

**Повышение радикальности операций при опухолях печени
и поджелудочной железы**
Increasing the radicality of surgery for liver and pancreatic tumors

ISSN 1995-5464 (Print); ISSN 2408-9524 (Online)
<https://doi.org/10.16931/1995-5464.2022-3-46-54>

**Выделение островковых клеток из
поджелудочной железы после панкреатэктомии.
Показания, методика, оценка результатов**

Загайнов В.Е.^{1, 2*}, Кучин Д.М.^{1, 3}, Ермакова П.С.¹, Васильчикова Е.А.⁴,
Луговая Л.А.¹, Наралиев Н.У.¹, Кашина А.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России;
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, Российская Федерация

² ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер»;
603163, Нижний Новгород, ул. Деловая, д. 11/1, Российская Федерация

³ ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко»;
603126, Нижний Новгород, Нижегородский р-н, ул. Родионова, д. 190, Российская Федерация

⁴ ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»;
603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, Российская Федерация

Цель. Разработать и внедрить способ выделения островков Лангерганса из ткани поджелудочной железы после панкреатэктомии с последующей аутотрансплантацией.

Материал и методы. Использовали 10 образцов поджелудочной железы минипигов Визенау, 30 образцов поджелудочной железы крыс Вистар, 8 образцов поджелудочной железы человека, полученных при резекции, и 5 образцов поджелудочной железы человека, полученных при обширной резекции или панкреатэктомии.

Результаты. Получены свободные от ацинарной ткани островки Лангерганса экспериментальных животных и человека. При использовании протокола с механическим способом изоляции эффективность выделения островков Лангерганса человека и экспериментальных животных составила 50%. Были подтверждены принадлежность выделенных клеток к островкам Лангерганса, их чистота. Выживаемость островков после выделения превысила 90%. При иммуноферментном анализе на синтез инсулина установлено, что выделенные островки Лангерганса остаются функционально активными. Стерильность выделенных островковых клеток подтверждена.

Заключение. Отработанная технология изоляции позволяет получить чистые, стерильные, жизнеспособные и функционально активные островковые клетки, пригодные для дальнейшей аутотрансплантации.

Ключевые слова: поджелудочная железа, резекция, панкреатэктомия, сахарный диабет, островки Лангерганса, аутотрансплантация

Ссылка для цитирования: Загайнов В.Е., Кучин Д.М., Ермакова П.С., Васильчикова Е.А., Луговая Л.А., Наралиев Н.У., Кашина А.В. Выделение островковых клеток из поджелудочной железы после панкреатэктомии. Показания, методика, оценка результатов. *Анналы хирургической гепатологии*. 2022; 27 (3): 46–54.
<https://doi.org/10.16931/1995-5464.2022-3-46-54>

Авторы подтверждают отсутствие конфликтов интересов.

Islet isolation from the pancreas after pancreatectomy.
Indications, methodology, evaluation of results

Zagainov V.E.^{1, 2*}, Kuchin D.M.^{1, 3}, Ermakova P.S.¹, Vasilchikova E.A.⁴,
Lugovaia L.A.¹, Naraliev N.U.¹, Kashina A.V.¹

¹ Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 10/1, Minin and Pozharsky pl., Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation

² State Budgetary Healthcare Institution “Nizhny Novgorod Regional Clinical Oncological Dispensary”; 11/1, Delovaya str., Nizhny Novgorod, 603163, Russian Federation

³ Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital named after N.A. Semashko; 190, Rodionova str., Nizhny Novgorod, 603126, Russian Federation

⁴ Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod; 23 Gagarin ave., Nizhny Novgorod, 603022, Russian Federation

Aim. To develop and implement a method for isolating the islets of Langerhans from pancreatic tissue after pancreatectomy with islet autotransplantation.

Materials and Methods. The study used ten Wiesenau miniature pig pancreases, 30 Wistar rat pancreases, eight resected human pancreases, and five human pancreases from extensive resection or pancreatectomy.

Results. Islets of Langerhans completely devoid of human and experimental animals' acinar tissue were obtained. When using the protocol for mechanical isolation, the efficiency of isolating the islets of Langerhans in humans and experimental animals was 50%. The research proved that the isolated cells belonged to the islets of Langerhans. Additionally, their purity was confirmed. The survival of the isolated islets exceeded 90%. The enzyme immunoassay for insulin synthesis showed that the isolated islets of Langerhans remained functionally active. The sterility of the isolated islet cells was confirmed.

Conclusion. This proven isolation technology makes it possible to obtain pure, sterile, viable, and functionally active islet cells suitable for further autotransplantation.

Keywords: pancreas, resection, pancreatectomy, diabetes mellitus, islets of Langerhans, autotransplantation

For citation: Zagainov V.E., Kuchin D.M., Ermakova P.S., Vasilchikova E.A., Lugovaia L.A., Naraliev N.U., Kashina A.V. Islet isolation from the pancreas after pancreatectomy. Indications, methodology, evaluation of results. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB surgery*. 2022; 27 (3): 46–54. <https://doi.org/10.16931/1995-5464.2022-3-46-54> (In Russian)

The authors declare no conflict of interest.

