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

دکتر عظیم اکبرزاده [1]، ***شیرین جمشیدی*** [2]، ***بهرخ فرهمند*** [2]، ***دکتر بهزاد لامع راد*** [3]

[1] دکترای تخصصی بیوشیمی، دانشیار و مدیر گروه پایلوت بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران

[2] کارشناس ارشد بیوشیمی، بخش پایلوت بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران

[3] دکترای تخصصی بیوشیمی و دانشیار گروه بیوشیمی دانشگاه الزهراء

نویسنده مسؤول: دکترعظیم اکبرزاده. نشانی: تهران، خیابان ۱۲ فروردین، بخش پایلوت بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران
E-mail: azimakbarzadeh@pastuer.ac.ir

وصول: ۸۴/۷/۲۰، اصلاح: ۸۴/۱۱/۸، پذیرش: ۸۴/۱۲/۶

چکیده

زمینه و هدف: اگر چه امروزه مشخص شده است که کنترل عوارض ناشی از تعادل نامناسب قندخون با تزریق انسولین امکان‌پذیر است، با این حال کنترل دقیق آن به وسیله تزریق انسولین کاری مشکل است. لذا پیوند جزایر لانگرهانس پانکراس به عنوان راه‌حل منطقی برای درمان این بیماری در سطح جهان در حال بررسی است و مطالعه حاضر در این راستا انجام شده است.

مواد و روش‌ها: پس از تهیه مواد اولیه و فراهم‌سازی مقدمات کار، بافت دهنده در هر مرحله کاری از شش سر موش صحرایی Wistar نر بالغ با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم (۹۰-۷۵ روزه) تأمین شد. پیوند در موش‌های صحرایی که ٤-۲ هفته قبل از پیوند توسط تزریق ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت داخل وریدی مبتلا به دیابت شده بودند، صورت گرفت.

یافته‌ها: بعد از عمل پیوند جزایر لانگرهانس، سطح گلوکز خون پلاسما تا دامنه طبیعی (۵±۱٤۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) کاهش و میزان انسولین و C- پپتیدپلاسما افزایش یافت (به ترتیب MIU/L ۰/۱±۱/۹ و ۰/۰۰۱±۰/۰۵۳ نانوگرم در میلی‌لیتر). علائم بالینی ناشی از القاء دیابت نیز پس از پیوند برطرف گردید.

نتیجه‌گیری: تکنیک پیوند سلول‌های جزایر لانگرهانس به صورت داخل کپسولی (Encapsulation) در غیاب مهارکننده‌های ایمنولوژیکی برای حمایت بافت پیوند شده در مقابل سیستم ایمنی گیرنده پیوند (میزبان) راهی تازه برای درمان دیابت نوع I می‌باشد. ***(مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۲/ شماره۴/صص۱۳-۶)*** .

واژه‌های کلیدی: *قرنطینه ایمنی؛ سلول‌های جزایر لانگرهانس؛ پیوند؛ دیابت.*

مقدمه

دیابت قندی یک سندرم اختلال متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین است که توسط ترشح انسولین با کاهش حساسیت بافت‌ها به انسولین یا فقدان آن به وجود می‌آید. دو نوع عمومی از دیابت قندی وجود دارد: دیابت نوع I که دیابت قندی وابسته به انسولین

(IDDM) نامیده می‌شود، بر اثر فقدان انسولین به وجود می‌آید و دیابت نوع II که دیابت قندی غیروابسته به انسولین (NIDDM) نامیده می‌شود، بر اثر کاهش حساسیت بافت‌های هدف به اثرات متابولیک انسولین به وجود می‌آید. از این کاهش حساسیت به انسولین غالباً تحت عنوان "مقاومت به انسولین" نام برده می‌شود. در هر دو نوع دیابت قندی، متابولیسم تمام مواد غذایی دچار تغییر می‌شود. اثر پایه‌ای 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. در نتیجه، غلظت گلوکز خون افزایش می‌یابد، مصرف سلولی گلوکز به طور فزاینده‌ای به مقادیر پایین سقوط می‌کند و مصرف چربی‌ها و پروتئین‌ها افزایش می‌یابد.

