

Современные возможности применения стволовых клеток при сахарном диабете

¹Дедов И.И., ²Лисуков И.А., ¹Лаптев Д.Н.

¹ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
(директор — академик РАН и РАМН И.И. Дедов)

²Центр онкогематологии и трансплантологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург
(ректор — профессор д.м.н. О.Г. Хурцилава)

Сахарный диабет (СД) характеризуется относительным или абсолютным дефицитом инсулина. Современные методы лечения СД не позволяют добиться нормального уровня глюкозы в крови без эпизодов гипо- и гипергликемии и полностью предотвратить развитие осложнений СД. Замещение β -клеток (пересадка поджелудочной железы или β -клеток) сопровождается осложнениями, требует пожизненной иммуносупрессивной терапии, при этом далеко не всегда достигается инсулинонезависимость, а также имеется существенный дефицит доноров. Выходом из сложившейся ситуации может стать применение стволовых клеток (СК), которые лишены этих недостатков. Аллогенные трансплантации СК осложнены иммунным отторжением трансплантата, а использование эмбриональных СК — этическими аспектами, сложностью отбора клеточных линий и риском возникновения тератом. Данный обзор посвящен возможностям использования тканевых СК для аутологичной трансплантации с целью восстановления пула β -клеток, а также иммунологической реконституции, и для модуляции аутоиммунного процесса при СД.

Ключевые слова: сахарный диабет; β -клетки; стволовые клетки; пуповинная кровь; кроветворные клетки

Modern possibilities for using stem cells in diabetes mellitus

I.I. Dedov¹, I.A. Lisukov², D.N. Laptev¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

²Centre for Oncogematology and Transplantology, Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg

Diabetes mellitus (DM) is characterised by relative or absolute insulin deficiency. The currently available treatment methods for DM cannot provide normal blood glucose level without hypo- or hyperglycaemia episodes, thus failing to completely prevent the development of diabetic complications. Replacement of β cells (transplantation of the pancreas or β cells) is accompanied by complications and requires life-long immunosuppressive therapy that is not always followed by restoration of insulin independence; there is also a substantial deficit of donors. Stem cells do not cause such negative effects and can be used in therapy to avoid such problems. Allogeneic stem cell transplantation is complicated by immune rejection of a transplant, whereas the use of embryonic stem cells is associated with ethical concerns, complicated cell line selection, and risk of teratoma formation. The present review focuses on therapeutic pathways of autologous transplantation of tissue stem cells in order to restore the β -cell pool, for immune reconstitution and modulation of the immune response in DM patients.

Keywords: diabetes mellitus; β -cells; stem cells; umbilical cord blood; haematopoietic cells

DOI: 10.14341/DM2014220-28

Сахарный диабет (СД) имеет исключительно сложный патогенез, включая геномные и пост-геномные нарушения, которые завершаются ключевым патогенетическим звеном — гипергликемией-глюкозотоксичностью. Если при СД 1 типа (СД1) β -клетки постепенно разрушаются в результате аутоиммунного процесса, то главной причиной при СД 2 типа (СД2) является инсулинорезистентность (ИР) периферических тканей. Чтобы преодолеть повышенный порог толерантности тканей к глюкозе, β -клетки функционируют в повышенном функциональном режиме, что в конечном итоге приводит к их истощению и дефициту в организме инсулина. С момента открытия инсулина в 1920 г. и по настоящее время заместительная инсулинотерапия является основным методом лечения СД. Однако

даже интенсифицированная инсулинотерапия не позволяет добиться идеальной точности и циркадной вариабельности уровня инсулина, характерной для здорового человека, что приводит к неизбежным эпизодам гипо- и гипергликемии и развитию сосудистых осложнений [1].

В последние годы ведутся интенсивные поиски радикального решения проблем СД1 — речь идет о клеточных технологиях, о «выращивании» поджелудочной железы (ПЖ) из эмбриональных стволовых клеток (СК). Предполагается, что для больных СД1 клеточная терапия, основанная на замещении β -клеток, могла бы стать идеальным способом лечения. Методом замещения β -клеток в настоящее время является полная пересадка ПЖ, которая впервые была выполнена в 1966 г. [2]. К 2008 г. было выполнено более 30 000 трансплантаций ПЖ во всем



Рис. 1. Подходы к восстановлению пула β-клеток с использованием стволовых клеток. Объяснение в тексте. Сокращения: СК – стволовые клетки; ИПКПК – инсулинпродуцирующие клетки периферической крови; ИСТ – иммуносупрессивная терапия; СКК – стволовые кровяные клетки; ИПСК - индуцированные полипотентные стволовые клетки.

мире [3, 4]. Последние данные свидетельствуют о полном отсутствии потребности в инсулине в течение более 2 лет на фоне нормальных показателей HbA_{1c} у пациентов после трансплантации ПЖ [5]. Однако трансплантация ПЖ является объемным хирургическим вмешательством со смертностью от 1 до 3%, тяжелыми осложнениями со стороны сердечно-сосудистой системы, а также требует пожизненной иммуносупрессивной терапии и поэтому рекомендуется в основном для больных СД1 с серьезными осложнениями (терминальная стадия диабетической нефропатии, лабильное течение заболевания, частые эпизоды тяжелой гипогликемии и нарушение восприятия гипогликемии) [6]. Для преодоления этих осложнений были предприняты попытки изолированной пересадки островков ПЖ. Однако такие технологии, несмотря на повышение уровня С-пептида в крови, не привели к полной отмене инсулинотерапии (вплоть до 1989 г.) и требовали высоких доз иммуносупрессивных препаратов [7]. В 2000 г. был разработан так называемый «Эдмонтонский протокол», по которому иммуносупрессия выполнялась без кортикостероидов. И хотя «Эдмонтонский протокол» позволил сохранить инсулинонезависимость у семи пациентов в течение года (11,9 месяцев), в дальнейшем этот результат оказалось сложно воспроизвести, а выживаемость трансплантата за 9 лет составляла менее 10% [8].

