

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-95-109

## СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ИНКАПСУЛЯЦИИ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1-го ТИПА

*П.С. Ермакова<sup>1</sup>, Е.И. Черкасова<sup>1, 2</sup>, Н.А. Леншина<sup>3</sup>, А.Н. Конев<sup>3</sup>, М.А. Батенькин<sup>3</sup>, С.А. Чесноков<sup>3</sup>, Д.М. Кучин<sup>4</sup>, Е.В. Загайнова<sup>1, 2</sup>, В.Е. Загайнов<sup>1, 4</sup>, А.В. Кашина<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ФГБУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГАО УВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород Российская Федерация

<sup>3</sup> ФГБУН «Институт металлоорганической химии имени Г.А. Разуваева Российской академии наук», Нижний Новгород, Российская Федерация

<sup>4</sup> ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, Российская Федерация

В обзор включены результаты аналитических исследований по проблеме применения трансплантационных технологий инкапсулированных островков Лангерганса поджелудочной железы для компенсации сахарного диабета первого типа. Представлен обзор современных технологий получения капсул, подходов к стратегиям инкапсуляции, трансплантационных технологий инсулинозамещения: ауто-, алло-, ксенотрансплантаций; перспектив клеточной терапии при инсулинзависимых состояниях; современных подходов к инкапсуляции  $\beta$ -клеток, возможностей оптимизации используемых биоматериалов при инкапсуляции для повышения выживаемости трансплантируемых клеток и снижения негативных последствий для реципиента. Выявлены основные проблемы, которые необходимо решить для эффективной трансплантации инкапсулированных островков Лангерганса, и обозначены основные стратегии для перевода технологии инкапсуляции островков в медицинскую реальность.

*Ключевые слова:* поджелудочная железа, островки Лангерганса, инкапсуляция, трансплантация, иммуносупрессия, сахарный диабет первого типа.

## MODERN PANCREATIC ISLET ENCAPSULATION TECHNOLOGIES FOR THE TREATMENT OF TYPE 1 DIABETES

*P.S. Ermakova<sup>1</sup>, E.I. Cherkasova<sup>1, 2</sup>, N.A. Lenshina<sup>3</sup>, A.N. Konev<sup>3</sup>, M.A. Batenkin<sup>3</sup>, S.A. Chesnokov<sup>3</sup>, D.M. Kuchin<sup>4</sup>, E.V. Zagainova<sup>1, 2</sup>, V.E. Zagainov<sup>1, 4</sup>, A.V. Kashina<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

<sup>2</sup> Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

<sup>3</sup> Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry, Nizhny Novgorod, Russian Federation

<sup>4</sup> Privolzhsky District Medical Center, Nizhny Novgorod, Russian Federation

The review includes the results of analytical research on the problem of application of pancreatic islet encapsulation technologies for compensation of type 1 diabetes. We present a review of modern encapsulation technologies, approaches to encapsulation strategies, insulin replacement technologies: auto-, allo- and xenotransplantation; prospects for cell therapy for insulin-dependent conditions; modern approaches to  $\beta$ -cell encapsulation, possibilities of optimization of encapsulation biomaterials to increase survival of transplanted cells and reduce adverse consequences for the recipient. The main problems that need to be solved for effective transplantation of encapsulated

**Для корреспонденции:** Ермакова Полина Сергеевна. Адрес: 603104, Нижний Новгород, ул. Медицинская, 1. Тел. (987) 750-09-74. E-mail: bardina-polina@mail.ru

**Corresponding author:** Polina Ermakova. Address: 1, Meditsinskaya str., Nizhny Novgorod, 603104, Russian Federation. Phone: (987) 750-09-74. E-mail: bardina-polina@mail.ru

islets of Langerhans are identified and the main strategies for translating the islet encapsulation technology into medical reality are outlined.

*Keywords: pancreas, islets of Langerhans, encapsulation, transplantation, immunosuppression, type 1 diabetes.*

## ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет первого типа (СД1) – многофакторное заболевание, связанное с относительной или абсолютной недостаточностью гормона инсулина, приводящее к хронической гипергликемии и другим нарушениям обмена веществ. Исследования СД показали, что он развивается при уменьшении островкового аппарата поджелудочной железы (ПЖ) более чем на 90%, а для пациента со средней массой тела достаточно 300 000 жизнеспособных активных островков для контроля уровня сахара крови [1].

Перспективным вариантом лечения инсулин-зависимых нарушений углеводного обмена является применение трансплантации инсулин-продуцирующих  $\beta$ -клеток в составе островков Лангерганса или цельного органа реципиенту для «включения» биологических механизмов обратной связи гликемии и выработки инсулина [2].

Для снижения аутоиммунной нагрузки и повышения выживаемости клеток предлагаются различные подходы: от применений схем бесстероидной иммуносупрессии [3] до трансплантации индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) и МСК, коммитированных в сторону  $\beta$ -клеток [4], и использование иммунонезависимых инсулинпродуцирующих органоидов [5].

Наиболее перспективным решением проблемы иммуносупрессии в последнее время считаются технологии инкапсуляции трансплантируемых островков Лангерганса (ОЛ) для защиты их от иммунокомпетентных клеток.

## ИНКАПСУЛЯЦИЯ ОСТРОВКОВЫХ КЛЕТОК

В данной статье будут рассмотрены основные стратегии и пути решения проблем эффективного функционирования трансплантированных ОЛ в составе микро- и макроустройств при инсулин-зависимых нарушениях в организме реципиента. На пути к поставленной цели предстоит решить целый комплекс многосоставных и взаимозависимых задач, от химического строения капсульной стенки до определения оптимального места трансплантации инкапсулированных ОЛ (рис. 1).

## МАТЕРИАЛЫ И ПОЛУЧЕНИЕ КАПСУЛ

Идеальная полимерная оболочка для инкапсуляции ОЛ, согласно литературным данным [6], должна удовлетворять как минимум следующим критериям:

- пропускать инсулин в кровь, а кислород, глюкозу и пр. к клеткам;
- не пропускать лейкоциты, фагоциты;
- быть совместимой как с инкапсулированными клетками, так и с организмом реципиента, чтобы не вызывать иммунологической и фиброзной реакций;
- иметь гладкую топографию без шероховатой поверхности;
- стимулировать рост сосудов вокруг капсулы (для лучшего снабжения инкапсулированных клеток питанием и быстрого «отвода» выделяемого инсулина).