دیابت نوع I فقدان تولید انسولین توسط سلول‌های بتای پانکراس است. آسیب سلول‌های بتای پانکراس یا بیماری‌هایی که تولید انسولین را مختل می‌کنند، می‌توانند منجر به دیابت نوع I 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. توارث نیز نقش عمده‌ای در تعیین مستعد بودن سلول‌های بتا برای انهدام توسط این عوامل مهاجم بازی می‌کند اما در بعضی موارد، ممکن است یک تمایل ارثی برای تحلیل و از بین رفتن سلول‌های بتا حتی بدون هرگونه عفونت یا بیماری خود ایمنی وجود داشته باشد.

شروع معمولی دیابت نوع I در حدود سن چهارده سالگی است و به همین دلیل، غالباً دیابت قندی نوجوانی نامیده می‌شود. دیابت نوع I ممکن است به طور بسیار ناگهانی یا در طی مرحله چند روزه یا چند هفته با سه عارضه اصلی افزایش بسیار بالای قند خون به ۳۰۰ تا۱۲۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر، دفع گلوکز در ادرار و بروز علائم کم آبی ظاهر شود. عوارض بلند مدت دیابت شیرین وابسته به انسولین مشکل بزرگی برای حفظ سلامتی بوده و امروزه مشخص شده است که کنترل عوارض ناشی از تعادل نامناسب قند خون با تزریق انسولین امکان‌پذیر است. با این حال، کنترل دقیق آن به وسیله تزریق انسولین کاری مشکل است (۱). علائم قطع ترشح انسولین در موش‌های صحرایی که به طور شیمیایی با استرپتوزوتوسین دیابتیک شده‌اند، می‌تواند به وسیله پیوند رفع شود (۲). این پیوندها شامل پیوند تمام پانکراس و پیوند اجزای پانکراس می‌باشد؛ پیوند اجزای پانکراس بسیار آسان‌تر از پیوند کل پانکراس انجام می‌شود و خود می‌تواند به یکی از صور زیر باشد:

۱- پیوند جزایر لانگرهانس تفکیک شده

۲- پیوند توده سلول‌های جزایرلانگرهانس

۳- پیوند بافت‌های جنینی

٤- پیوند بافت‌های نوزادی که با موفقیت در محل‌های مختلف مانند کبد، مغز، صفاق، کلیه‌ها، طحال، بیضه‌ها و زیر پوست انجام شده است.

جزایر لانگرهانس ۱ تا ۲ درصد وزن پانکرآس را تشکیل می‌دهند. قطر آن‌ها ۰/۲ تا ۰/۵ میلی‌متر است. تعداد جزایر لانگرهانس قابل جداکردن ۳٦۰۰۰۰ جزیره است. هر جزیره چند هزار سلول دارد. پیوند جزایر لانگرهانس پانکراس به عنوان راه حل منطقی برای درمان این بیماران در جهان در حال بررسی است (۳). استانداردسازی و بهینه نمودن شرایط جداسازی و تخلیص سلول‌های جزایر لانگرهانس یکی از مهم‌ترین مراحل پیوند است (٤). تنها پس از دستیابی و تثبیت چنین روشی است که محققین خواهند توانست مطالعاتی برای رفع مشکلات پیوند انجام دهند. عواملی از قبیل تعداد سلول‌های کاشته شده، گنجایش عملکرد محیط جدید و اندازه دستجات سلولی در کنترل نسبی سوخت و ساز پس از پیوند مؤثر می‌باشد (۵).

مواد و روش‌ها

مواد: کلاژناز (Collagenase)، تریپسین کریستالی

(Crystalline Trypsin)، DNase پانکراس گاوی (Bovine Pancreatic Dnase)، ۲- (٤-۲- هیدروکسی اتیل)- پیرازینیل- (۱)- اتان سولفونیک اسید (HEPES) HEPES: 2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinil]-ethan-sulfonic acid)، سیلیکون (Silicon Dicholorodimethylsilan) و سرم آلبومین گاوی فاکتور پنج (Bovine Serum Albumin V) از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. پرکول (Percoll: colloidal pvp (coated silica for cell separation aseptically filled یک محلول تجاری از ذرات سیلیکون است که با پلی‌وینیل‌پیرولیدون پوشانیده شده است. سیلیکون پوشیده شده با پلی‌وینیل پیرولیدون برای جداسازی سلول‌ها به صورت استریل شده می‌باشد. وزانوسار یا استرپتوزوتوسین STZ (Streptozotocine) از شرکت فارماسیای سوئد تهیه شد. اتیلن - گلیکول بیس (بتا-آمینواتیل- اتر)-N، N، N′،N′ - تترااستیک اسید (Streptozotocine) از محصولات سیگما می‌باشد.