Таким образом, замещение β-клеток сопровождается осложнениями, требует пожизненной иммуносупрессивной терапии и при этом редко достигается инсулинонезависимость. Кроме того, этот метод лечения осложняется нехваткой доноров клеток для трансплантации, а также сохраняющимся аутоиммунным процессом в организме пациента. Возможным выходом из сложившейся ситуации может стать применение СК.

СК имеют ряд преимуществ по сравнению с трансплантацией β-клеток: 1) практически не ограниченная доступность доноров СК; 2) постоянный источник

β-клеток; 3) минимальная потребность (вплоть до полного отсутствия) в иммуносупрессивных препаратах; 4) СК могут быть использованы для супрессии аутоиммунного процесса и для иммунологической реконституции после иммуносупрессивной терапии [9].

СК можно разделить на эмбриональные – недифференцированные полипотентные клетки эмбриобласта бластоцисты и тканевые – более дифференцированные СК, которые могут быть получены из различных тканей (кровь, костный мозг, печень, ПЖ и др.). По характеру трансплантации СК выделяют аутологичную (донор одновременно является реципиентом) или аллогенную (донор и реципиент различны) трансплантации. Основной проблемой при аллогенной трансплантации является иммунное отторжение трансплантата, даже при использовании эмбриональных стволовых клеток. Требуется разработка способов защиты трансплантата от иммунной системы реципиента или пожизненная иммуносупрессивная терапия. Использование эмбриональных СК связано с рядом серьезных проблем: 1) недифференцированные эмбриональные СК могут служить источником тератом *in vivo*; 2) этические аспекты, связанные с получением эмбриональных СК; 3) для последующей дифференцировки потребуется исследовать большое количество клеточных линий эмбриональных СК, т.к. они в разной степени способны дифференцироваться в β-клетки.

Более перспективным представляется использование аутологичных СК, как для создания инсулин-продуцирующих клеток, так и для возможной реконструкции иммунной системы.

Данный обзор посвящен возможностям использования тканевых СК для аутологичной трансплантации с целью восстановления пула β-клеток, иммунологической реконституции, а также для модуляции аутоиммунного процесса при СД (рис. 1).

СК поджелудочной железы

При различных состояниях, таких как ожирение или беременность, масса β -клеток может увеличиваться в физиологических пределах [10]. У крыс после 90% панкреатэктомии происходит значительная регенерация ткани ПЖ, в том числе β -клеток [10]. По данным исследований на основе «прослеживания родословной» (lineage tracing), основным источником β -клеток *in vivo* являются существующие β -клетки, однако рядом исследований показано, что в процессе регенерации β -клеток могут принимать участие и СК [11, 12].

Одним из источников для дифференцировки в β -клетки могут являться клетки протоков ПЖ. Перевязка панкреатического протока у крыс приводит к значительной гиперплазии, преимущественно за счет β -подобных клеток (секретируют инсулин в ответ на повышение гликемии, но не в полной мере экспрессируют маркеры, характерные для β -клеток). Гиперплазия в данном случае не может быть полностью объяснена пролиферацией имеющихся β -клеток и, вероятно, происходит за счет СК [13]. Возможно, что регенерация в данном случае происходит за счет трансдифференцировки и пролиферации клеток выводных протоков ПЖ. Клетки протоков, полученные *ex vivo* из экзокринной ткани ПЖ здоровых доноров, могут реэкспрессировать транскрипционный фактор PDX1, который является ключевым в развитии ПЖ, что предполагает их возможный потенциал как СК [14]. Однако результаты ряда последних исследований ставят под сомнение возможность использования клеток протоков как источника β -клеток.

Физиологическим источником β -клеток могут являться прогениторные СК, экспрессирующие транскрипционный фактор SOX9. Однако, в ряде *ex vivo* экспериментов, направленных на стимуляцию регенерации (перевязка панкреатического протока, частичная панкреатэктомия и др.), не было найдено доказательств того, что SOX9-положительные клетки протоков и ацинусов являются источником β -клеток [15]. Кроме того, у взрослых мышей транскрипционный фактор HNF1b, который экспрессируется только в протоках ПЖ, не экспрессируется клетками протоков и ацинусов, в том числе и после стимуляции регенерации [16].

Рядом исследователей выделена мультипотентная СК непосредственно из островков ПЖ. Так, после перевязки панкреатического протока часть клеток начинают реэкспрессировать транскрипционный фактор NEUROG3. Эти клетки являются мультипотентными и способны дифференцироваться в любой из четырех видов эндокринных клеток ПЖ: α -, β -, δ - и PP-клетки [17].

Несмотря на показанное в различных исследованиях наличие потенциальных кандидатов в ПЖ на роль источника новых β -клеток, в настоящее время сохраняются противоречия в том, что является их источником. Рядом исследований установлено, что рост и дифференцировка β -клеток в островках ПЖ взрослых мышей происходит только за счет зрелых β -клеток [18]. Дальнейшие исследования должны установить, есть ли СК ПЖ у пациентов

с СД и какие механизмы могут стимулировать их дифференцировку *in vivo*. Другим возможным направлением может стать разработка механизмов их выделения, дифференцировки *in vitro* для дальнейшей трансплантации.