● Введение

В настоящее время панкреатэктомия является операцией выбора при хронических воспалительных и мультифокальных поражениях поджелудочной железы (ПЖ). Операция радикальна и при хроническом панкреатите избавляет от выраженного болевого синдрома и потребности в применении наркотических анальгетиков. При мультифокальном опухолевом и предопухолевом поражении является методом выбора. Сдерживающим фактором широкого применения панкреатэктомии является послеоперационный панкреатогенный сахарный диабет, требующий подбора заместительной инсулинотерапии. Несмотря на прогресс технических средств доставки инсулина (продленные формы, помповое дозирование), полной компенсации и профилактики фатальных гипогликемических состояний добиться не удастся. Наиболее эффективным вариантом профилактики гипогликемических состояний является собственная секреция инсулина инсулинпродуцирующими клетками. Для этого разработана технология выделения островков Лангерганса (ОЛ) и их введение в виде аутотрансплантации. Аутотрансплантацию ОЛ ПЖ применяют чаще всего при хроническом болевом панкреатите, их вводят преимущественно в воротную вену [1–4]. При этом исключена аутоиммунная реакция и нет необходимости в иммуносупрессии в посттрансплантационном периоде. Число подобных оперативных вмешательств в последнее время увеличивается [5–6]. Абсолютное большинство центров демонстрируют отсутствие летальных исходов, при общем анализе летальность не пре-

вышает 1% [7]. Считают, что операция показана пациентам, которые удовлетворяют следующим критериям [1, 2].

1. Хронический панкреатит с болевым синдромом >6 мес при наличии одного из признаков:

- кальцинаты в ПЖ при КТ;
- не менее двух из следующих признаков: ≥4 критерия эндо-УЗИ из 9; изменения протоков и паренхимы ПЖ при МРХПГ; изменения в эндоскопическом тесте функции ПЖ (пиковое значение $\text{HCO}_2 \leq 80 \text{ mM}$);
- хронический панкреатит, подтвержденный гистологическим исследованием;
- соответствующий анамнез и подтвержденный наследственный панкреатит (мутация гена PRSS1) или рецидивирующие приступы острого панкреатита в анамнезе — более одного эпизода приступа характерной боли в сочетании с изменениями при инструментальных исследованиях и (или) увеличение амилазы или липазы в ≥3 раза.

2. Один из следующих признаков:

- ежедневная потребность в наркотических анальгетиках;
- ухудшение качества жизни, связанное с болевым синдромом, — невозможность посещать учебное заведение, неоднократные госпитализации, невозможность совершать деятельность, соответствующую возрасту.

3. Подтвержденный в настоящее время или не излеченный панкреатит без явной причины.

4. Отсутствие эффекта от медикаментозной терапии и эндоскопических методов лечения.

5. Адекватное функционирование ОЛ (отсутствие диабета или положительный С-пептид).

В настоящее время по мере накопления опыта наметилась смена парадигмы в оценке эффективности трансплантации островковых клеток (ТОК). Ранее целью ТОК считали достижение и максимальную продолжительность независимости от инсулина. В настоящее время ТОК рассматривают как лечение недостаточной функции β -клеток, независимо от этиологии, если у пациента лабильное течение сахарного диабета с приступами гипогликемии или гипергликемией, несмотря на оптимизированную медицинскую помощь. Использование инсулина после трансплантации ПЖ или островковых клеток не свидетельствует о потере функции трансплантата. Для поддержания гликемии пациентам могут потребоваться низкие дозы экзогенного инсулина, нормализующие уровень глюкозы крови, которого возможно достичь, когда часть потребности в инсулине обеспечивается эндогенно из функционирующего трансплантата.

Оптимальная функция трансплантата β -клеток определяется наличием близкого к нормальному гликемическому профилю, оцениваемому по уровню гликированного гемоглобина (HbA1c) $\leq 6,5\%$, отсутствием тяжелой гипогликемии, отсутствием потребности в экзогенном инсулине и увеличением по сравнению с предтрансплантационным уровнем С-пептида [5]. Результативность трансплантации островков после дуоденопанкреатэктомии также оценивают на основании изменения качества жизни: исчезновение болевого синдрома и уменьшение потребности в опиоидах, профилактика гипогликемии. Достижение независимости от инсулина не является целью. Число пациентов, избавившихся от наркотической зависимости после панкреатэктомии с аутотрансплантацией островков, варьирует от 35 до 100% (в среднем $>60\%$) в период наблюдения 12–24 мес. Остальные пациенты отмечали значительное уменьшение дозы опиоидов и переход с ежедневного приема обезболивающих препаратов на эпизодическое. Результаты проведенного анализа шкалы боли показали изменение значения с 60–100 (из 100) баллов до 8–20 в течение года. Этот эффект может сохраняться продолжительное время [8]. Примерно 73% пациентов сохраняют независимость от анальгетиков >5 лет.

При злокачественных опухолях ПЖ в настоящее время ТОК не входит в стандарты лечения. Существуют лишь ограниченные сведения о безопасности такой терапии [9, 10]. Не исключен риск распространения опухолевых клеток инфузией взвеси ОЛ, которые могут содержать некоторое число экзокринных клеток даже после очистки [11].

Исследование безопасности трансплантации ОЛ на животных было проведено в 2019 г. Мышам трансплантировали клетки опухоли пациента

и выделенные ОЛ из участков ПЖ пациентов без опухоли. Локальное и отдаленное распространение злокачественных клеток после выделения ОЛ отсутствовало [12]. В другом исследовании мышам дикого типа ввели экзокринную ткань и ОЛ мутантных мышей с аденокарциномой ПЖ. Были показаны низкий риск передачи злокачественной опухоли при трансплантации экзокринной ткани и отсутствие риска при трансплантации ОЛ [13].