محیط‌ها: تمامی محیط‌ها توسط فیلترهای ۰/۲۲ میکرومتر استریل گشته و مواد اتوکلاو شدند یا به صورت مواد استریل یکبار مصرف خریداری گردیدند. ظروف شیشه‌ای 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 می‌باشد. عمل جداسازی جزیره و تخلیص سلول در محیط بافری EH که شامل اجزای زیر می‌باشد 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

محیط با محلول‌های ۲/۵ درصد و ۵ درصد از BSA(Bovin Serum Albumine) فراکشن V تکمیل شد و با CO_2 ۵ درصد در دمای اتاق pH آن به ۷/۳ کنترل شد و حجم نهایی به یک لیتر رسانده شد.

حیوانات مورد استفاده: بافت‌دهنده در هر مرحله کاری از شش سر موش‌های صحرایی Wistar نر بالغ با وزن gr ۳۰۰-۲۵۰ (۹۰- ۷۵ روزه) تأمین شد. پیوند در موش‌های صحرایی که ۲ تا ٤ هفته قبل از پیوند توسط تزریق ٦۰mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت داخل وریدی، مبتلا به دیابت شده بودند، صورت گرفت (٦). STZ ظرف سه روز با از بین بردن سلول‌های بتا دیابت را القاء می‌کند (۷). حیوانات پیوندی و کنترل‌های دیابتی و غیردیابتی در قفس‌های متابولیکی (metabolic cages) به صورت انفرادی و جداگانه نگهداری شدند و از نظر تغذیه‌ای و متابولیسمی تحت کنترل بودند. میزان مصرف غذا (gr)، آب (ml) و حجم ادرار (ml) به طور روزانه اندازه‌گیری و همچنین هر ۲ تا ٤ هفته سطح c- پپتید، انسولین و گلوکز سرم خون اندازه‌گیری شد تا دیابت شیمیایی در موش‌های صحرایی که متحمل تزریق استرپتوزوتوسین شده‌اند و انسولین آن‌ها به حداقل رسیده مسلّم گردد و نیز علائم بهبودی در موش‌های صحرایی پیوند شده ثابت شود (۸).

جداسازی جزایر لانگرهانس و آماده سازی: جزایر لانگرهانس پانکراس با روش اصلاح شده هضم کلاژنازی (Collagenase digestion) 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).

اندازه‌گیری گلوکز، انسولین و c – پپتید خون: موش‌های صحرایی نرمال، دیابتی و پیوندی با اتِر بی‌هوش شدند. دو دقیقه تماس با اتِر هیچ تأثیری بر روی غلظت‌های گلوکز پلاسما، انسولین و c- پپتید ندارد (۱۰). از موش‌های صحرایی جهت اندازه‌گیری میزان قند، انسولین و c- پپتید هر بار ۱/۵ میلی‌لیتر خونگیری شد. خونگیری از قلب انجام گرفته و نمونه‌ها در لوله‌های استریل جمع‌آوری شدند و در دمای ٤ درجه سانتیگراد، نگهداری و پس از

جدا کردن لخته با انجام سانتریفوژ، سرم جداسازی می‌شد (۱۱). گلوکز خون به روش گلوکز اکسیداز و انسولین و c- پپتید سرم به روش بتاکانتر سنجش شد. این مرحله از کار هر ٤-۲ هفته یک بار در موش‌های صحرایی دیابتی و پیوندی و همچنین در کنترل‌های آن‌ها انجام گرفت (۱۲).