Индукцированные СК

Одним из возможных источников β -клеток могли бы стать индуцированные с помощью транскрипционных факторов полипотентные клетки. В 2006 г. Yamanaka с коллегами была показана возможность перепрограммирования соматических клеток мышей и человека в индуцированные полипотентные СК (ИПСК) посредством форсированной экспрессии четырех генов (*OCT4*, *SOX2*, *KLF4* и *c-MYC*) [19, 20]. Полученные клетки экспрессируют маркеры и обладают морфологией эмбриональных СК. Впоследствии ИПСК были получены путем перепрограммирования многих типов соматических клеток [21]. ИПСК могут быть использованы в качестве источника СК для последующей дифференцировки в β -клетки [22]. Так, перепрограммированные с помощью ретровирусных транскрипционных факторов нормальные фибробласты кожи мышей могут быть в дальнейшем селективно дифференцированы в β -подобные клетки. Полученные клетки могут секретировать инсулин в зависимости от уровня гликемии, и, будучи введенными животным с СД2, снижают уровень HbA_{1c} и корректируют гипергликемию [23]. Инсулинпродуцирующие клетки также были получены из перепрограммированных фибробластов пациентов больных СД1 [24]. Также ИПСК были получены путем перепрограммирования β -клеток человека. Будучи перепрограммированными, они приобрели маркеры полипотентных клеток и могли быть дифференцированы во все три эмбриональных зародышевых листка. Эти клетки, как *in vitro*, так и *in vivo* обладают более выраженной способностью дифференцироваться в инсулинпродуцирующие клетки по сравнению с ИПСК, полученными не из β -клеток у того же пациента [25]. Это указывает на наличие эпигенетической памяти у ИПСК, полученных из β -клеток, способствующей их дифференцировке в инсулинпродуцирующие клетки.

Однако существенным недостатком данного метода получения ИПСК является использование вирусов (ретровирусов и лентивирусов), необратимо интегрирующих генетический материал (в том числе онкогены) в геном, так как при этом возникает риск новообразований за счет реактивации вирусных трансгенов. Более безопасным механизмом получения полипотентной СК может быть использование аденовирусных и эпизомальных векторов, которые активируют временную экспрессию экзогенных генов без их интеграции в геном хозяина [26]. Еще одним безопасным способом индукции полипотентной СК является перепрограммирование сперматогональной СК в клетку, подобную эмбриональной СК без использования генов. Так, с помощью добавления соответствующих ростовых факторов в среду эмбриональных СК может быть получена полипотентная СК, которая в дальнейшем может дифференцироваться

в любой из трех зародышевых листков [27]. Также для перепрограммирования могут быть использованы различные химические вещества, не вызывающие изменения клеточного генома [28].

СК печени

Поскольку ПЖ имеет эндодермальное происхождение, еще одним потенциальным источником панкреатических СК может стать другая ткань эндодермального происхождения – печень. Встраивание транскрипционного фактора PDX1 с помощью аденовируса у мышей приводит к трансдифференцировке гепатоцитов в предшественники β -клеток, экспрессирующие ряд генов, характерных для клеток ПЖ [29]. Кроме того, PDX1 индуцирует свою собственную экспрессию (автоиндукция), что, вероятно, способствует длительному существованию трансдифференцированных клеток. Эти клетки способны секретировать инсулин в количестве, достаточном для предотвращения стрептозотцин-индуцированной (стрептозотцин – это вещество, токсичное для β -клеток, вызывающее СД1 у мышей) гипергликемии спустя 8 месяцев после лечения. Для дальнейшей дифференцировки и созревания предшественников β -клеток требуется воздействие гипергликемии *in vivo* или высокого уровня глюкозы *in vitro* [30]. Однако в настоящее время не ясно, возможно ли культивирование модифицированных клеток печени *in vitro* для создания достаточной клеточной массы для трансплантации [31].

СК пуповинной крови

На конец 2009 г. в мире было выполнено порядка 20 000 трансплантаций СК пуповинной крови [32], содержащих гемопоэтические и мезенхимальные СК. В мире трансплантация пуповинной крови применяется при различных заболеваниях (онкогематология, иммунодефицитные состояния, гемоглобинопатии, генетические дефекты и др.). При СД также имеется опыт применения СК пуповинной крови, как у детей, так и у взрослых. У детей старше 1 года (средний возраст 5,5 лет) показана безопасность применения аутологичных СК пуповинной крови вскоре после манифестации СД1 [33]. Однако клинические результаты этого исследования оказались неутешительными: спустя 12 месяцев после введения СК пуповинной крови не было отмечено улучшения секреции С-пептида, снижения дозы инсулина и HbA_{1c} и ожидаемого повышения уровня регуляторных Т-лимфоцитов. Между тем на 6-м и 9-м месяце наблюдения обнаружено повышение уровня регуляторных Т-лимфоцитов. Отсутствие положительного результата, возможно, связано с недостаточным количеством трансплантата, о чем свидетельствует повышение уровня регуляторных Т-лимфоцитов на 6-м и 9-м месяце и дальнейшее снижение их уровня на 12-м месяце. В другом исследовании была использована иная методика выделения и применения стволовых клеток пуповинной крови [9]. На первом этапе этой методики из всех СК

пуповинной крови выделялась особая популяция, названная «мультипотентные СК, полученные из пуповинной крови» (cord-blood derived multipotent stem cell). Данные клетки экспрессируют на своей поверхности ряд маркеров эмбриональных клеток (OCT4, NANOG, SSEA3, SSEA4) и общий лейкоцитарный антиген CD45, при этом они отрицательны по иным маркерам клеток крови. Популяция этих клеток составляет 0,1% от общего количества СК. На втором этапе полученные СК помещаются в специальную камеру, названную «Воспитатель стволовых клеток» (Stem Cell Educator). Сама процедура «трансплантации» заключается в выделении лимфоцитов реципиента из периферической крови, с последующим их медленным прохождением через камеру «Воспитатель стволовых клеток», где происходит клеточный контакт между лимфоцитами реципиента и СК. После чего лимфоциты возвращаются в кровяное русло реципиента. СК при этом в кровяное русло не вводятся, а остаются в камере. Процедура проводится в замкнутом цикле (closed-loop), ее продолжительность составляет 8–9 ч.