В Научно-исследовательском институте диабета Сан-Рафаэля (HSR-DRI) исследованы результаты ауто-ТОК у 17 больных злокачественными опухолями и 14 пациентов с доброкачественными новообразованиями ПЖ. Безрецидивная и общая выживаемость после ауто-ТОК была не меньше, чем у пациентов, перенесших панкреатэктомию без ТОК в течение того же периода [14]. Описано несколько наблюдений, в которых пациентам с опухолями ПЖ после панкреатэктомии была выполнена ауто-ТОК. Продемонстрировано преимущество в долгосрочной выживаемости этой группы больных по сравнению с пациентами, которым ТОК не выполняли [15].

● Материал и методы

Исследование получило одобрение локального этического комитета Приволжского исследовательского медицинского университета. Все исследования с образцами ПЖ экспериментальных животных и человека были одобрены локальным этическим комитетом ПИМУ (протокол №10 от 26.06.2020).

Апробация и постановка метода выделения жизнеспособных ОЛ механическим путем. Для постановки метода выделения ОЛ использовано 10 образцов ПЖ минипигов Визенау, 30 образцов ПЖ крыс Вистар, 8 образцов ПЖ человека, полученных в результате резекции, и 5 образцов ПЖ человека, полученных при обширной резекции. Для выделения ОЛ применяли следующий способ с некоторыми модификациями в зависимости от источника получения ПЖ. В ткань ПЖ вводили раствор коллагеназы V (Collagenase from Clostridium histolyticum, Sigma, США) или смесь коллагеназы NB1 и нейтральной протеазы NB (Nordmark Arzneimittel & Co. KG, Германия) в измененном растворе Хэнкса, обогащенном CaCl_2 , с дальнейшей фрагментацией и ферментативным перевариванием панкреатической ткани. Каждые 5 мин в течение 20–30 мин проводили мониторинг процесса ферментирования ткани с использованием окрашивания дитизоном (ВЕКОС, Россия). Важно отметить, что в зависимости от первоначального качества ткани ПЖ время ферментирования может варьировать от 20 до 60 мин. Очистку ОЛ от экзокринной ткани осуществляли фильтрованием через металлическое сито с диаметром ячеек 0,5 мм.

В дальнейшем разделяли эндокринную и экзокринную часть серий центрифугирований 200–300 g/10 мин в градиентах плотности Ficoll DL-400 (1,095, 1,084 и 1,072, 1,048 мг/л; Sigma, США). Для подтверждения принадлежности очищенных клеток к ОЛ проводили окрашивание дитизоном (0,5 мл суспензии ОЛ и 20 мкл свежеприготовленного 1% дитизона). Окрашивание дитизоном рассматривали в микроскопе Leica DM2500 (Германия). Выделенные ОЛ поддерживали в культуральной среде RPMI или CMRL (Gibco, Великобритания) с низким уровнем глюкозы с добавлением L-глутамина (0,58 мг/мл; ПанЭко, Россия), 10% FBS (Gibco, Великобритания), антибиотика-антимикотика (Antibiotic-Antimycotic X100 Thermo Scientific, США) при температуре 37 °C и 5% CO₂.

Функциональная принадлежность и жизнеспособность ОЛ. Жизнеспособность выделенных островковых клеток оценивали с использованием набора Live/Dead Cell Double Staining Kit (Sigma-Aldrich, США) согласно стандартному протоколу. Функциональную принадлежность исследовали окрашиванием на антитела к инсулину 1:100 (Anti-Insulin, AlexaFluor 488, Invitrogen) и глюкагону 1:10 (Anti-Glucagon, eFluor 570, Invitrogen) в соответствии с рекомендациями производителя. Ядра окрашивали DAPI (BioLegend, США). Исследование проводили на конфокальном флуоресцентном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия). Для определения кальцина-АМ флуоресценцию возбуждали на длине волны 488 нм с последующим определением в диапазоне 500–549 нм. Флуоресценцию пропидий йодида возбуждали на длине волны 543 нм с последующим определением в диапазоне 611–700 нм. Флуоресценцию антител к инсулину возбуждали на длине волны 488 нм с последующим определением в диапазоне 500–598 нм. Флуоресценцию антител к глюкагону возбуждали на длине волны 543 нм с последующим определением в диапазоне 568–712 нм. Флуоресценцию DAPI возбуждали на длине волны 405 нм с последующим определением в диапазоне 426–500 нм.

Функциональную активность ОЛ (синтез инсулина) оценивали с помощью иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора ELISA Kit for Insulin (Cloud-clone corp., США) согласно протоколу производителя. Для анализа использовали культуральную среду, собранную через 1 и 3 дня инкубации 350 ОЛ в стандартной культуральной среде и при стимуляции глюкозой. Для проведения теста на стимуляцию глюкозой 350 ОЛ инкубировали 1 час в растворе Кребса 0 мМоль глюкозы для реактивации ОЛ. После этого ОЛ инкубировали 1 час в растворе Кребса 3 мМоль глюкозы (базовая линия) и 1 час в растворе Кребса 16 мМоль

глюкозы. На основе полученных данных рассчитывали показатель SI — соотношение секреции инсулина при высоком и низком уровне глюкозы.