فلوسایتومتری: هدف از انجام فلوسایتومتری دستیابی به اطلاعاتی در مورد یکنواخت بودن سلول‌های بتا و درصد یکنواختی این سلول‌ها در سوسپانسیون سلولی به‌دست آمده در پایان عمل تخلیص سلول‌های جزایر لانگرهانس می‌باشد تا به این ترتیب، درصد سلول‌های بتا در سوسپانسیون پیوندی معین گردد. با توجه به تفاوت قابل ملاحظه در اندازه انواع سلول‌های جزایر لانگرهانس، می‌توان نمونه محلول سوسپانسیون سلولی را به سیستم فلوسایتومتر تزریق نمود و گراف مربوطه را که مشخص کننده انواع سلول‌ها و درصد آن‌ها در سوسپانسیون می‌باشد، تهیه کرد (۱۳).

پیوند سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس: پیوند سلول‌های تخلیص شده جزایر لانگرهانس به موش‌های صحرایی دیابتی تحریک شده با STZ در قسمت زیر پوست بیضه‌ها صورت گرفت. پیوند سوسپانسیون سلولی در سرم فیزیولوژیک با استفاده از سوزن شماره ۲۰ به محل‌های موردنظر در هر موش صحرایی بیمار انجام شد (١٤).

بافت‌برداری و بافت‌شناسی: دو ماه بعد از انجام پیوند، محل‌های انجام پیوند جهت شناسایی سلول‌های جزایر لانگرهانس رشد یافته کالبد شکافی شد. به این منظور بیضه موش‌های صحرایی دریافت کننده پیوند برداشته شد و در بافر فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و برای بررسی میکروسکوپی به بخش میکروسکوپ الکترونیکی تحویل داده شد. پس از قالب با پارافین، برش‌های نازک بافتی به ضخامت ۳ میکرون آماده گردید. رنگ‌آمیزی به وسیله رنگ هماتوکسیلین و ائوزین جهت تشخیص جزایر پیوند شده انجام شد (تصویر ۱ با میکروسکوپ Leitz) (۱۵).

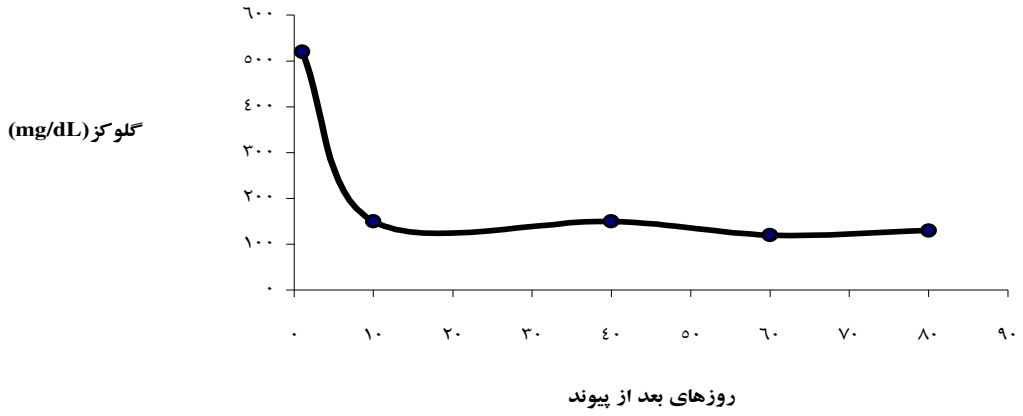
یافته‌ها

سطح نرمال گلوکز، انسولین و c- پپتید خون در موش‌های صحرایی سالم به ترتیب برابر ۱۳۵±۵ mg/dl، ۲±۰/۲MIU/L و ۰/۰۵٦±۰/۰۰۳ ng/ml به دست آمد. همچنین میزان مصرف روزانه آب و غذا در موش‌های صحرایی سالم به ترتیب برابر ۳۰±۵cc و ۱۰±۲ gr و حجم ادرار روزانه در این موش‌ها ۱۰±۱cc بود که با گروه موش‌های دیابتی مقایسه شده است (جدول ۱).