С использованием этой методики проведена первая и вторая фаза клинического исследования у взрослых пациентов с СД1 и СД2 [34]. Однократный курс лечения приводил к подавлению аутоиммунного процесса и частичной регенерации β -клеток, что способствовало улучшению показателей гликемического контроля и снижению суточной дозы инсулина. При СД1: в группе с отсутствующей резервной функцией (С-пептид натощак менее 0,01 нг/мл) суточная доза инсулина в среднем снизилась на 25%, HbA_{1c} – на 1,9%; в группе с остаточной резервной функцией (С-пептид в среднем 0,33 нг/мл) суточная доза инсулина в среднем снизилась на 38%, HbA_{1c} – на 1,6%. Также после лечения у пациентов с СД1 отмечено увеличение экспрессии лимфоцитами ко-стимулирующих молекул (CD28, ICOS), увеличение количества регуляторных Т-лимфоцитов (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) и восстановление Th1/Th2/Th3 цитокинового баланса, что указывает на подавление аутоиммунного процесса. При СД2 на фоне лечения также отмечено снижение показателей HbA_{1c} , суточной дозы инсулина и уменьшение проявлений хронического воспаления, определяемого по экспрессии CTLA-4, CD80/CD86 и CD28 и секреции TGF- β 1. В группе, получавшей плацебо, статистических различий в этих показателях выявлено не было.

Появление после лечения как секреции С-пептида натощак, так и стимулированной в группе с отсутствующей резервной функцией при СД1 может свидетельствовать о запуске регенеративных механизмов на фоне модуляции аутоиммунного процесса. Возможным источником инсулинпродуцирующих клеток могут являться инсулин-продуцирующие СК периферической крови.

СК периферической крови

Перспективными кандидатами на роль источника аутологичных инсулин-продуцирующих СК выглядят выделенные в 2006 г. так называемые «инсу-

линпродуцирующие клетки периферической крови» (ИПКПК) [35, 36]. ИПКПК демонстрируют характеристики как эмбриональных, так и гемопоэтических СК, вместе с высоким потенциалом к синтезу инсулина. Эти клетки экспрессируют мРНК инсулина и его транскрипционные факторы: MAFA, NKX6-1 [35]. Также эти клетки способны экспрессировать соматостатин (продукт δ -клеток островков) и грелин (продукт ϵ -клеток островков). Однако они не экспрессируют другие гормоны (глюкагон (продукт α -клеток островков)), панкреатический полипептид (продукт PP-клеток островков), а также транскрипционные факторы (PDX1, NEUROD1, NKX2-2)), характерные для эндокринных клеток.

Будучи изолированными и культивированными, эти клетки способны пролиферировать и значительно увеличиваться в количестве. Также установлена возможность продукции инсулина этими клетками [35]. Кроме того, традиционная электронная микроскопия показала, что в цитоплазме ИПКПК имеется множество гранул размером 200–300 нм в диаметре, часть из которых демонстрируют «halo» (ореол) структуру, которая является уникальной для гранул инсулина β -клеток человека. Наличие гранул инсулина в дальнейшем было подтверждено трансмиссионной электронной микроскопией. Помимо продукции инсулина ИПКПК экспрессируют другие маркеры β -клеток, в том числе GLUT2 (транспортёр глюкозы), рецептор сульфонилмочевины SUR1 (белок K^+ АТФ канала, ответственного за секрецию инсулина), GSKR (белок-регулятор глюкокиназы).

ИПКПК экспрессируют фенотипические признаки, характерные для гемопоэтических СК, такие как тетраспанин CD9, общий лейкоцитарный антиген CD45, рецептор ростового фактора СК CD117. При этом ИПКПК негативны по маркеру гемопоэтических СК CD34, лимфоцитарным маркерам CD3 (Т-клетки) и CD20 (В-клетки). Экспрессия CD45 подтверждает, что ИПКПК относятся к гемопоэтическим (CD45⁺), а не мезенхимальным (CD45⁻) клеткам, циркулирующим в периферической крови. Кроме того, эти клетки экспрессируют транскрипционные факторы эмбриональных СК OCT4 и NANOG. Наличие подобного фенотипа характерно для стволовых клеток пуповинной крови [36].

При трансплантации ИПКПК популяции NOD-мышей, у них отмечалось снижение гликемии на 20–30% по сравнению с контролем. При этом после трансплантации было отмечено достоверное увеличение уровня человеческого С-пептида, по сравнению с контролем, где он оставался на неопределяемом уровне. Уровень С-пептида после пересадки примерно 5 млн ИПКПК соответствует уровню С-пептида после пересадки 2000 человеческих островков [37]. Спустя месяц после трансплантации клетки, позитивные по человеческому С-пептиду, обнаруживались в ткани ПЖ, в том числе в остаточных панкреатических островках NOD-мышей, вблизи глюкагонпозитивных клеток. При этом в других тканях не удавалось обнаружить позитивные по человеческому С-пептиду клетки. Это указывает

на то, что ИПКПК могут мигрировать в панкреатические островки после трансплантации в перитонеальную полость. Вероятно, что миграция (хоуминг) ИПКПК в панкреатические островки – не случайный процесс. Этот механизм контролируется определенными хемокинами. Подтверждением тому служит наличие на поверхности ИПКПК рецепторов CXCR4 к хемокину SDF-1. SDF-1, в свою очередь, играет ключевую роль в процессе хоуминга гемопоэтических СК [38]. Хемокин SDF-1 человека и NOD-мышей различается всего на одну аминокислоту и интенсивно экспрессируется в панкреатической ткани NOD-мышей, что подтверждает этот механизм. В дальнейшем ученым потребуется разработать механизмы расширения пула ИПКПК *in vitro* и провести исследования у людей для оценки эффективности и безопасности этого метода и разработки оптимальных протоколов трансплантации.

Аутологичная трансплантация стволовых кроветворных клеток

В 1997 г. был опубликован доклад Европейского общества трансплантации костного мозга и Европейской лиги по борьбе с ревматизмом (EBMT/EULAR Autoimmune Disease Stem Cell Project), в котором были изложены основные принципы проведения исследований эффективности и безопасности высокодозной иммуносупрессивной терапии (ИСТ) и трансплантации стволовых кроветворных клеток (СКК) при аутоиммунных заболеваниях (АИЗ) [39].