● Результаты

Описанным способом были получены свободные от ацинарной ткани островковые клетки экспериментальных животных — свиньи и крысы, а также человека — при резекции ПЖ (рис. 1). При использовании протокола с механическим способом изоляции эффективность выделения ОЛ человека и экспериментальных животных составила 50%. Была подтверждена принадлежность выделенных клеток к ОЛ специфическим окрашиванием дитизоном (рис. 2). Функциональная принадлежность ОЛ установлена при окрашивании антителами на инсулин и глюкагон. Выживаемость островков после выделения составила >90% (рис. 3). Более 90% ОЛ лабораторных животных также остаются жизнеспособными как после выделения, так и в течение 3 дней. Иммуноферментным анализом (ELISA Kit for Insulin, Cloud-clone corp.) на синтез инсулина установлено, что ОЛ функционально активны. За 1 день инкубации в культуральной среде 350 ОЛ синтезируют 68 пг/мл инсулина, в то время как за 3 дня количество вырабатываемого инсулина увеличивается до 180 пг/мл. В первый день инкубации SI соответствует 1,2 у.е., что свидетельствует о недостаточном восстановлении ОЛ после выделения, однако на 3-й день SI увеличивается до 2,1 у.е., что подтверждает восстановление функциональной активности ОЛ и их нормальной реакции на сти-

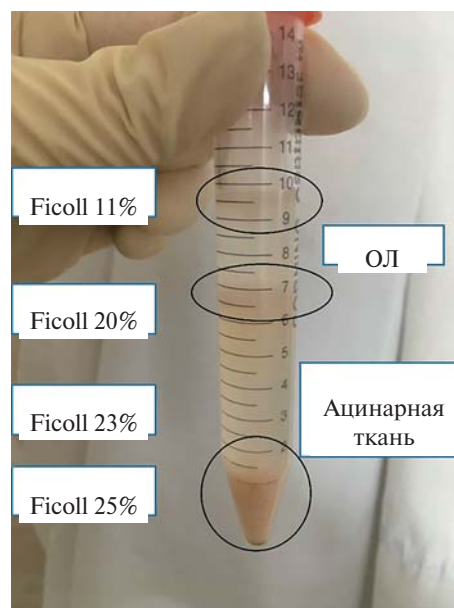


Рис. 1. Разделившиеся фракции при очистке ОЛ.

Fig. 1. Separated fractions during the cleaning of the islets of Langerhans.

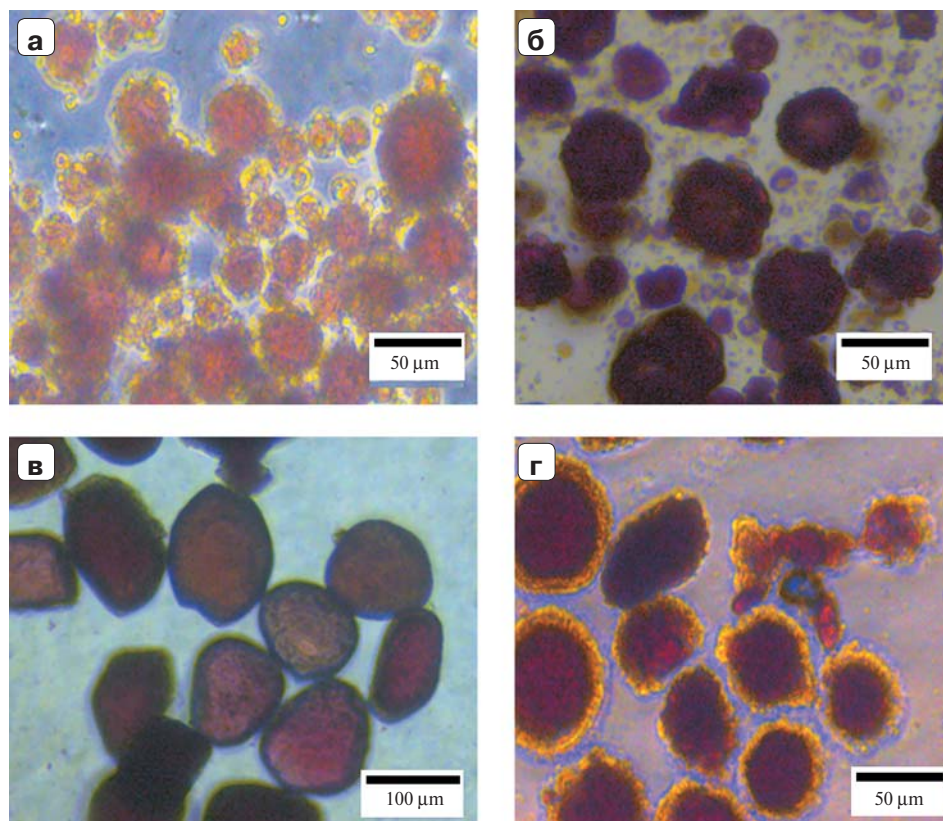


Рис. 2. Микрофото. Оценка принадлежности выделенных клеток к ОЛ: **а** — островковые клетки ПЖ человека после резекции; **б** — островковые клетки ПЖ человека после обширной резекции; **в** — островковые клетки ПЖ свиньи; **г** — островковые клетки ПЖ крысы. Окрашивание дитизоном.

Fig. 2. Microphotograph. Identification of the isolated cells as belonging to the islets of Langerhans: **a** — human pancreatic islet cells after resection; **б** — human pancreatic islet cells after extensive resection; **в** — porcine pancreatic islet cells; **г** — rat pancreatic islet cells. Dithizone staining.