В подавляющем большинстве случаев данными характеристиками обладают капсулы, изготовленные из гидрогель-формирующих природных и синтетических полимеров [7].

## Природные полимеры

Наиболее часто применяемые природные полимеры для создания микрокапсул ОЛ – это агароза, коллаген, хитозан, альгинат, целлюлоза, их смеси и многочисленные химические модификации.

Установлено, что иммунопротекторные свойства агарозных гелей [8–9] можно контролировать изменением концентрации агарозы при формировании геля. Стандартно для создания капсул применяется 5% агароза, но за счет увеличения концентрации агарозы с 5% до 7,5–10% или путем нанесения на поверхность капсулы других полимеров время выживания трансплантата *in vivo* может быть увеличено [11]. С этой целью Dupuy et al. [12] покрывали агарозные микрокапсулы полиакриламидом; другим успешным подходом было покрытие поверхности агарозы полибренном и карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ) [13]. Для создания этих капсул были сформированы сложные смеси, состоящие из 5% агарозы и 5% полистиролсульфоновой кислоты, инкубированные с полибренном и КМЦ.

Для стимуляции роста клеток в системе трансплантата агароза может быть дополнена другими полимерами: например, коллаген-агарозные макрогранулы показали лучшее влияние на функциональность ОЛ крыс по сравнению с гранулами, содержащими только агарозу. ОЛ, инкапсулированные в эти макрогранулы, были способны поддерживать нормогликемию до 170 дней у диабетических мышей в модели индуцированного стрептозотоцином диабета [14].

Несмотря на множество исследований, проводимых с использованием агарозы и ее производных, можно отметить два основных недостатка агарозовых капсул для заключения ОЛ:

- 1) большой разброс получаемых гелевых шариков по размерам от 100 до 1000 мкм. Это связано со способом получения капсул – в основном используются методы суспензионного гелеобразования, индуцированного температурой;
- 2) присутствие токсичных молекул в самой агарозе вследствие недостаточной очистки природных материалов [15].

*Альгинат* – это анионный полисахарид, получаемый из разных видов водорослей, что существенно влияет на физико-химические свойства альгинатных микрокапсул [16].

Для уменьшения проницаемости и повышения стабильности альгинатных капсул поликатионный слой обычно добавляют к ядру альгинатного геля в качестве второго слоя, за которым следует внешний слой альгината. Наиболее часто используемым поликатионом является поли-L-лизин, хотя могут использоваться и другие поликатионы, такие как поли-L-орнитин. Так, микрокапсулы, содержащие альгинат-поли-L-орнитин вместо альгинат-поли-L-

лизин-альгинат (АПА), обеспечивали лучшую выживаемость трансплантата с ОЛ свиньи при ксенотрансплантации обезьянам *Сynomolgus* [17, 18].

Вместе с тем микрокапсулы АПА страдают от существенного недостатка: поликатионное покрытие (ПКП) со временем разлагается и считается высокоиммуногенным, что делает капсулы АПА нестабильными в долгосрочной перспективе. Было продемонстрировано, что сшивание альгината с высоким содержанием  $\alpha$ -L-гулуруновой кислоты с ионами  $Ba^{2+}$  приводит к получению капсул с меньшей проницаемостью для IgG и большей биосовместимостью, чем при сшивании с ионами  $Ca^{2+}$  [19].

Исследования на животных [20, 21] продемонстрировали способность микрокапсул альгината бария обеспечивать долговременную иммунную защиту как при алло-, так и при ксенотрансплантации. Однако даже при отсутствии иммуногенного ПКП трансплантация микрокапсул альгината бария приводила к перикапсулярному фиброзному разрастанию (ПФР) [21]. Микрокапсулы альгината бария и очищенного альгината [22] не приводят к ПФР при тестировании на мелких животных, таких как грызуны, но вызывают сильное ПФР при трансплантации в крупное животное, такое, как бабуин.

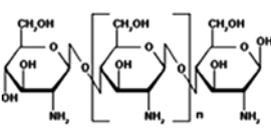
Уровни организации	Мишени исследований	Решаемые задачи
	Материалы и получение капсул	Биополимеры, синтетические полимеры, инкрустация капсулы биоактивными молекулами, способы формирования капсул
	Стратегии инкапсуляции (физические параметры капсул)	Размер капсулы, проницаемость (размер пор), толщина и упругость капсульной стенки
	Клетки ОЛ в составе капсул	Аллогенные, ксеногенные, клетки-спутники (поддерживающие), альтернативные источники $\beta$ -клеток
	Физиологические параметры окружения капсул	Оксигенация, васкуляризация, фибрирование
	Место введения трансплантата в организм реципиента	Брюшная полость (сальниковый карман), капсула почки, подкожное пространство

Рис. 1. Многофункциональность решаемых задач при трансплантации инкапсулированных островков Лангерганса

Fig. 1. Multifunctional tasks in the transplantation of encapsulated IL

*Хитозан* – катионный полисахарид основного характера, получаемый из хитина [23], не подвергался столь интенсивному тестированию, как альгинат или агароза для изучения иммунопротекции, поскольку хитозан в бессолевой форме нерастворим в водных растворах за исключением образцов с низкой молекулярной массой. Вместе с тем он может быть использован как добавочный агент в составе матрицы. Предполагается, что применение хитозана вместо поли-L-лизина может обеспечить более высокую механическую прочность и стабильность за счет прочной связи между хитозаном и альгинатным гелем [24].

Коллаген – фибриллярный белок – считается одним из самых универсальных полимеров для инкапсуляции различных типов клеток. На сегодняшний день было идентифицировано и описано 29 типов коллагенов [25], но тем не менее коллаген I типа составляет 90% от общего количества, и именно он является наиболее часто применяемым полимером для инкапсуляции [26]. Коллагеновые капсулы нуждаются в формировании комплекса с другими полимерами или защитного слоя для долгосрочного применения в биомедицинских целях [27, 28].