Ключевыми положениями этой программы стали использование аутологичных СКК, стандартных режимов предтрансплантационной подготовки (режимы кондиционирования), методов мобилизации периферических СКК, протоколов очистки трансплантата от иммунокомпетентных клеток и ряд других. К 2014 г. в Международный объединенный регистр (IBMTR) включено более 2000 пациентов с различными АИЗ – рассеянный склероз, системная красная волчанка, системная склеродермия, ревматоидный артрит и, в том числе, пациенты с СД1.

В качестве источника СКК для аутологичной трансплантации в подавляющем большинстве исследований используются стволовые кроветворные клетки периферической крови пациента (ПСКК), мобилизованные из костного мозга в кровотоки высокими дозами циклофосфамида (2–4 г/м²) и гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ), или только Г-КСФ. Целевое количество ПСКК, необходимое для приживания, составляет более 2–3 млн CD34⁺ СКК/кг веса реципиента. Мобилизованные ПСКК собираются из периферической крови с помощью лейкофереза на программных сепараторах крови и криоконсервируются. Следующим этапом проводится предтрансплантационная высокодозная ИСТ.

Теоретически интенсификация ИСТ вплоть до полной иммуноабляции может вызвать эрадикацию клонов аутореактивных лимфоцитов. Аутологичная трансплан-

тация СКК позволяет проводить такие режимы лечения относительно безопасно — длительность критической нейтропении обычно не превышает 10–14 дней. С другой стороны, в период иммунологической реконституции при отсутствии воздействия триггерных факторов возможен возврат к латентному периоду АИЗ с восстановлением иммунологической толерантности к аутоантигенам. Данный эффект получил название «репрограммирование иммунной системы» — именно с этим феноменом исследователи связывают основные надежды на достижение длительных ремиссий или даже излечения от АИЗ.

Режимы высокодозной предтрансплантационной ИСТ при АИЗ были выбраны эмпирически на основе опыта трансплантации СКК при гемобластозах и апластической анемии. Наиболее часто данные режимы включают высокие дозы алкилирующих цитостатиков (циклофосфамид). Ряд центров в США часто используют сочетание циклофосфамида с облучением всего тела (ТВИ) в дозах 200–800 сГу [40].

Использование иммуноабляции с последующим репрограммированием иммунной системы при СД1 имеет смысл при относительной сохранности пула β -клеток для их последующей регенерации. В связи с этим представляют интерес публикации медицинского центра Университета Сан-Паулу (Бразилия), где в течение нескольких лет исследуется роль аутологичной трансплантации СКК при ранних стадиях СД1. Исследовательский протокол включал мобилизацию ПСКК циклофосфаном в дозе 2 г/м² и Г-КСФ (филграстим) в дозе 10 мкг/кг веса в сутки, сепарацию ПСКК и криоконсервирование. Через 2 недели после сбора клеток в качестве предтрансплантационного режима кондиционирования использовался циклофосфан в дозе 200 мг/кг веса и кроличий антиtimoцитарный глобулин (АТГ) в дозе 4,5 мг/кг веса. После окончания кондиционирования проводилась внутривенная реинфузия размороженных ПСКК в дозе 4,9–23,1×10⁶ CD34⁺ клеток/кг. Время госпитализации составило 15–24 дней, восстановление нейтрофилов $\geq 0,5 \times 10^9$ /л — 8–11 дней.

Подобная процедура была проведена 23 пациентам 13–31 лет с недавно диагностированным СД1 (≤ 6 недель) анти-GAD⁺ без признаков кетоацидоза: средний уровень гликемии составил 22 ммоль/л, средний уровень гликированного гемоглобина — 8,4%. Из 23 включенных в исследование пациентов у 20 удалось достичь отмены инсулина, из них 12 пациентов не нуждаются в инсулине до настоящего времени. В этой группе период наблюдения составил от 14 до 52 месяцев. У всех пациентов отмечена нормализация уровня HbA_{1c} и достоверное увеличение уровня С-пептида (0,8 нмоль/л перед трансплантацией и 2,9 нмоль/л через 3 года наблюдения), что свидетельствует о нормализации функции β -клеток.

У 8 пациентов была отмечена транзиторная отмена инсулина (от 6 до 47 месяцев), однако в настоящее время у них удается контролировать уровень сахара небольшими дозами инсулина, при этом отмечается значительное повышение уровня С-пептида (0,6 нмоль/л до трансплантации и 1,7 нмоль/л через 4 года наблюдения) [41, 42].

Побочные эффекты аутологичной трансплантации включали тошноту, рвоту, фебрильную нейтропению и 2 случая нозокомиальной пневмонии. Летальных исходов не было. К отдаленным осложнениям отнесены 1 случай аутоиммунного гипотиреоза, 1 случай диффузного токсического зоба, 1 случай гипергонадотропного гипогонадизма и 9 случаев транзиторной олигоспермии.

Необходимо особо отметить, что никакие другие варианты клеточной терапии, а также использование ИСТ или иммуномодуляторов, не приводит к таким длительным периодам отмены инсулина, как опубликованные выше данные с использованием аутологичной трансплантации СКК. В последние годы эти результаты подтверждаются рядом публикаций из других медицинских центров. В Университете Варшавы с использованием подобного протокола аутологичной трансплантации СКК у всех из 8 трансплантированных пациентов на ранних стадиях СД1 удалось добиться длительного периода отмены инсулина, у 7 из них этот период продолжается в среднем 6 месяцев после трансплантации [43].

В публикации исследователей из Китая у 70% пациентов с СД1 при отсутствии кетоацидоза после проведения аутологичной трансплантации СКК была достигнута отмена инсулина [44].

В апреле 2009 г. в медицинском центре Университета Чикаго было инициировано международное рандомизированное исследование по аутологичной трансплантации СКК при впервые выявленном СД1. Результаты, безусловно, будут способствовать определению эффективности и безопасности аутологичной трансплантации СКК при данном заболевании.