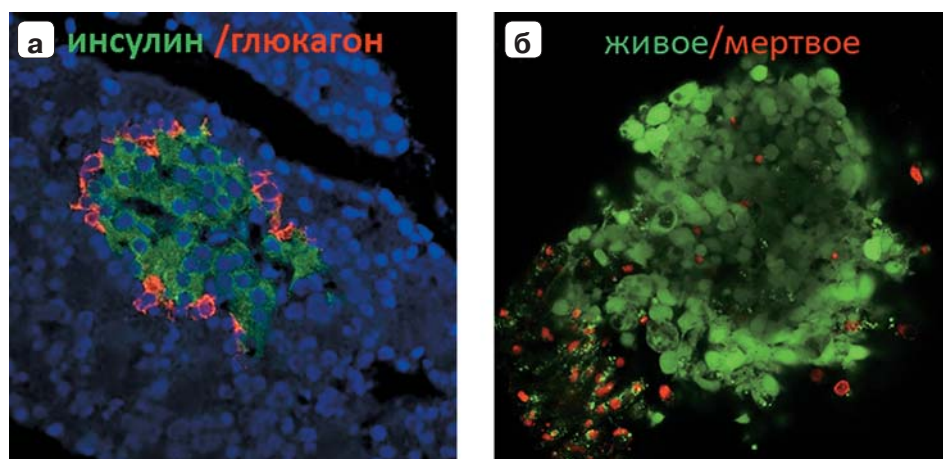


Рис. 3. Микрофото. Оценка функциональной принадлежности и жизнеспособности ОЛ: **а** — окрашивание на функциональную принадлежность антителами к глюкагону (красное) и к инсулину (зеленое), ядра — синие; **б** — окрашивание на жизнеспособность кальцином-АМ (зеленое) и йодидом пропидия (красное). Размер изображений 213 × 213 мкм.

Fig. 3. Microphotograph. Evaluation of the functional affiliation and viability of the islets of Langerhans: **a** — staining for functional affiliation with antibodies to glucagon (red) and insulin (green), nuclei — blue; **б** — viability staining with Calcein-AM (green) and propidium iodide (red). Image size 213 × 213 μm.

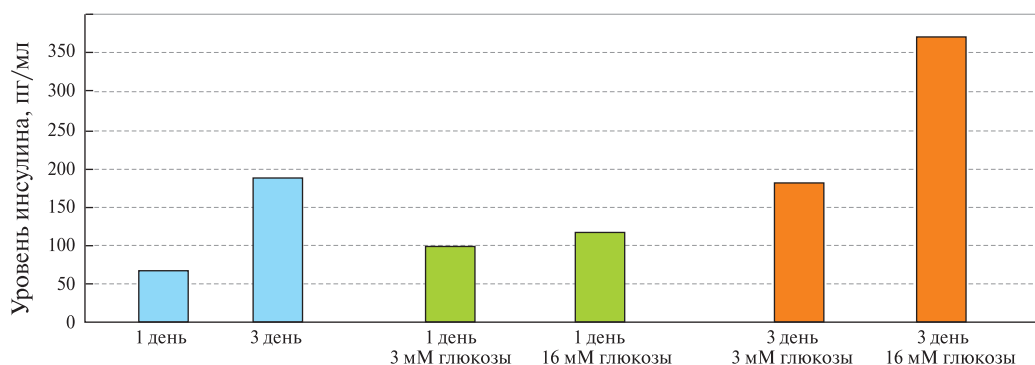


Рис. 4. Диаграмма. Изменение уровня синтеза инсулина ОЛ на 1-й и 3-й дни инкубации и при стимуляции глюкозой 3 мМоль и 16 мМоль ($m \pm M$).

Fig. 4. Graph. Changes in the level of insulin synthesis by the islets of Langerhans on the first and the third days of incubation and through stimulation with 3 mM and 16 mM ($m \pm M$) of glucose.

муляцию глюкозой (рис. 4). Бактериологический анализ и анализ на содержание микоплазм подтвердили стерильность выделенных ОЛ.

Таким образом, показано, что отработанная технология изоляции позволяет получить чистые, стерильные, жизнеспособные и функционально активные островковые клетки, пригодные для введения пациенту в режиме аутотрансплантации.

● Обсуждение

Доступны подробные процедуры получения очищенных партий островковых клеток ПЖ человека, пригодных для клинической трансплантации, которые детализируют каждый этап (от выбора донора до контроля качества выделенных островковых клеток до трансплантации) [16]. Процесс изоляции островков начинается в ходе эксплантации. Изоляция островковых клеток должна осуществляться в специальном оборудованном и сертифицированном помещении [17]. Первым этапом является отделение и очистка ПЖ от органов. Вторым этапом является разрушение экзокринной паренхимы ПЖ путем инфузии смеси ферментов нейтральной протеазы NB (активность $\geq 1,6$ Ед/мг) и коллагеназы NB1 (активность $\geq 5,52$ Ед/мг) в проток ПЖ при 37 °С. На третьем этапе ПЖ рекомендуется расщепить на 8–10 кусочков, поместить в камеру Рикорди (Bioger Technologies, США), содержащую 7–9 силиконовых шариков, и инкубировать 20–25 мин при 37 °С. После железу подвергают механической перфузии средой с использованием перистальтического насоса. На стадии очистки сепарирование изолированных островковых комплексов от экзокринной составляющей осуществляют центрифугированием с градиентов плотности Ficoll DL-400 (1,110, 1,096 и 1,069 мг/л), Histopaque-1077 или йодиксанола и суспензии клеток [18]. Конечный препарат островков инкубируют в культуральной среде в течение 24–72 ч, что приводит к повышению

очистки, в том числе от мертвых/апоптотических клеток и их метаболитов, для предотвращения неспецифического воспаления после трансплантации. Только образцы с чистотой $>50\%$ будут одобрены для пересадки. Островковые эквиваленты (IEQ) определяют по оценке диаметра островков. Трансплантация возможна, если IEQ составляет >5000 экв/кг массы тела реципиента, при максимальном объеме 5–10 мл. Жизнеспособность островков определяют окрашиванием образцов ткани [18]. Партия островков пригодна для трансплантации, если ее жизнеспособность $>80\%$. Функцию островков оценивают измерением количества инсулина, выделяемого после инкубации с низкими и высокими концентрациями глюкозы, расчетом индекса стимуляции (SI). Функциональные островки должны иметь $SI > 1$. Стерильность оценивают с помощью тестов на бактериальные культуры, микоплазму и эндотоксины. Принадлежность выделенных клеток к ОЛ определяют методом окрашивания дитизоном [18].

