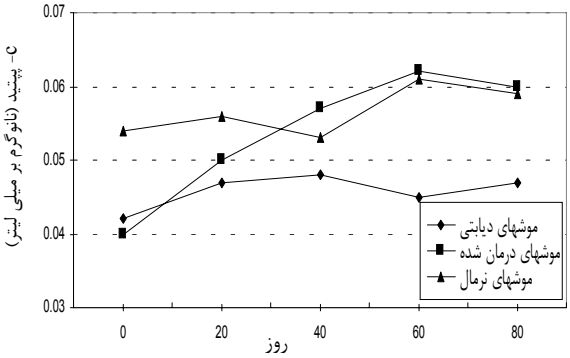
نمودار ۳ : منحنی های تغییرات میانگین سطح گلوکز سرم خون ، ۱۹ موش صحرایی دیابتی ، درمان شده بوسیله پیوند سلولهای جزایر لانگرهانس نرمال و در طول ۸۰ روز

نمودار ۴ منحنی های تغییرات میـانگین سـطح انسـولین سرم خون، ۱۹موش صحرائی دیابتی،درمان شـده بوسـیله پیوند سلولهای جزایرلانگرهانس ونرمال در طول ۸۰ روز را نشـان میدهـد کـه مقـدارمیانگین خطـای اسـتاندارد آن برابـر بـا۰/۰۸۸; 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

نمودار۵ منحنی های تغییرات میانگین سـطح C- پپتیـد سرم خون، ۱۹موش صحرائی دیابتی، درمان شده بوسـیله پیوند سلولهای جزایرلانگرهانس ونرمال در طول ۸۰ روز را نشان میدهد که کـه مقـدارمیانگین خطـای اسـتاندارد آن برابـر بـا۰/۰۰۲ ; F = ۴/۸۵ ; df = ۲، ۱۲; p< ۰/۰۲۹ است. همچنین میـزان مصـرف روزانـه آب و غـذا بـه حـد نسـبتا" نرمـال cc ۵±۴۰و ۵±۳۰گـرم رسـید و حجـم ادرار روزانه در موشهای صـحرائی درمـان شـده۵ cc ±۳۵ اندازه گیری شد.



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

بحث:

با پیوند سوسپانسیون سـلولی بـه دسـت آمـده انتظـار می رفت در اثر ترشح انسولین بوسـیله سـلول هـای بتـای ترانس پلانت شده سطح گلوکز سرم خون تا دامنه طبیعی و سالم پائین آید و میزان انسولین و c- پپتید پلاسما بـالا رود و همچنین تظاهرات بالینی بیماری مثـل پلـی اوری ، پلی فاژی و پلی دیپسی برطرف گردد که البته همگی این موارد بلافاصله روز بعد از انجام ترانس پلانتیشـن بـه طـور کاملا 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 هیچگونـه علامتـی دال بـر پـس زده شـدن پیونـد دیـده نشد(۱۳). بـرای توضـیح ایـن مسـئله بایـد گفـت پدیـده ایمنوایزوله نمودن در اثر ترانس پلانتیشن سلولهای جزایـر لانگرهانس، در یک فضای قرنطینه از نظر ایمنـی، مـانع از دستیابی سلولهای ایمنی به سلولهای تـرانس پلانـت شـده خارجی و پس زده شدن پیوند شد(۱۴). ترانس پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس در واقع عموماً جهت درمـــان

نوعی از دیابت که ناشی از تخریب خود ایمنی سلولهای بتای این جزایر است بکار می‌رود، باتوجه به این مسئله همانطور که انتظارمی‌رود 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 قسمت‌هایی از بدن ، با موقعیت خاص ایمنوایزوله خطر تخریب سلولهای بتای ترانس پلانت شده توسط روند خود ایمنی در دریافت کننده پیوند کاملاً رفع گردید(۱۵). تکنیک ترانس پلانتیشن سلولهای جزایرلانگرهانس به صورت داخل کپسولی در غیاب مهار کننده‌های ایمنولوژیکی برای حمایت بافت پیوند شده در مقابل سیستم ایمنی گیرنده پیوند (میزبان) راهی تازه برای موفقیت در این مسیر می‌باشد(۱۶). طبق این پروسه جزایر می‌توانند 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 می‌دهد و همزمان باعث ایجاد سد مکانیکی جداکننده سلولهای ایمنی بالقوه مخرب و آنتی بادیها از سلولهای جزایر و پس زده شدن پیوندمی‌گردد(۱۷).داده های آماری F، d.f.، مقادیرP ،غذا، آب، ادرار، وزن بدن وS.E.M. , درهمه 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 ۲-۱٪ وزن پانکراس را تشکیل میدهد. قطرآنها۰/۲-۰/۵میلی متر است. تعداد جزایر لانگرهانس قابل جداکردن ۳۶۰۰۰۰ جزیره است. هرجزیره چندهزار سلول دارد. درروش انفوزیون جزایر از طریق ورید پورت به داخل کبد و تکثیرجزایر درآنجا و برگرداندن آنها بطور پشتیبانی (back-up) حدود ۹۰۰۰ جزیره لانگرهانس برهرکیلووزن بدن موش لازم است. بعبارتی برای موش ۲۵۰ گرمی حدود ۲۵۰۰ جزیره لازم است. ثانیاً دراین روش غیر از نیاز بیشتر به جزایر مسئله عمده سیستم کمپلکس سازگاری HLA بافتی اصلی درگیرنده و دهنده جزایر است که دراین مورد درحال بررسی هستیم. ثالثاً این روش روش گران وبرای همه قابل دسترس نیست. اما در روش ترانس پلانتیشن سلولهای جزایر لانگرهانس در زیر پوست بیضه رتهای دیابتی"(تصویر۱)سلولهای جزایر 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. دراین روش حدود ۵۰۰۰ جزیره برای هرکیلو وزن بدن موش موردنیاز است. این روش بعلت ساده وقابل دسترس بودنش قابل اهمت میباشد . در واقع با تخلیص پانکراس یک موش صحرائی نرمال بالغ میتوان پیوند موفقی رابه یک موش صحرائی دیابتی انجام داد. در حالی که در بافت زیر پوست بیضه موشهای صحرائی 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.، مقادیرP ، غذا، آب، ادرار، وزن بدن وS.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, Kuhtreiber 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, Vanbrabandt 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.

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 form 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. Transplanation 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.