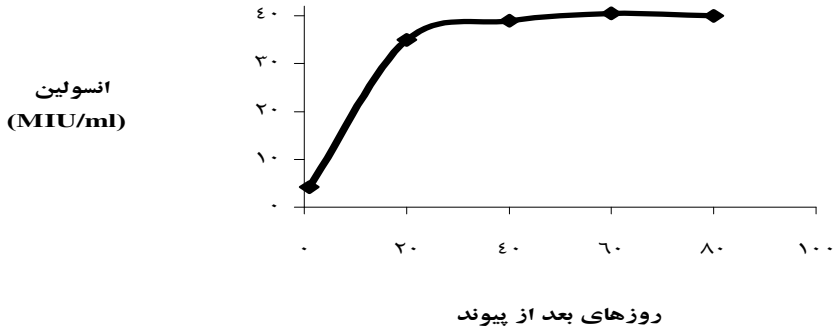
۲ الی ٤ هفته بعد از القاء دیابت و مشاهده عوارض آن، پیوند سلول‌های جزایر لانگرهانس تخلیص شده به روش کلاژناز با ۹۱ درصد سلول بتا در سوسپانسیون سلولی جهت درمان دیابت صورت گرفت. با انجام این عمل علائم بهبودی به مرور در موش‌های صحرایی مشاهده شد (نمودار ۱ تا ۳). سطح گلوکز، انسولین و c- پپتید خون، همچنین میزان مصرف روزانه آب و غذا و حجم ادرار روزانه در موش‌های صحرایی درمان شده بررسی گردید (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه برخی متغیرها در موش های سالم و دیابتی (قبل و بعد از درمان)

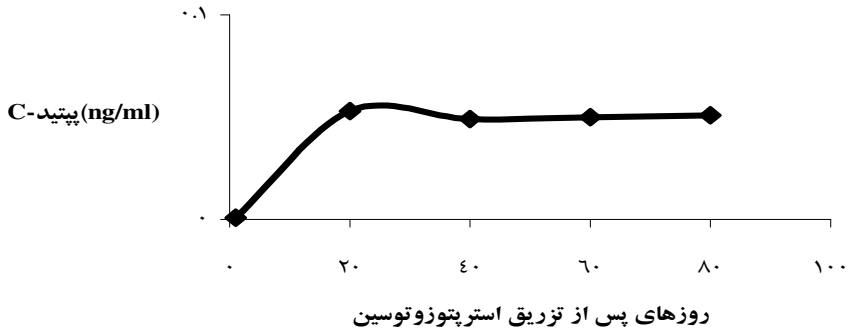
گروه / متغیر	موش‌های سالم	موش‌های دیابتی	
		قبل از درمان	بعد از درمان
گلوکزخون (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۳۵±۵	۵۰۰±۲۰	۱٤۵±۵
انسولین خون (MIU/L)	۲±۰/۲	۱/۵±۰/۲	۱/۹±۰/۱
C- پپتید خون (نانوگرم در میلی لیتر)	۰/۰۵۶±۰/۰۰۳	۰/۰۵۲±۰/۰۰۲	۰/۰۵۳±۰/۰۰۱
مصرف روزانه آب (سی سی)	۳۰±۵	۱٤۵ض۵	
مصرف روزانه غذا (گرم)	۱۰±۲	٤۵±٤	۳۰±۵
حجم ادرار روزانه (سی سی)	۱۰±۱	۱۳۰±۵	۳۵±۵



نمودار ۱: منحنی تغییرات میانگین سطح گلوکز سرم خون، در ۱۹ موش صحرایی دیابتی، درمان شده بوسیله Transplantation سلول‌های جزایر لانگرهانس



نمودار ۲: منحنی تغییرات میانگین سطح انسولین سرم خون، در ۱۹ موش صحرایی دیابتی، درمان شده بوسیله Transplantation سلول‌های جزایر لانگرهانس.