Несмотря на множество известных протоколов изоляции, остается немало сложностей и вопросов на каждом этапе. В этой работе основывались на стандартных протоколах выделения, добавив собственные модификации. Изменения в методике изоляции островковых клеток экспериментальных животных касались уменьшения концентрации коллагеназы V до 0,1–0,2% при незначительном увеличении времени ферментативной обработки до 20 мин. Согласно данным других авторов, концентрация коллагеназы составляет 0,5–2% при времени ферментации 8–15 мин [19]. Также ферментативный буфер содержал дополнительно 0,6 мМоль CaCl_2 для поддержания стабильности работы коллагеназы [20]. Стоит отметить, что эта модификация позволила не только получить сопоставимые количества свободных от экзокринной ткани островков [21], но и сократить количество используе-

мого фермента. Автоматизированный метод остается центральной технологией изоляции ОЛ человека. Возможно применение полуавтоматического и механического методов для выделения островковых клеток. В обсуждаемом исследовании при отработке технологии получения ОЛ человека, полученных при обширной резекции ПЖ, основным отличием было получение сравнимого числа островковых эквивалентов с чистотой очистки от экзокринной ткани 50% с применением механического способа изоляции [22]. Предполагаем, что дальнейшее применение автоматизированного метода, который будет осуществляться на разработанной нами установке на основе камеры Рикорди, позволит получить большую долю выхода островковых клеток с необходимой степенью чистоты для трансплантации пациенту.

● Заключение

Аутоотрансплантация ОЛ является многообещающим методом лечения пациентов с хроническими воспалительными и мультифокальными поражениями ПЖ. Внедрение эффективной и безопасной технологии изоляции аутологичных ОЛ значительно расширит возможности хирургического лечения пациентов с хроническим болевым панкреатитом и больных доброкачественными мультифокальными заболеваниями ПЖ в РФ. Применение метода при злокачественных новообразованиях ПЖ требует дальнейшего изучения.

Дополнительная информация

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения РФ (государственное задание АААА-А20-120022590096-6 по теме “Создание технологии инкапсуляции островков поджелудочной железы для компенсации абсолютных инсулиндефицитных состояний”).

Участие авторов

Загайнов В.Е. — концепция и дизайн статьи, сбор и обработка материалов, написание текста статьи, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи.

Кучин Д.М. — концепция и дизайн статьи, редактирование, написание текста статьи.

Ермакова П.С. — сбор и обработка материалов, написание текста.

Васильчикова Е.А. — сбор и обработка материалов, написание текста.

Луговая Л.А. — написание текста статьи.

Наралиев Н.У. — написание текста статьи.

Кашина А.В. — концепция и дизайн статьи, сбор и обработка материалов, статистическая обработка данных, написание текста статьи.

Authors contributions

Zagainov V.E. — concept and design of the article, collection and processing of materials, writing text, editing, approval of the final version of the article.

Kuchin D.M. — concept and design of the article, editing, writing text.

Ermakova P.S. — collection and processing of materials, writing text.

Vasilchikova E.A. — collection and processing of materials, writing text.

Lugovaya L.A. — writing text.

Naraliev N.U. — writing text.

Kashina A.V. — concept and design of the article, collection and processing of materials, statistical analysis, writing text.

● Список литературы [References]

1. Zureikat A.H., Nguyen T., Boone B.A., Wijkstrom M., Hogg M.E., Humar A., Zeh H. 3rd. Robotic total pancreatectomy with or without autologous islet cell transplantation: replication of an open technique through a minimal access approach. *Surg. Endosc.* 2015; 29 (1): 176–183. <https://doi.org/10.1007/s00464-014-3656-x>
2. Sutherland D.E., Radosevich D.M., Bellin M.D., Hering B.J., Beilman G.J., Dunn T.B., Chinnakotla S., Vickers S.M., Bland B., Balamurugan A.N., Freeman M.L., Pruett T.L. Total pancreatectomy and islet autotransplantation for chronic pancreatitis. *J. Am. Coll. Surg.* 2012; 214 (4): 409–424; discussion 424–426. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2011.12.040>
3. Berger M., Beilman G.J., Dunn T., Sutherland D., Chinnakotla S. Total pancreatectomy and islet auto-transplantation for chronic painful pancreatitis: an overview. *Int. J. Transplant. Res. Med.* 2015; 1: 014. <https://doi.org/10.23937/2572-4045.1510014>
4. Zhang Y.J., Duan D.D., Yuan H. Efficacy and safety of islet autotransplantation after total pancreatectomy in chronic pancreatitis: a systematic review and meta-analysis including 17 studies. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2020; 44 (4): 598–608. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2019.08.004>
5. Загайнов В.Е., Мелешина А.В., Корнева К.Г., Васенин С.А., Загайнова Е.В. Трансплантационные технологии для лечения нарушений углеводного обмена. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2020; 22 (1): 184–195. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-1-184-195>
6. Bellin M.D., Balamurugan A.N., Pruett T.L., Sutherland D.E. No islets left behind: islet autotransplantation for surgery-induced diabetes. *Curr. Diab. Rep.* 2012; 12 (5): 580–586. <https://doi.org/10.1007/s11892-012-0296-1>
7. Savari O., Golab K., Wang L.J., Schenck L., Grose R., Tibudan M., Ramachandran S., Chon W.J., Posner M.C., Millis J.M., Matthews J.B., Gelrud A., Witkowski P. Preservation of beta cell function after pancreatic islet autotransplantation: University of Chicago experience. *Am. Surg.* 2015; 81 (4): 421–427. PMID: 25831191
8. Fan C.J., Hirose K., Walsh C.M., Quartuccio M., Desai N.M., Singh V.K., Kalyani R.R., Warren D.S., Sun Z., Hanna M.N.,