Глутаровый альдегид является наиболее широко используемым сшивающим агентом, в том числе и для коллагена в модельных клеточных системах, но вызывает воспалительный ответ в организме реципиента [29].

## Синтетические полимеры

Несмотря на стабильность свойств синтетических полимеров [30], процедуры инкапсуляции клеток требуют применения токсичных растворителей [30, 31], что отрицательно сказывается на биосовместимости капсул.

Для инкапсуляции клеток наиболее часто используется полиэтиленгликоль (ПЭГ), который приемлем для инкапсуляции широкого спектра клеток: ОЛ [32], хондроцитов [33], остеобластов [34], мезенхимальных стволовых клеток [35]. ПЭГ получают полимеризацией олигомеров этиленгликоля в присутствии кислотных или щелочных катализаторов. Но в том случае когда ПЭГ-мономеры оканчиваются метакрилатными или акрилатными группами, они способны подвергаться быстрому сшиванию при воздействии ультрафиолетового или видимого света в присутствии соответствующих фотоинициаторов. Фотоинициаторы создают свободные радикалы, которые могут инициировать образование фотополимеризуемых гидрогелей [36].

За последние два десятилетия было применено множество различных процедур инкапсуляции ОЛ с использованием ПЭГ, однако основными методами стали фотополимеризация ПЭГ-диакрилатных

полимеров и гелеобразование, основанное на сочетании физического и химического сшивания [37]. Тем не менее во многих исследованиях описывают возникновение иммунного ответа на ПЭГ-инкапсулированные клетки. Например, в работе J. Y. Jang et al. отмечено, что привитый на коллагеновую капсулу ПЭГ может ингибировать активацию лимфоцитов, но не макрофагов [38]. В качестве усиления иммунзащиты группы исследователей предлагают модифицировать экзоперхности ПЭГ-капсул с помощью рецепторов иммунных клеток, таких как Fas-лиганд (FasL) [39] и рецептор 1 фактора некроза опухоли (TNFR1) [40].

## СТРАТЕГИИ ИНКАПСУЛЯЦИИ

Стратегии инкапсуляции ОЛ могут быть разделены на три основные категории: макроинкапсуляция, микроинкапсуляция и наноинкапсуляция (рис. 2). Наиболее перспективными признаются первые две.

**Макроинкапсуляция** – это заключение нескольких тысяч ОЛ в макрокапсульное устройство более 1000 мкм в диаметре. В зависимости от места трансплантации макроустройства можно разделить на внесосудистые и внутрисосудистые.

Внутрисосудистая макроинкапсуляция обычно включает размещение множества ОЛ в полых полупроницаемых волокнах, которые затем напрямую соединяются с сосудистой сетью хозяина посредством анастомозов. Несмотря на многообещающие исследования с использованием внутрисосудистых устройств, исследователи сообщают о серьезных проблемах с эмболизацией и образованием кровяных сгустков, что не позволяет FDA (Food and Drug Administration) одобрить данные системы для клинических испытаний [42].

Внесосудистая макроинкапсуляция обычно включает в себя размещение множества ОЛ в простых диффузионных камерах, которые не требуют создания внутрисосудистых шунтов. Подобные устройства часто помещаются в брюшную полость или под кожу, откуда могут быть извлечены и восстановлены в случае повреждений.

Внесосудистые макроустройства имеют форму трубчатых или плоских диффузионных камер. Трубочатое устройство является слабым в структурном отношении и может подвергаться разрывам, а также требует большого количества ОЛ для засеивания [43]. Плоские устройства являются структурно более устойчивыми. Например, для устройства Islet Sheet от Islet Sheet Medical (США) было показано, что оно обеспечивает хорошую выживаемость трансплантата как при аллогенной, так и при ксеногенной трансплантации [44, 45]. Основным недостатком устройства Islet Sheet является ограниченная диффузия кислорода, приводящая к гипоксии и некрозу центральных групп, имплантированных ОЛ.

Проблема ограниченной диффузии кислорода преодолевается несколькими подходами к конструированию макроустройств. Например, макроустройство TheraCyte™ снабжено внешней мембраной, способствующей неоваскуляризации [46]. ОЛ, инкапсулированные в устройствах TheraCyte™, выживали в течение длительного периода времени как в моделях алло-, так и ксенотрансплантации [47]. Модифицированная версия устройства TheraCyte™, а именно система Encaptra® (устройство EN250), разработанная компанией ViaCyte (США), в настоящее время проходит испытания на безопасность в рамках клинического испытания II фазы [48].

Проблема гипоксии может быть решена и с помощью искусственно насыщаемого кислородом устройства  $\beta$ -Air Bio-artificial Pancreas (BAP), разработанного Beta-O2 Technologies Ltd (Израиль) [49]. Это устройство состоит из полупроницаемой камеры, содержащей ОЛ, погруженные в альгинатный гидрогель, и дополнительного отсека, который обеспечивает ежедневную подачу кислорода через внешнюю

систему зондов [50]. Предварительные исследования с небольшими размерами устройств BAP, имплантированных свиньям с диабетом, показали, что функция инкапсулированных аллогенных ОЛ сохранялась, а уровень глюкозы в крови снижался до нормальных значений в течение нескольких месяцев [51].

В экспериментах *in vitro* в состав гидрогелей, содержащих ОЛ, были добавлены перфторуглероды и пероксид кальция ( $\text{CaO}_2$ ) для увеличения скорости диффузии  $\text{O}_2$  в системе гидрогеля [52]. Это также может быть перспективным решением для стратегий преодоления гипоксии ОЛ в макроустройствах.