Заключение

Инсулинпродуцирующие клетки, полученные из СК, могли бы оказаться подходящим средством для лечения СД1 и СД2. Результаты проведенных к настоящему времени исследований предполагают, что как эмбриональные, так и взрослые СК могут являться потенциальным источником инсулинпродуцирующих клеток для аллогенной трансплантации [45–47]. Однако применение такого подхода ограничено иммунной системой, которая распознает и уничтожит любые инородные клетки, призванные восстановить углеводный обмен. Не лишено этого недостатка даже применение аллогенных эмбриональных СК [48]. Чтобы преодолеть этот барьер, предложено несколько различных подходов, в основном они направлены на модулирование иммунного ответа в патогенезе СД [49]. Тем не менее, приемлемого во всех отношениях решения еще не найдено.

Применение аутологичных инсулинпродуцирующих клеток, полученных из СК, кажется потенциально очень привлекательным и могло бы стать средством, благодаря которому удастся преодолеть большинство основных проблем, осложняющих клеточную терапию СД, таких как иммунное отторжение и недостаток подходящих доноров. Источником различных типов аутологичных СК могут являться ПЖ, периферическая, пуповинная кровь и др.

Исследования панкреатических полипотентных СК дали интересные результаты, однако дальнейшие исследования должны показать, есть ли они у пациентов с СД и какие механизмы могут стимулировать их дифференцировку *in vivo*. Также требуется установить механизмы, посредством которых происходит обратная дифференцировка экзокринных клеток для их терапевтического применения. Особый интерес представляет «перепрограммирование» дифференцированных экзокринных клеток в β -подобные клетки *in vivo* с использованием комбинации трех транскрипционных факторов: NEUROG3, Pdx1 и Mafk. Эти клетки схожи с β -клетками по своему размеру, форме и ультраструктуре и способны секретировать инсулин. Создание этих клеток подчеркивает возможность прямой трансдифференцировки клеток без предварительного трансформирования в мультипотентное состояние.

Индукция полипотентной СК может стать хорошей альтернативой выделению и дальнейшей управляемой дифференцировке панкреатической полипотентной СК. Большинство проводимых в настоящее время исследований нацелены на трансдифференцировку клеток *in vitro*. Более прямым путем был бы поиск полипотентной СК *in vivo* и разработка механизмов стимуляции дифференцировки. Если это невозможно, то индукция полипотентной СК может стать хорошим инструментом для создания инсулинсекретирующих β -подобных клеток. Однако для этого потребуются установить специфический механизм и факторы, посредством которых экзокринные клетки дифференцируются до полипотентной клетки.

Результаты с клетками печени многообещающие и менее противоречивые, чем с панкреатическими клетками. Учитывая, что клетки печени доступны для биопсии и способны к регенерации, это делает их хорошим кандидатом на источник для аутологичной трансплантации трансдифференцированных клеток. Однако для этого необходимо разработать технологию для культивирования *in vitro* трансдифференцированных клеток печени, а также найти способы их безопасной трансдифференцировки *in vivo* у людей.

Еще одним источником β -клеток могут стать индуцированные полипотентные СК. Перепрограммированные клетки способны дифференцироваться в инсулин-продуцирующие β -подобные клетки. Использование химических веществ, аденовирусных и эписомальных векторов для перепрограммирования различных типов клеток в ИПСК выглядит более перспективным для клинического применения, т.к. позволит избежать сложностей, связанных с применением у людей вирусов, необратимо встраивающих онкогены в геном.

Методика лечения с использованием мультипотентных СК, полученных из пуповинной крови, выглядит очень привлекательной, так как кажется относительно безопасной (СК не вводятся реципиенту, что, теоретически, исключает тератогенное действие), не требует иммуносупрессивной терапии, оказывает иммуномодулирующее действие, при этом банки пуповинной крови могут стать достаточным источником мультипотент-

ных СК. Однако в настоящее время эффективность этого метода у людей ограничена и не приводит к полной отмене инсулина, что требует дальнейшего изучения и оптимизации механизмов восстановления инсулинпродуцирующих клеток и процессов иммуномодуляции.

Существование в периферической крови инсулинпродуцирующих СК представляет особый интерес. На животных моделях после трансплантации этих клеток *in vivo* начинается продукция инсулина и происходит хоуминг этих клеток в островки. Это говорит о том, что они действуют как предшественники β -клеток. Эти клетки можно выделить и культивировать в достаточном количестве, применение ИПКПК безопасно, не вызывает реакций иммунного отторжения и этических противоречий. Оптимизация этого метода лечения с индуктором пролиферации β -клеток, например, таким как глюкагонподобный пептид (GLP-1) может значительно увеличить его терапевтический потенциал. Дальнейшие исследования позволят разработать подходы для аутологичной трансплантации ИПКПК в лечении диабета у людей.

Несмотря на впечатляющие клинические результаты по использованию высокодозной ИСТ и аутологичной трансплантации СКК при впервые выявленном СД1 (отмена инсулина, восстановление функции β -клеток, оцениваемое по уровню С-пептида), данный вид лечения имеет определенные ограничения. Остается очень высоким риск инфекционных осложнений, возможны летальные исходы трансплантации. Процедура аутологичной трансплантации СКК относится к высокочувствительным видам лечения и требует привлечения подготовленного высококвалифицированного персонала гематологов, трансфузиологов и реаниматологов. Кроме того, может вызвать трудности отбор пациентов в связи с требованием проведения трансплантации СКК в течение 6 недель после постановки диагноза.

Использование аутологичной трансплантации лишено основного недостатка аллогенной трансплантации – процесса иммунного отторжения трансплантата, однако проблема аутоиммунного процесса при СД1 остается все же до конца не решенной. Поэтому для достижения лучшего результата необходимо изучение возможности комбинирования этого метода с иммунотерапией [50,51]. Это позволит решить две основные задачи при СД1 – восстановить пул β -клеток и остановить аутоиммунный процесс.