- Makary M.A. Laparoscopic total pancreatectomy with islet autotransplantation and intraoperative islet separation as a treatment for patients with chronic pancreatitis. *JAMA Surg.* 2017; 152 (6): 550–556. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2016.5707>
9. Aleotti F., Nano R., Piemonti L., Falconi M., Balzano G. Total pancreatectomy sequelae and quality of life: results of islet autotransplantation as a possible mitigation strategy. *Updates Surg.* 2021; 73 (4): 1237–1246. <https://doi.org/10.1007/s13304-021-01129-w>
 10. Chaouch M.A., Leon P., Casese G., Aguilhon C., Khayat S., Panaro F. Total pancreatectomy with intraportal islet autotransplantation for pancreatic malignancies: a literature overview. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2022; 22 (4): 491–497. <https://doi.org/10.1080/14712598.2022.1990261>
 11. Jabłońska B., Mrowiec S. Total pancreatectomy with autologous islet cell transplantation – the current indications. *J. Clin. Med.* 2021; 10 (12): 2723. <https://doi.org/10.3390/jcm10122723>
 12. Renaud F., Chetboun M., Thevenet J., Delalleau N., Gmyr V., Hubert T., Bonner C., Messenger M., Leteurtre E., Mariette C., Kerr-Conte J., Piessen G., Pattou F. Safety of islet autotransplantation after pancreatectomy for adenocarcinoma. *Transplantation.* 2019; 103 (1): 177–181. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002419>
 13. Dugnani E., Pasquale V., Liberati D., Citro A., Cantarelli E., Pellegrini S., Marra P., Canu T., Balzano G., Scavini M., Esposito A., Doglioni C., Piemonti L. Modeling the iatrogenic pancreatic cancer risk after islet autotransplantation in mouse. *Am. J. Transplant.* 2017; 17 (10): 2720–2727. <https://doi.org/10.1111/ajt.14360>
 14. Balzano G., Maffi P., Nano R., Zerbi A., Venturini M., Melzi R., Mercalli A., Magistretti P., Scavini M., Castoldi R., Carvello M., Braga M., Del Maschio A., Secchi A., Staudacher C., Piemonti L. Extending indications for islet autotransplantation in pancreatic surgery. *Ann. Surg.* 2013; 258 (2): 210–218. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31829c790d>
 15. Yadav K.D., Huang X., Zhang Q., Zhang G., Bai X., Liang T. Auto-intestine transplantation for pancreatic tumors with mesenteric root involvement: a systematic review and survival-based analysis. *J. Pancreatol.* 2021; 4 (4): 153–163. <https://doi.org/10.1097/JP9.0000000000000081>
 16. Shapiro A.M., Pokrywczynska M., Ricordi C. Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2017; 13 (5): 268–277. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.178>
 17. Rheinheimer J., Bauer A.C., Silveiro S.P., Estivalet A.A., Bouças A.P., Rosa A.R., Souza B.M., Oliveira F.S., Cruz L.A., Brondani L.A., Azevedo M.J., Lemos N.E., Carlessi R., Assmann T.S., Gross J.L., Leitão C.B., Crispim D. Human pancreatic islet transplantation: an update and description of the establishment of a pancreatic islet isolation laboratory. *Arch. Endocrinol. Metab.* 2015; 59 (2): 161–170. <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000030>
 18. Ansie J., Balamurugan A.N., Barbaro B., Battle J., Brandhorst D., Cano J., Chen X., Deng S., Feddersen D., Friberg A., Gilmore T., Goldstein J.S., Holbrook E., Khan A., Kin T., Lei J., Linetsky E., Liu C., Luo X., McElvaney K., Min Z., Moreno J., O’Gorman D., Papas K.K., Putz G., Ricordi C., Szot G., Templeton T., Wang L., Wilhelm J.J., Willits J., Wilson T., Zhang X.: NIH CIT Consortium Chemistry Manufacturing Controls Monitoring Committee; NIH CIT Consortium. Purified Human Pancreatic Islets, CIT. Purification Density Gradients: A Standard Operating Procedure of the NIH Clinical Islet Transplantation Consortium. *CellR4 Repair. Replace Regen. Reprogram.* 2014; 2 (3): e991. PMID: 30613694; PMCID: PMC6319662
 19. Corbin K.L., West H.L., Brodsky S., Whitticar N.B., Koch W.J., Nunemaker C.S. A practical guide to rodent islet isolation and assessment revisited. *Biol. Proced. Online.* 2021; 23 (1): 7. <https://doi.org/10.1186/s12575-021-00143-x>
 20. Eich T., Stähle M., Gustafsson B., Horneland R., Lempinen M., Lundgren T., Rafael E., Tufveson G., Zur-Mühlen B.V., Olerud J., Scholz H., Korsgren O. Calcium: a crucial potentiator for efficient enzyme digestion of the human pancreas. *Cell Transplant.* 2018; 27 (7): 1031–1038. <https://doi.org/10.1177/0963689718779350>
 21. de Groot M., de Haan B.J., Keizer P.P., Schuurs T.A., van Schilfgaarde R., Leuvenink H.G. Rat islet isolation yield and function are donor strain dependent. *Lab. Anim.* 2004; 38 (2): 200–206. <https://doi.org/10.1258/002367704322968885>
 22. Chinnakotla S., Beilman G.J., Dunn T.B., Bellin M.D., Freeman M.L., Radosevich D.M., Arain M., Amateau S.K., Mallery J.S., Schwarzenberg S.J., Clavel A., Wilhelm J., Robertson R.P., Berry L., Cook M., Hering B.J., Sutherland D.E., Pruett T.L. Factors predicting outcomes after a total pancreatectomy and islet autotransplantation lessons learned from over 500 cases. *Ann. Surg.* 2015; 262 (4): 610–622. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001453>