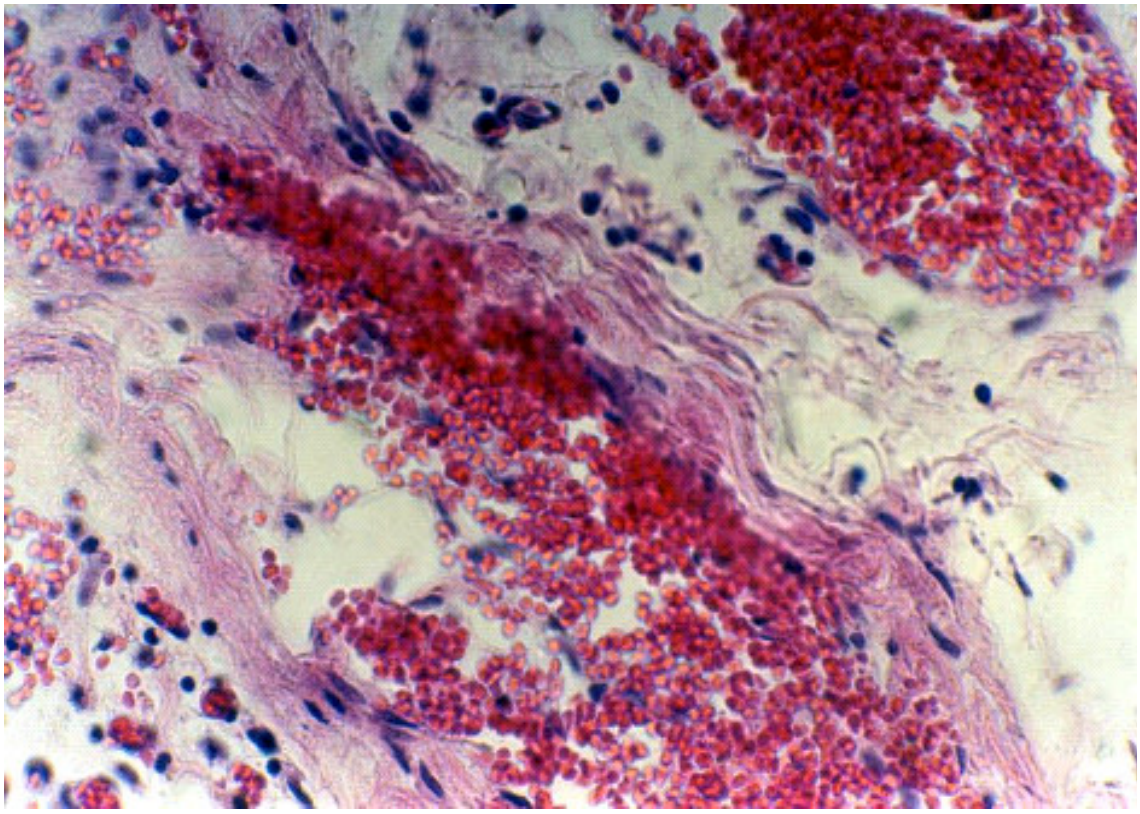
نمودار۳: منحنی تغییرات میانگین سطح c ـ پپتیدسرم خون، در ۱۹ موش صحرایی د یابتی، درمان شده بوسیله Transplantation سلول‌های جزایر لانگرهانس.

بحث

با پیوند سلول‌های جزایر لانگرهانس و در نتیجه ترشح انسولین به وسیله سلول‌های بتای پیوند شده، سطح گلوکز پلاسما تا دامنه طبیعی و سالم پایین آمد و میزان انسولین و c- پپتید پلاسما نیز بالا رفت. همچنین روند بهبودی تظاهرات بالینی بیماری مثل پُرادراری، پرخوری و پرنوشی از روز بعد از انجام پیوند آغازگردید.

نکته قابل توجه در این پژوهش، عدم استفاده از موش‌های صحرایی Inbred به عنوان گیرنده و دهنده پیوند بود که علیرغم این مسئله، هیچ‌گونه علامتی دالّ بر پس زده شدن پیوند دیده نشد. برای توضیح این مسئله باید گفت: که پدیده ایمنو ایزوله نمودن در اثر پیوند سلول‌های جزایر لانگرهانس، در یک فضای قرنطینه از نظر ایمنی، مانع از دستیابی سلول‌های ایمنی به سلول‌های پیوند شده خارجی و پس زده شدن پیوند شد. پیوند سلول‌های جزایر لانگرهانس جهت درمان نوعی از دیابت که ناشی از تخریب خود ایمنی سلول‌های بتای این جزایر است، به کار می‌رود. با توجه به این مسئله همان‌طور که انتظار می‌رود این روند خود ایمنی نسبت به سلول‌های بتای پیوند شده نیز ادامه دارد. در این پژوهش با انجام پیوند سلول‌های جزایر لانگرهانس پانکراس در قسمت‌هایی از بدن، با موقعیت خاص ایمنو ایزوله خطر تخریب سلول‌های بتای پیوند شده توسط روند خودایمنی در دریافت‌کننده پیوند کاملاً رفع گردید. تکنیک پیوند سلول‌های جزایر لانگرهانس 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. طبق این فرآیند، سلول‌ها می‌توانند در یک غشاء نیمه تراوا احاطه شوند که اجازه رسیدن غذا و اکسیژن را به جزایر لانگرهانس و همچنین رها شدن انسولین به درون جریان خون را می‌دهد و همزمان باعث ایجاد سد مکانیکی جداکننده سلول‌های ایمنی بالقوه مخرب و آنتی‌بادی‌ها از سلول‌های جزایر و پس زده شدن پیوند می‌گردد.