**Микроинкапсуляция** – это включение одного или нескольких ОЛ в микрокапсулы размером от 200 до 1500 мкм (рис. 3).

Эта технология обладает несколькими преимуществами по сравнению с макроинкапсуляцией. Во-первых, микрокапсулы, как правило, имеют сферическую форму, обеспечивая тем самым большее отношение площади поверхности к объему и увеличение транспорта кислорода и питательных веществ,

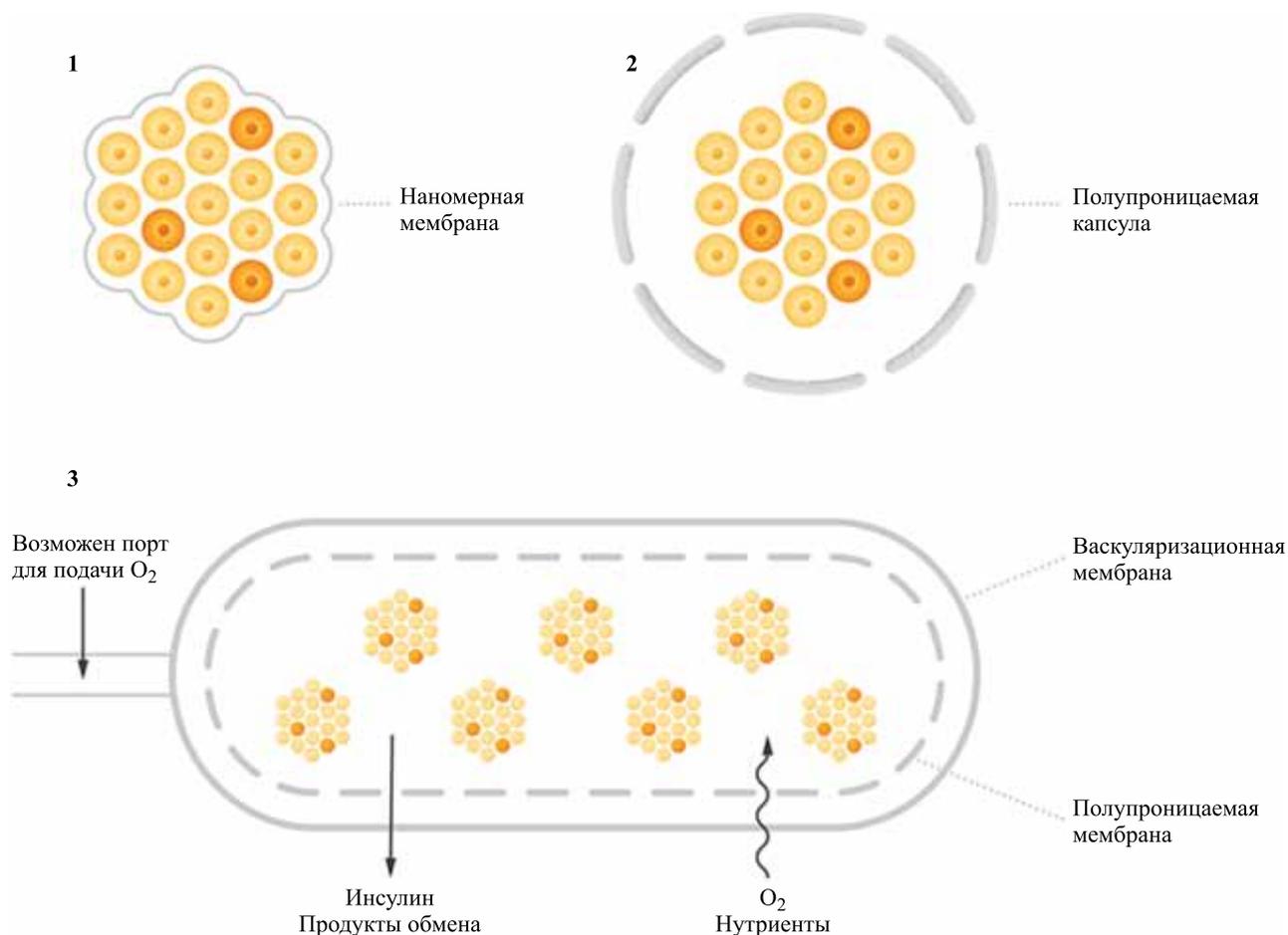


Рис. 2. Основные стратегии инкапсуляции ОЛ [14]: наноинкапсуляция (1), микроинкапсуляция (2), макроинкапсуляция (3)

Fig. 2. The main strategies for encapsulation of IL [14]: nanoencapsulation (1), microencapsulation (2), macroencapsulation (3)

необходимых для выживания ОЛ. Во-вторых, микрокапсулы являются механически стабильными и более простыми в производстве, что дает свободу изменять такие параметры, как размер капсулы, ее проницаемость и толщину. В-третьих, они могут быть имплантированы с использованием минимально инвазивной процедуры, а гладкая сферическая геометрия сводит к минимуму иммунную реакцию на инородное тело. Основным недостатком является сложность извлечения микрокапсул из места трансплантации.

Необходимость обеспечения максимальной выживаемости клеток и сохранения их нормальной жизнедеятельности накладывает следующие ограничения на условия проведения процедуры микроинкапсулирования ОЛ:

- исключение применения органических растворителей;
- проведение процедуры в водном растворе, изотоничном относительно цитозоля клеток (в среде физиологического раствора в присутствии фосфатного буфера);
- при поддержании pH между 7,2 и 7,5;
- при температуре от комнатной до 40 °С (в идеале – при 37 °С в атмосфере насыщенного водными парами 5% углекислого газа);
- для равномерного распределения клеток или ОЛ и предотвращения седиментации раствор должен быстро образовывать гель.

Все это существенно сужает круг предполагаемых для использования материалов, а приведенным условиям хорошо соответствуют рассмотренные выше полимерные гидрогели. Наиболее популярным природным полимером для микроинкапсуляции ОЛ является альгинат натрия, способный в присутствии двухвалентных ионов быстро образовывать гидрогели при нейтральном pH и умеренных температурах [53, 54].

На примере альгината натрия рассмотрим, с какими основными проблемами сталкиваются исследователи при микроинкапсуляции ОЛ. В литературе выделяется несколько факторов, имеющих решающее значение в приживаемости микрокапсул с ОЛ.