Таким образом, клеточная терапия является одной из самых быстро развивающихся областей клинической и экспериментальной медицины. И, безусловно, при таком заболевании, как СД, большие надежды на достижение длительных ремиссий и выздоровление связаны с использованием клеточных, трансплантационных и молекулярно-генетических технологий.

Информация о конфликте интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикуемой статьей.

Список литературы

1. Дедов ИИ, Шестакова МВ. Сахарный диабет. Руководство для врачей. М; 2003. 455 с. [Dedov II, Shestakova MV. Diabetes mellitus. Rukovodstvo dlya vrachev. Moscow; 2003. 455 p.]
2. Vardanyan M, Parkin E, Gruessner C, Rodriguez Rilo HL. Pancreas vs. islet transplantation: a call on the future. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2010;15(1):124–130. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MOT.0b013e32833553f8>
3. Kelly WD, Lillehei RC, Merkel FK, Idezuki Y, Goetz FC. Allotransplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery*. 1967;61(6):827–837. PubMed PMID: 5338113.
4. Gruessner AC, Sutherland DE. Pancreas transplant outcomes for United States (US) cases as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR). *Clin Transpl*. 2008:45–56.
5. Lauria MW, Figueiró JM, Machado LJC, Sanches MD, Nascimento GF, Lana MQ, et al. Metabolic Long-Term Follow-Up of Functioning Simultaneous Pancreas-Kidney Transplantation Versus Pancreas Transplantation Alone: Insights and Limitations. *Transplantation*. 2010;89(1):83–87. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0b013e3181bd0f83>
6. White SA, Shaw JA, Sutherland DER. Pancreas transplantation. *The Lancet*. 2009;373(9677):1808–1817. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60609-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60609-7)
7. Scharp DW, Lacy P. Insulin independence after islet transplantation into type 1 diabetic patient. *Diabetes*. 1990;39(4):515–518. DOI: <http://dx.doi.org/10.2337/diab.39.4.515>
8. Robertson RP. Islet transplantation as a treatment for diabetes – a work in progress. *N Engl J Med*. 2004;350(7):694–705. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMr032425>
9. Zhao Y, Jiang Z, Zhao T, Ye M, Hu C, Yin Z, et al. Reversal of type 1 diabetes via islet β cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells. *BMC Med*. 2012;10(1):3–10. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-10-3>
10. Bonnerweir S. Life and Death of the Pancreatic β Cells. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2000;11(9):375–378. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00305-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00305-2)
11. Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic β -cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 2004;429(6987):41–46. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nature02520>
12. Петеркова ВА, Лаптев ДН. Перспективы терапии, направленной на восстановление пула β -клеток, при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 2009;(3):6–9. [Peterkova V, Laptev D. Prospects for therapy aimed at restoring the beta-cell pool in patients with diabetes mellitus (review of the literature). *Diabetes mellitus*. 2009; (3): 4–9.] DOI: <http://dx.doi.org/10.14341/2072-0351-5444>
13. Wang RN, Kloppel G, Bouwens L. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats. *Diabetologia*. 1995;38(12):1405–1411. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00400600>
14. Gmyr V, Kerr-Conte J, Belaich S, Vandewalle B, Leteurtre E, Vantuyghem MC, et al. Adult human cytokeratin 19-positive cells reexpress insulin promoter factor 1 in vitro: further evidence for pluripotent pancreatic stem cells in humans. *Diabetes*. 2000;49(10):1671–1680. DOI: <http://dx.doi.org/10.2337/diabetes.49.10.1671>
15. Furuyama K, Kawaguchi Y, Akiyama H, Horiguchi M, Kodama S, Kuhara T, et al. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. *Nat Genet*. 2011;43(1):34–41. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.722>
16. Solar M, Cardalda C, Houbracken I, Martín M, Maestro MA, De Medts N, et al. Pancreatic Exocrine Duct Cells Give Rise to Insulin-Producing β Cells during Embryogenesis but Not after Birth. *Developmental Cell*. 2009;17(6):849–860. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2009.11.003>
17. Xu X, D' Hoker J, Stangé G, Bonnè S, De Leu N, Xiao X, et al. Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. *Cell*. 2008;132(2):197–207. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.015>
18. Teta M, Rankin MM, Long SY, Stein GM, Kushner JA. Growth and regeneration of adult beta-cells does not involve specialized progenitors. *Developmental Cell*. 2007;12(5):817–826. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2007.04.011>
19. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663–676. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
20. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861–872. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.019>
21. Stadtfeld M, Hochedlinger K. Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. *Genes & Development*. 2010;24(20):2239–2263. DOI: <http://dx.doi.org/10.1101/gad.1963910>
22. Tateishi K, He J, Taranova O, Liang G, D' Alessio AC, Zhang Y. Generation of insulin-secreting islet-like clusters from human skin fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*. 2008;283(46):31601–31607. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M80659720>
23. Alipio Z, Liao W, Roemer EJ, Waner M, Fink LM, Ward DC, et al. Reversal of hyperglycemia in diabetic mouse models using induced-pluripotent stem (iPS)-derived pancreatic – like cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(30):13426–13431. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1007884107>
24. Maehr R, Chen S, Snitow M, Ludwig T, Yagasaki L, Golland R, et al. Generation of pluripotent stem cells from patients with type 1 diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(37):15768–15773. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0906894106>
25. Bar-Nur O, Russ HA, Efrat S, Benvenisty N. Epigenetic Memory and Preferential Lineage-Specific Differentiation in Induced Pluripotent Stem Cells Derived from Human Pancreatic Islet Beta Cells. *Cell Stem Cell*. 2011;9(1):17–23. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2011.06.007>
26. Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, Weir G, Hochedlinger K. Induced Pluripotent Stem Cells Generated Without Viral Integration. *Science*. 2008;322(5903):945–949. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1162494>
27. Golestaneh N, Kokkinaki M, Pant D, Jiang J, DeStefano D, Fernandez-Bueno C, et al. Pluripotent Stem Cells Derived From Adult Human Testes. *Stem Cells and Development* 2009;18(8):1115–1125. DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/scd.2008.0347>
28. Zhu S, Li W, Zhou H, Wei W, Ambasadhan R, Lin T, et al. Reprogramming of Human Primary Somatic Cells by OCT4 and