در روش انفوزیون جزایر از طریق ورید پورت به داخل کبد و تکثیر جزایر در آن‌جا و برگرداندن آن‌ها به طور پشتیبان Back-up نکات زیر حائز اهمیت است. اولاً، حدود ۹۰۰۰ جزیره لانگرهانس بر هر کیلو وزن بدن موش لازم است، به عبارتی 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 این مورد در حال بررسی است. ثالثاً، این روش، پرهزینه بوده و برای همه قابل دسترس نیست. اما در روش پیوند سلول‌های جزایر لانگرهانس در زیر پوست بیضه موش‌های صحرایی دیابتی (تصویر۱) سلول‌های جزایر لانگرهانس با موفقیت پیوند می‌شوند؛ یعنی در یک فضای قرنطینه از نظر ایمنی، مانع از دست‌یابی سلول‌های ایمنی به سلول‌های پیوند شده خارجی و مانع پس زده شدن پیوند می‌شود و صددرصد با ترشح انسولین از سلول‌های جزایر لانگرهانس پیوند شده در زیر پوست بیضه موش‌های صحرایی که پانکرآس آن‌ها از کار افتاده، به صورت پایدار دیابت کنترل می‌گردد. در این روش، حدود ۵۰۰۰ جزیره برای هر کیلو وزن بدن موش مورد نیاز است. این روش به علّت ساده و قابل دسترس بودنش حائز اهمیت است. در واقع، با تخلیص پانکراس یک موش صحرایی بالغ می‌توان پیوند موفقی را انجام داد. البته، در مورد روش تزریق داخل صفاقی در حال بررسی نهایی هستیم.



تصویر ۱: سلول های جزایر لانگرهانس پیوند شده موجود در زیر پوست بیضه موش صحرایی دیابتی که از طریق پیوند سلول های جزایر لانگرهانس بهبود یافته بود. بعد از بافت‌برداری از بیضه و تثبیت نمونه در فرمالین ۱۰ درصد، رنگ‌آمیزی Hematoxylin & Eosin انجام شد و عکسبرداری با بزرگنمایی ۴۰۰۰ برابر بوسیله میکروسکوپ Leitz انجام گرفت.

References

1. Lanza RP, Ecker DM, Kuhtreiber WM, Marsh JP, Ringeling J, Chick WL. Transplantation of islets using microencapsulation: studies in diabetic rodents and dogs. J Mol Med. 1999 Jan; 77(1): 206-10.
2. Boker A, Rothenberg L, Hernandez C, Kenyon NS, Ricordi C, Alejandro R. Human islet transplantation: update. World J Surg. 2001 Apr; 25(4): 481-6.
3. Gray DW, Morris PJ. Developments in isolated pancreatic islet transplantation. Transplantation. 1987 Mar; 43(3): 321-31.
4. 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 Feb 27; 73(4): 512-8.
5. Rastellini C, Shapiro R, Corry R, Fung JJ, Starzl TE, Rao AS. An attempt to reverse diabetes by delayed islet cell transplantation in humans. Transplant Proc. 1997 Jun; 29(4): 2238-9.
6. Scharp DW, Lacy PE, Santiago JV, McCullough CS, Weide LG, Boyle PJ, et al . Results of our first nine intraportal islet allografts in type 1, insulin-dependent diabetic patients. Transplantation. 1991 Jan; 51(1): 76-85.