Чистота альгината является одним из основных факторов, влияющих на биосовместимость: альгинаты, полученные из природных источников, содержат иммуногенные загрязнители (белки, полифенолы, эндотоксины) [55], что часто приводит к плохой выживаемости трансплантата из-за возникновения ПФР [56]. Микрокапсулы, полученные из недостаточно очищенных коммерческих альгинатов, активируют иммунную систему и индуцируют высвобождение воспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IL-6 из мышинных и человеческих моноцитов и макрофагов [57]. Одно из исследований было направлено на скрининг по выявлению примесей, и было установлено, что коммерческий альгинат, помеченный как «ультрачистый», все еще содержит

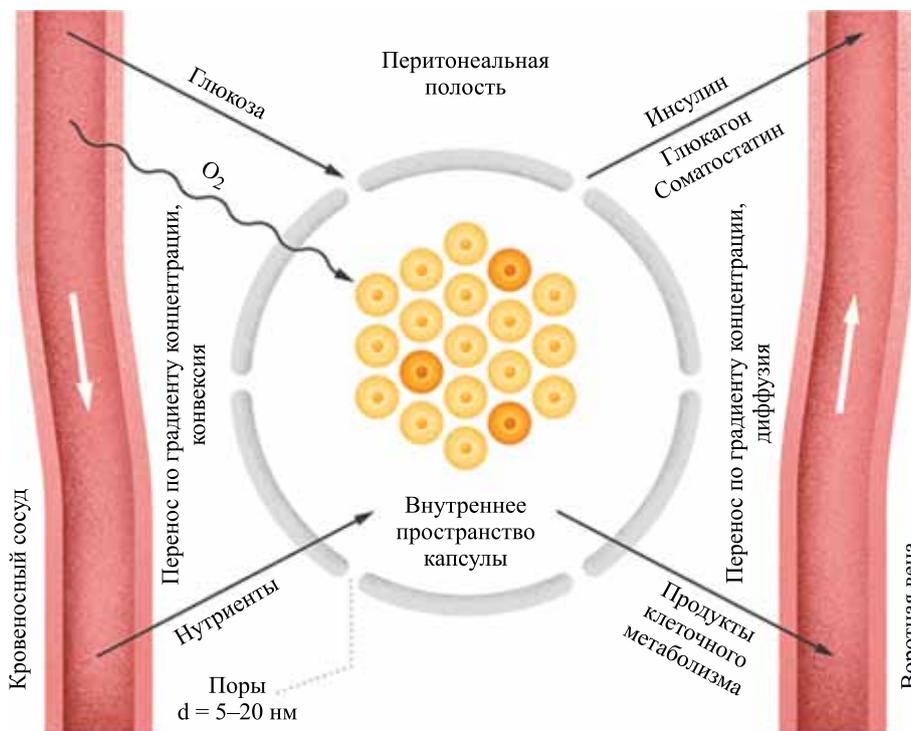


Рис. 3. Модель строения микрокапсулированного ОЛ и выполняемые ею функции

Fig. 3. Model of the structure of microencapsulated IL and its functions

примеси, такие как пептидогликан и липотейхоевая кислота [58]. Этими же авторами была предложена разработка скринингового анализа идентификации патоген-ассоциированных молекулярных структур в альгинатных полимерах [58].

Состав альгината также играет важную роль в определении биосовместимости, поскольку соотношение G/M сильно влияет на физико-химические свойства микрокапсул. Микрокапсулы, изготовленные из альгината с высоким содержанием G, более стабильны по сравнению с альгинатом с высоким содержанием M, тогда как микрокапсулы из альгината с высоким содержанием M могут обеспечивать избирательную проницаемость для иммуноглобулинов и иммунных клеток, обеспечивая тем самым лучшую иммунзащиту [59]. Тем не менее в некоторых исследованиях сообщалось, что альгинатные микрокапсулы с высоким M являются более иммуногенными, что приводит к ПФР [60], в то время как в других исследованиях сообщается о противоположном эффекте [61].

Помимо соотношения G/M вязкость и молекулярная масса (MM) альгината также играют важную роль в определении биосовместимости. В работе S. Schneider et al. было продемонстрировано, что микрокапсулы, приготовленные из альгинатов с низкой MM, вызывают ПФР, и подчеркивалась необходимость удаления низкомолекулярных фракций во время процедуры очистки для повышения биосовместимости [62].

Еще одним немаловажным фактором являются геометрия и размеры капсулы. Традиционные микрокапсулы с ОЛ – это сферы фиксированного диаметра 700–1500 мкм. По этому вопросу существует несколько противоположных мнений. Показано, что мелкие микрокапсулы порядка 250–350 мкм биосовместимы и способствуют меньшему ПФР по сравнению с традиционными (500–800 мкм) при трансплантации крысам [63] и обезьянам [64]. С другой стороны, O. Veiseh et al. было показано, что более крупные альгинатные микрокапсулы диаметром 1500 мкм обладают лучшей биосовместимостью и значительно снижают ПФР по сравнению с 500-мкм капсулами при ксенотрансплантации обеих групп в C57BL/6 мышей и приматов [65]. Авторы также продемонстрировали, что ОЛ, инкапсулированные в более крупные 1500-мкм капсулы, оставались жизнеспособными, имели более высокую кинетику инсулина и обеспечивали лучший гликемический контроль в условиях ксенотрансплантации со значительно меньшим количеством ПФР по сравнению с более мелкими микрокапсулами в течение 180 дней.

**Наноинкапсуляция** – это покрытие одного ОЛ биополимерным материалом с формированием структур размером 70–150 мкм. Наиболее распространенным методом наноинкапсуляции является

последнее осаждение (ПО) противоположно заряженных биоматериалов на поверхность ОЛ (наноэкранирование).

Разработаны различные покрытия для ПО с индивидуальными физико-химическими свойствами. Naque et al. провели ксенотрансплантацию ОЛ приматов, инкапсулированных ПО с использованием 3 полимеров, мышам с иммуносупрессией. Инкапсуляция показала равномерное наноэкранирование полимеров на ОЛ без потери жизнеспособности и функции клеток [66]. Park et al. трансплантировали ОЛ с наноэкранированным гепарином приматам, было показано уменьшение мгновенных кровяных воспалительных реакций при использовании подобного наноэкранирования [67]. Другая группа использовала ультратонкую гепарин-полимерную нанопленку в качестве платформы, которая позволяет включать биологические медиаторы для модификации поверхности ОЛ [68].

## КЛЕТКИ ОЛ В СОСТАВЕ КАПСУЛ

Кроме обеспечения высокой степени выживаемости клеток ОЛ на большом промежутке времени с сохранением их способности производить инсулин существует еще и проблема нехватки донорских здоровых, жизнеспособных  $\beta$ -клеток.