- Chemical Compounds. *Cell Stem Cell*. 2010;7(6):651–655. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2010.11.015>
29. Ber I, Shternhall K, Perl S, Ohanuna Z, Goldberg I, Barshack I, et al. Functional, Persistent, and Extended Liver to Pancreas Transdifferentiation. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(34):31950–31957. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M303127200>
 30. Yang L. Liver stem cell-derived β -cell surrogates for treatment of type 1 diabetes. *Autoimmunity Reviews*. 2006;5(6):409–413. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2005.10.009>
 31. Jones P, Courtney M, Burns C, Persaud S. Cell-based treatments for diabetes. *Drug Discovery Today*. 2008;13(19–20):888–893. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2008.06.014>
 32. Rocha V, Gluckman E. Improving outcomes of cord blood transplantation: HLA matching, cell dose and other graft- and transplantation-related factors. *Br J Haematol*. 2009;147(2):262–274. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07883.x>
 33. Haller MJ, Wasserfall CH, Hulme MA, Cintron M, Brusko TM, McGrail KM, et al. Autologous Umbilical Cord Blood Transfusion in Young Children With Type 1 Diabetes Fails to Preserve C-Peptide. *Diabetes Care*. 2011;34(12):2567–2569. DOI: <http://dx.doi.org/10.2337/dc11-1406>
 34. Zhao Y. Stem Cell Educator Therapy and Induction of Immune Balance. *Curr Diab Rep*. 2012;12(5):517–523. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11892-012-0308-1>
 35. Zhao Y, Wang YH, Mazzone T. Identification of stem cells from human umbilical cord blood with embryonic and hematopoietic characteristics. *Exp. Cell Res*. 2006;312(13):2454–2464. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2006.04.008>
 36. Gaber AO, Fraga D, Kotb M, Lo A, Sabek O, Latif K. Human islet graft function in NOD-SCID mice predicts clinical response in islet transplant recipients. *Transplantation Proceedings*. 2004;36(4):1108–1110. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2004.04.055>
 37. Kayali AG. The stromal cell-derived factor-1 / CXCR4 ligand-receptor axis is critical for progenitor survival and migration in the pancreas. *The Journal of Cell Biology*. 2003;163(4):859–869. DOI: <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.200304153>
 38. Tyndall A, Gratwohl A. Blood and marrow stem cell transplants in auto-immune disease: a consensus report written on behalf of the European League against Rheumatism (EULAR) and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant*. 1997;19(7):643–645. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bmt.1700727>
 39. Openshaw H. High-dose immunosuppression and hematopoietic stem cell transplantation in autoimmune disease: Clinical review. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2002;8(5):233–248. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/bbmt.2002.v8.pm12064360>
 40. Voltarelli JC, Couri C. Stem cell transplantation for type 1 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr*. 2009;1(1):4–4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1758-5996-1-4>
 41. Couri CEB, Oliveira MCB, Stracieri ABPL, Moraes DA, Pieroni F, Barros GMN, et al. C-Peptide Levels and Insulin Independence Following Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA*. 2009;301(15):1573–1579. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.470>
 42. Snarski E, Milczarczyk A, Torosian T, Paluszewska M, Urbanowska E, Król M, et al. Independence of exogenous insulin following immunoablation and stem cell reconstitution in newly diagnosed diabetes type I. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46(4):562–566. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/bmt.2010.147>
 43. Li L, Shen S, Ouyang J, Hu Y, Hu L, Cui W, et al. Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation Modulates Immunocompetent Cells and Improves β -Cell Function in Chinese Patients with New Onset of Type 1 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2012;97(5):1729–1736. DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-2188>
 44. Hussain MA, Theise ND. Stem-cell therapy for diabetes mellitus. *Lancet*. 2004;364(9429):203–205. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16635-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16635-X)
 45. Vats A, Bielby RC, Tolley NS, Nerem R, Polak JM. Stem cells. *The Lancet* 2005;366(9485):592–602. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66879-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66879-1)
 46. D'Amour KA, Bang AG, Eliazer S, Kelly OG, Agulnick AD, Smart NG, et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*. 2006;24(11):1392–1401. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt1259>
 47. Bradley JA, Bolton EM, Pedersen RA. Stem cell medicine encounters the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(11):859–871. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nri934>
 48. Melton DA, Daley GQ, Jennings CG. Altered nuclear transfer in stem-cell research—a flawed proposal. *N. Engl. J. Med*. 2004;351:2791–2792. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMp048348>
 49. Лаптев ДН. Иммуноterapia сахарного диабета 1 типа: современное состояние проблемы и ее перспективы (часть 1). *Проблемы эндокринологии*. 2009;4:24–33. [Laptev DN. Immunotherapy for type 1 diabetes: state-of-the-art and prospects. Part 1. *Problemy Endokrinologii*. 2009;5(4):24–34.] DOI: <http://dx.doi.org/10.14341/probl200955424-34>
 50. Лаптев ДН. Иммуноterapia сахарного диабета 1 типа: современное состояние проблемы и ее перспективы (часть 2). *Проблемы эндокринологии*. 2009;5:31–38. [Laptev DN. Immunotherapy of type 1 diabetes mellitus: current state-of-the-art and prospects. Part 2. *Problemy Endokrinologii*. 2009;5(5):31–38.] DOI: <http://dx.doi.org/10.14341/probl200955531-38>

Дедов Иван Иванович
Лисуков Игорь Андреевич

Лаптев Дмитрий Никитич

академик РАН, директор ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
д.м.н., профессор, директор Центра онкогематологии и трансплантологии ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург
к.м.н., старший научный сотрудник Института детской эндокринологии, ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
E-mail: laptevdn@ya.ru