7. Garcia-Ocana A, Vasavada RC, Takane KK, Cebrian A, Lopez-Talavera JC, Stewart AF. Using beta-cell growth factors to enhance human pancreatic Islet transplantation. J Clin Endocrinol Metab. 2001 Mar; 86(3): 984-8.
8. Keymeulen B, Anselmo J, Pipeleers D. Length of metabolic normalization after rat islet cell transplantation depends on endocrine cell composition of graft and on donor age. Diabetologia. 1997 Oct; 40(10): 1152-8.
9. Lacy PE, Kostianovsky M. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. Diabetes. 1967 Jan; 16(1): 35-9.
10. Pipeleers DG, in't Veld PA, Van de Winkel M, Maes E, Schuit FC, Gepts W. A new in vitro model for the study of pancreatic A and B cells. Endocrinology. 1985 Sep; 117(3): 806-16.
11. Titus T, Badet L, Gray DW. Islet cell transplantation for insulin-dependant diabetes mellitus: perspectives from the present and prospects for the future. Expert Rev Mol Med. 2000 Sep 6; 2000:1-28.
12. Sutherland DE, Gruessner RW, Gruessner AC. Pancreas transplantation for treatment of diabetes mellitus. World J Surg. 2001 Apr; 25(4): 487-96. Epub 2001 Apr 11.
13. Lenza R.P. et al. Transplantation of islets using micro encapsulation, J.Mol. Med. 1999; 77: 206-210.
14. Thomas FT, Ricordi C, Contreras JL, Hubbard WJ, Jiang XL, Eckhoff DE, et al. Reversal of naturally occuring diabetes in primates by unmodified islet xenografts without chronic immunosuppression. Transplantation. 1999 Mar 27; 67(6): 846-54.
15. Titus T, Badet L, and Gray D W R. Islet cell Transplantation for diabetes-perspectives from the present and prospects for the future. Available at www.jr2.ox.ac.uk/nds/isletxrv/2004 page 1-24.

Treatment of Diabetic Rats Induced with Steroptozotocin by Immunoisolated Transplantation of Islet Cells

Akbarzadeh A., Ph.D
PhD in Biochemistry, Associated professor and Head of the pilot Biotechnology Department, Pasture Institute of Iran, Tehran, Iran

Jamshidi Sh., MSc
Biochemistry, department of pilot, Biotechnology, Pasture Institute of Iran, Tehran, Iran

Farahmand B., MSc
Biochemistry, department of pilot, Biotechnology, Pasture Institute of Iran, Tehran, Iran

Lameh Rad B., Ph.D
Ph.D in Biochemistry and Associate Professor of the Department of Biochemistry, Al-Zahra University, Tehran, Iran

Received: 12/10/2005**, Revised:** 28/01/2006**, Accepted:** 26/02/2006

Correspondence:
Dr. Azim Akbarzadeh
Pilot Biotech, Dept., Pasture Institute of Iran, 12 th Farvardin st, Tehran, Iran
E-mail:
azimakbarzadeh@pasture.ac.ir

Abstract

Background and Purpose: Although it is now certain that insulin injection allows us to control the complications resulting from blood sugar imbalances, its accurate control by insulin injection is difficult. Therefore as a logical solution, transplantation of islet cells is globally considered as a treatment and the present study is conducted to verify it.

Methods and Materials: After materials preparation, donor tissue was obtained from 6 male wistar rate cage 75-90 days (weight 250-300 gram). Transplantation was done on diabetic rate induced 2-4 weeks earlier by 60 mg/kg streptozotocin intravenous injection.

Results: After islet cells transplantation, blood glucose was reduced to normal (145±5 mg/dl) and insulin and C-peptide increased (1.9±0.1 MIU/L and 0.053±0.001 µg/ml respectively). Clinical symptoms of dibetes induction were relieved after transplantation.

Conclusion: The technique of islet cells transplantation in the form of encapsulation with the absence of immunological inhibitors to support the graft against the recipient's immunity system is an innovative method to treat type I diabetes. ***(Journal of Sabzevar School of Medical Sciences, Volume 12, Number 4, pp.6-13).***

Key Words: *Immuno isolation; Islet Cells; Transplantation; Diabetes.*