**Аллогенные клетки ОЛ** с успехом применяются в качестве донорского материала при лечении СД с 2000 г. Однако еще в 1994 г. P. Soon-Shiong et al. [69] провели первое успешное испытание с микрокапсулированными ОЛ в альгинат-поли-L-лизине: аллогенные ОЛ были пересажены внутрибрюшинно пациенту с СД 1-го типа, что привело к снижению уровня глюкозы в крови на протяжении 9 месяцев. После этого еще 2 группы исследователей – R.C. Calafiore et al. [70] и В.Е. Touch et al. [71] предприняли попытки трансплантации микрокапсулированных в модифицированных альгинатах аллогенных ОЛ, однако снижение уровня глюкозы в обоих случаях было недостаточным.

**Ксеногенные клетки ОЛ** свиньи являются перспективным источником трансплантируемых человеку ОЛ по какой-либо из причин: сходства инсулина свиньи и человека, высокой плодовитости свиной, наличия эффективных и точных методов генетической модификации свиной [72].

Наиболее широко используются ОЛ от взрослых донорских самок или кластеры островковых клеток новорожденных (Newborns islet clusters cells, NICC); известны эксперименты с островками плода свиньи, а также с зачатками ПЖ от эмбрионов [73].

В настоящее время выделяют три основные стратегии для повышения жизнеспособности и продле-

ния функционирования ОЛ свиней в организме реципиента:

- 1) трансплантация свободных ОЛ свиньи по протоколам иммуносупрессии и толерантности;
- 2) инкапсуляция ОЛ свиньи, и в этом случае глобальная иммуносупрессия не требуется;
- 3) генетическая модификация ОЛ свиньи и последующее их использование с применением усовершенствованной низкотоксичной иммуносупрессии.

Однако существуют риски использования свиных ОЛ: в первую очередь, свиные эндогенные ретровирусные последовательности (PERV), которые могут активироваться после ксенотрансплантации [74].

Во-вторых, существует риск развития сверхострой иммунологической реакции отторжения из-за человеческих антигенов Gal (Галактоза-1,3-Галактоза), реагирующих на дисахарид мембраны клеток свиньи. Связывание антител с антигенами Gal приводит практически к немедленной активации системы комплемента с последующим разрушением трансплантата. Для преодоления сверхострой реакции иммунологического отторжения было создано несколько групп трансгенных свиней:

- 1) нокаутных по Gal;
- 2) с трансгенной экспрессией в клетках ОЛ человеческого белка, регулирующего систему комплемента (hCD46);
- 3) с трансгенной экспрессией LEA29Y (высокоаффинный вариант ингибитора Т-клеточной стимуляции CTLA-4Ig) под контролем свиного гена инсулина [75].

Возможно, что двойное сочетание ингибиторов иммуносупрессии – инкапсуляция ОЛ от трансгенных свиней сможет обеспечить эффективную защиту трансплантата без необходимости применения сильных иммунодепрессивных агентов [76].

**Клетки-спутники** сокультивируются в одном макро- или микрообъекте с клетками ОЛ. В качестве поддерживающих иммуномодулирующих «клеток-компаньонов» широко изучены клетки Сертоли: совместная трансплантация неинкапсулированных ОЛ с клетками Сертоли оказалась полезной для повышения выживаемости трансплантата в моделях алло- [77], ксено- [78] и ауто трансплантации [79]. Кроме того, совместная инкапсуляция ОЛ с клетками Сертоли, выделяющими иммуносупрессивные факторы, улучшает выживаемость ксенотрансплантата [80].

Иммуномодулирующие свойства МСК широко известны и использовались в нескольких исследованиях для повышения выживаемости ОЛ и улучшения результатов трансплантации [81, 82]. Кроме того, преимуществом совместного инкапсулирования ОЛ с МСК, по некоторым данным, является повышение секреции инсулина [83].

Генетически модифицированные клетки также были использованы для повышения выживаемости ОЛ: совместная инкапсуляция ОЛ с биоинженерными клетками Сертоли мыши (ТМ4), продуцирующими IGF-II (инсулиноподобный фактор роста – II), улучшает выживаемость  $\beta$ -клеток и обеспечивает лучший гликемический контроль [84].

**Альтернативные источники  $\beta$ -клеток.** Помимо вышеперечисленных источников донорских  $\beta$ -клеток активно разрабатываются методы по получению нормально функционирующих инсулин-продуцирующих клеток из различных клеточных популяций человека [85] с целью получения специфичных для пациента клеточных продуктов.

**Плюрипотентные стволовые клетки (ПСК)** – эмбриональные СК (ЭСК) и индуцированные плюрипотентные СК (ИПСК) – в основном рассматриваются в качестве продукта для клеточной терапии. Использование клеток-предшественников ПЖ, полученных из ЭСК человека, для лечения пациентов с СД 1-го типа находится в стадии эксперимента: клетки инкапсулируются в макросистему Encaptra® [86].

Были разработаны протоколы дифференцировки ИПСК с дополнительными этапами, оптимизированными коктейлями из индуцирующих факторов и химических веществ, с использованием 3D-методов культивирования, которые позволили получить клеточные кластеры, морфологически и функционально сходные с островковыми клетками ПЖ [87].

**Мезенхимные стволовые клетки.** Использование МСК при СД возможно двумя способами: дифференцировкой в инсулинпродуцирующие клетки [88] и прямым введением недифференцированных МСК [139]. МСК жировой ткани при культивировании в средах, содержащих фактор роста фибробластов, способны экспрессировать маркер Is11, необходимый для образования островковых клеток ПЖ [89]. МСК пуповинной крови человека содержат гены, необходимые для дифференцировки в эндокринную ткань ПЖ (Is11, PDX1, Pax4 и Ngn3) [90], поэтому высвобождают инсулин и С-пептид в ответ на стимуляцию глюкозой *in vitro* и *in vivo*.

**Прямое перепрограммирование для получения  $\beta$ -клеток** подразумевает использование технологии интеграции ДНК (в большинстве случаев с помощью вирусных векторов) в клетки различного типа, которая приводит к созданию  $\beta$ -клеток, минуя их возвращение в плюрипотентное состояние. В качестве исходного материала для прямого перепрограммирования используют протоковые клетки ПЖ, ацинарную ткань,  $\alpha$ -клетки и другие.