Сведения об авторах [Authors info]

Загайнов Владимир Евгеньевич — доктор мед. наук, директор института хирургии и онкологии ФГБОУ ВО “ПИМУ” Минздрава России, заведующий кафедрой факультетской хирургии и трансплантологии ФГБОУ ВО “ПИМУ” Минздрава России, заместитель главного врача по науке и инновациям ГБУЗ НО “Нижегородский областной клинический онкологический диспансер”. <https://orcid.org/0000-0002-5769-0378>. E-mail: zagainov@gmail.com

Кучин Денис Михайлович — канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской хирургии и трансплантологии ФГБОУ ВО “ПИМУ” Минздрава России, руководитель центра абдоминальной хирургии ГБУЗ НО “НОКБ им. Н.А. Семашко”. <https://orcid.org/0000-0002-4148-2953>. E-mail: pomc.kuchin@gmail.com

Ермакова Полина Сергеевна — лаборант лаборатории регенеративной медицины научно-исследовательского института экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО “ПИМУ” Минздрава России. <https://orcid.org/0000-0002-5671-3216>. E-mail: bardina-polina@mail.ru

Васильчикова Екатерина Андреевна — младший научный сотрудник отдела фундаментальных и прикладных исследований центра фотоники ФГБОУ ВО “ННГУ им. Н.И. Лобачевского”. <https://orcid.org/0000-0001-6673-3512>. E-mail: sciurusub@gmail.com

Луговая Лия Александровна — канд. мед. наук, ассистент кафедры эндокринологии и внутренних болезней ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России. <https://orcid.org/0000-0001-9920-3139>. E-mail: liya.lugovaya@inbox.ru

Наралиев Насипбек Уланбекович — лаборант кафедры факультетской хирургии и трансплантологии ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России. <https://orcid.org/0000-0002-1416-9822>. E-mail: Nasip_95_kg@mail.ru

Кашина Александра Викторовна — канд. биол. наук, заведующая лабораторией исследовательского института регенеративной медицины, научной экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России. <http://orcid.org/0000-0002-2415-5926>. E-mail: almele@yandex.ru

Для корреспонденции*: Загайнов Владимир Евгеньевич — 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, Российская Федерация. Тел.: +7-951-906-65-43. E-mail: zagainov@gmail.com

Vladimir E. Zagainov — Doct. of Sci. (Med.), Director of the Institute of Surgery and Oncology, Federal State Budgetary Educational Institution “Privolzhsky Research Medical University” of the Ministry of Health of Russia, Head of the Department of Faculty Surgery and Transplantology, Federal State Budgetary Educational Institution “Privolzhsky Research Medical University” of the Ministry of Health of Russia, Deputy Chief Physician for Science and Innovation, Nizhny Novgorod Regional Clinical Oncological Dispensary. <https://orcid.org/0000-0002-5769-0378>. E-mail: zagainov@gmail.com

Denis M. Kuchin — Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Faculty Surgery and Transplantology, Federal State Budgetary Educational Institution “Privolzhsky Research Medical University” of the Ministry of Health of Russia, Head of the Center of Abdominal Surgery, Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital named after N.A. Semashko. <https://orcid.org/0000-0002-4148-2953>. E-mail: pomc.kuchin@gmail.com

Polina S. Ermakova — Laboratory Assistant, Regenerative Medicine Laboratory, Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies, Privolzhsky Research Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-5671-3216>. E-mail: bardina-polina@mail.ru

Ekaterina A. Vasilchikova — Junior Researcher, Department of Fundamental and Applied Research, Center for Photonics, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod. <https://orcid.org/0000-0001-6673-3512>. E-mail: sciurusub@gmail.com

Liya A. Lugovaia — Cand. of Sci. (Med.), Assistant of the Department of Endocrinology and Internal Diseases, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Privolzhsky Research Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0001-9920-3139>. E-mail: lugovaya@inbox.ru

Nasipbek U. Naraliev — Laboratory Assistant, Department of Faculty Surgery and Transplantology, Federal State Budgetary Educational Institution “Privolzhsky Research Medical University”. <https://orcid.org/0000-0002-1416-9822>. E-mail: Nasip_95_kg@mail.ru

Aleksandra V. Kashina — Cand. of Sci. (Biol.), Head of the Regenerative Medicine Laboratory, Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies, Privolzhsky Research Medical University. <http://orcid.org/0000-0002-2415-5926>. E-mail: almele@yandex.ru

For correspondence*: Vladimir E. Zagainov — 10/1, Minin and Pozharsky pl., Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation. Phone: +7-951-906-65-43. E-mail: zagainov@gmail.com

Статья поступила в редакцию журнала 20.05.2022.
Received 20 May 2022.

Принята к публикации 14. 06.2022.
Accepted for publication 14 June 2022.