Показано, что комбинация трех регуляторов развития  $\beta$ -клеток – NGN3, PDX1 и MAFA – может эффективно превращать ацинарные клетки ПЖ взрослой мыши в  $\beta$ -подобные клетки при помощи аденовирусного вектора [91].

Проведенные исследования показали, что желудочно-кишечные эпителиальные клетки также могут быть трансформированы в  $\beta$ -подобные клетки. Клетки из антрального отдела желудка, по-видимому, особенно подвержены такой трансформации. В отдельном исследовании условное удаление Foxo1 из Ngn3 + кишечных эндокринных клеток-предшественников приводило к образованию инсулин-продуцирующих клеток в кишечнике [92].

Другие примеры перепрограммирования мышечных клеток включают цитокин-опосредованное превращение ацинарных клеток в инсулин-экспрессирующие, превращение протоковых клеток в инсулин-экспрессирующие путем делеции FBW7 и превращение гепатоцитов в инсулин-продуцирующие клетки с помощью TGIF2 [93]. Экстремальная потеря  $\beta$ -клеток может спонтанно превращать  $\delta$ - и  $\alpha$ -клетки ПЖ в  $\beta$ -клетки [94].

### ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОКРУЖЕНИЯ КАПСУЛ

В искусственно созданной системе инкапсулирующих устройств отсутствует сформированная капиллярная сеть, поэтому решение вопроса о стабильной трофике и оксигенации трансплантированных клеток является необходимым для их выживания. A. Pileggi et al. инициировали предварительную васкуляризацию путем имитации физиологической реакции организма на инородное тело: катетер был введен подкожно и удален через 4 недели [95]. Преваскуляризации участка для трансплантации также можно добиться, предварительно обработав участок трансплантации ангиогенными факторами [96].

Еще одним из подходов является встраивание ангиогенных факторов в структуру клеточных капсул, например, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в ПЭГ [97]. G. Marchioli et al. сконструировали микрокапсулы из гепаринизированного поликапролактона и также наблюдали усиление ангиогенеза в области трансплантата [98].

Инкапсуляция клеток-спутников совместно с ОЛ также может приводить к усилению васкуляризации капсул. Например, использование МСК жировой ткани или костного мозга [99].

Кроме того, было предпринято несколько попыток улучшить оксигенацию на участке трансплантации капсул, в том числе генерировать кислород вблизи микрокапсул с помощью фотосинтеза [100] или электрохимического генератора [101]. К сожалению, эти генерирующие кислород системы не могут производить достаточно кислорода, необходимого в клинических условиях.

Одним из механизмов защиты организма от прониновения во внутреннее пространство является фиброзное разрастание вокруг инородного предме-

та [102]. В микрокапсулах уменьшенный диаметр и большее отношение площади поверхности к объему способствуют улучшению диффузии, что косвенно подтверждается более быстрой реакцией микроинкапсулированных островков на изменения глюкозы в кровотоке [103].

### МЕСТО ТРАНСПЛАНТАЦИИ В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА

Идеальный участок для трансплантации должен иметь такие особенности, как низкое иммунное воздействие, простота извлечения имплантированных капсул, доступ к сосудистой сети реципиента с возможностью неоваскуляризации имплантированного трансплантата и достаточное пространство для размещения желаемого количества имплантированных микрокапсул [104]. Неинкапсулированные ОЛ обычно вводятся в печень через воротную вену. Инфузия в воротную вену микроинкапсулированных ОЛ невозможна из-за их размеров. Микроинкапсулированные ОЛ обычно вводят в брюшную полость.

Однако при трансплантации микрокапсул в брюшную полость также существуют негативные факторы влияния: недостаточная реваскуляризация, высокая иммуногенность, хронический гипоксический стресс, что обуславливает необходимость большего количества инкапсулированных ОЛ для нормализации уровня глюкозы по сравнению с неинкапсулированными ОЛ [105]. Было показано преимущество трансплантации инкапсулированных ОЛ в созданную хирургическим путем сальниковую сумку на моделях грызунов с диабетом, что приводило в результате к долгосрочной нормогликемии [106]. Еще одним перспективным местом трансплантации ОЛ является капсула почки. Исследования на крупных животных показали, что у двух из семи обезьян *Synomolgus* С-пептид обнаруживается в крови через 60 дней после трансплантации микрокапсулированных ОЛ свиньи под капсулу почки [107]. Вместе с тем почечная капсула сильно васкуляризирована, и возможное к использованию пространство ограничивает введение большого объема трансплантата.

Другим альтернативным участком, который широко используется для трансплантации инкапсулированных ОЛ, является подкожное пространство.

Исследования показали, что ксенотрансплантация инкапсулированных ОЛ в брюшную полость мышам линии C57BL/6 приводит к сильному ПФР через 3 недели после трансплантации. Однако при трансплантации тех же инкапсулированных ОЛ подкожно ПФР значительно уменьшался [108]. Таким образом, подкожная трансплантация микроинкапсулированных ОЛ может быть принята в качестве стратегии для уменьшения ПФР и повышения выживаемости ОЛ,

если проблема плохого снабжения кислородом окажется решаемой.

## ПРОВОДИМЫЕ В МИРЕ КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ОЛ

Сравнительно небольшое количество систем инкапсуляции было использовано в клинических исследованиях. Несмотря на то что все системы показали безопасность для пациентов, эффективность их функционирования оказалась различной [109–116].

В создании систем инкапсуляции ОЛ и  $\beta$ -клеток исследователи используют различные подходы: микро- и макроустройства, места и способы трансплантации, алло- и ксенотрансплантаты.

Первоначально клинические испытания были сосредоточены на аллогенных ОЛ, однако селективный иммунный барьер микрокапсул позволяет безопасно использовать и свиные ОЛ как альтернативный источник клеток. Компанией Living Cell Technologies (LCT) было проведено крупное клиническое исследование с использованием ОЛ свиней, инкапсулированных в альгинат-поли-L-орнитин, которые были названы Diabecell®. Восемь пациентов получали различные дозы ОЛ (от 5000 до 10 000 IEQ на кг массы тела), у шести из них наблюдалось появление пониженного уровня экзогенного инсулина сроком до восьми месяцев [117].

Как упоминалось ранее, устройства макроинкапсуляции в большей степени ограничивают трансфузию кислорода к клеткам. Поэтому одна из модификаций – устройство VAR – призвана решить эту проблему с помощью встроенного многоцветного кислородного баллона. В исследовании I фазы оценивали безопасность и эффективность имплантации устройства  $\beta$ Air, содержащего аллогенные ОЛ ПЖ человека, пациентам с сахарным диабетом 1-го типа. Четырем пациентам были пересажены 1–2 устройства VAR, каждое из которых содержало 1800–4600 островковых эквивалентов на кг массы тела, и наблюдали в течение 3–6 месяцев с регулярным восстановлением запаса кислорода. Хотя  $\beta$ -клетки выжили в устройстве, наблюдались только мельчайшие уровни циркулирующего C-пептида без какого-либо влияния на метаболический контроль. В окружении капсулы наблюдали ПФР, а восстановленные устройства показывали притупленный инсулиновый ответ и образование амилоида в эндокринной ткани [118].

Компания ViaCyte разработала систему макроинкапсуляции Encaptra®, которая в отличие от всех конкурентов имеет в своем составе ИПСК, а не ОЛ. ViaCyte в настоящее время проводит многоцентровое клиническое исследование фазы I/II с применением технологии макроинкапсуляции и клеточным про-

дуктом VC-01™ для оценки безопасности и эффективности работы системы в течение 2 лет [114].

В отличие от Encaptra® клеточный продукт Sernova Cell Pouch не является иммуноизолирующим. Специфика его трансплантации направлена на предварительную васкуляризацию подкожного участка перед введением клеток через канал. Устройство, формирующее канал, вводится под кожу на 30 дней, чтобы обеспечить сосудистую интеграцию. Затем ряд стержней удаляют, чтобы заполнить сформированные каналы инкапсулированными ОЛ. Предполагается, что подобное стимулирование микроциркуляторного русла может значительно повысить выживаемость инкапсулированных островков за счет увеличения трофики- и газообмена. Однако 3-летнее клиническое исследование фазы I/II с использованием этого устройства было прекращено в 2016 году после набора трех пациентов [110].

Заключение ОЛ в тромбиново-плазменном геле несколько отличается от стандартов инкапсуляции: аллогенные ОЛ ресуспендируют в аутологичной плазме и лапароскопически распределяют по поверхности сальника: он имеет плотную васкуляризованную поверхность и легко доступен. Кроме того, рекомбинантный человеческий тромбин клинического класса используется для клеточной адгезии. Этот метод был применен для одной пациентки с восстановлением эугликемии и последующей независимостью от инсулина в течение 12 месяцев [119].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые разработки в области биоактивной инкапсуляции ОЛ, которые позволят избежать иммуносупрессии трансплантата и добиться длительной функциональной активности островковых клеток, на сегодняшний день крайне необходимы в России и мировом сообществе. Технологии инкапсуляции  $\beta$ -клеток и ОЛ, включающие нано-, микро-, и макроинкапсуляцию, представляют собой перспективные подходы к лечению СД 1-го типа, поскольку обеспечивают трансплантацию клеточных ресурсов без иммуносупрессивных агентов и позволяют использовать альтернативные источники доноров.

Основные проблемы, которые необходимо решить для эффективной трансплантации инкапсулированных ОЛ, связаны с оксигенацией трансплантата, воспалительным ответом, биосовместимостью материала, а также местом и способом оптимальной трансплантации. Долгосрочный успех стратегий инкапсуляции может быть затруднен ПФР и ограниченной выживаемостью инкапсулированных островков, особенно после внутрибрюшинной имплантации. В каждой области инкапсуляции все еще существуют ограничения, которые препятствуют их широкому клиническому применению: макроустройства легко извлекаемы, однако в большей степени способствуют

ПФР и в меньшей – нормальной оксигенации и трофике клеток. Микро- и нанокапсулы труднее извлечь из организма реципиента, однако клетки находятся в них в более удовлетворительных условиях.

Помимо вышеперечисленного существует и проблема нехватки донорских здоровых, жизнеспособных  $\beta$ -клеток. Ксенотрансплантация ОЛ свиньи в настоящее время является наиболее продвинутой альтернативой трансплантации ПЖ или аллотрансплантации ОЛ в мире, тем более что последние достижения в области генной инженерии привели к пересмотру возможности использования органов, выращенных у свиней. При технологии CRISPR-Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) [120] пул из 62 известных ретровирусов свиней может быть удален из клеток кожи свиньи, которые в принципе могут быть востребованы и для получения ИПСК, а затем генетически «чистые» свиньи могут использоваться в качестве доноров островковых клеток [121]. Следует отметить, что ксенотрансплантация в России запрещена.

В целом прогресс в науке о биоматериалах, технологиях изготовления, более безопасных стратегиях имплантации, стимуляции ангиогенеза и клеточной биологии, а также новые альтернативные источники ОЛ могут позволить перевести технологии инкапсуляции  $\beta$ -клеток в медицинскую реальность.

*Работа выполнена при поддержке Министерства здравоохранения РФ (государственное задание № АААА-А20-120022590096-6 по теме «Создание технологии инкапсуляции островков поджелудочной железы для компенсации абсолютных инсулин-дефицитных состояний»).*

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

*The authors declare no conflict of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Rojas J, Bermudez V, Palmar J, Martínez MS, Olivar LC, Nava M, Tomey D et al. Pancreatic Beta Cell Death: Novel Potential Mechanisms in Diabetes Therapy. *J Diabetes Res.* 2018; 2018: 1–19. doi: 10.1155/2018/9601801.
- Aghazadeh Y, Nostro MC. Cell Therapy for Type 1 Diabetes: Current and Future Strategies. *Curr Diab Rep.* 2017; 17 (6): 37. doi: 10.1007/s11892-017-0863-6.
- Primavera R, Razavi M, Kevadiya BD, Wang J, Iykonta A, Mascolo DD, Decuzzi P et al. Enhancing islet transplantation using a biocompatible collagen-PDMS bioscaffold enriched with dexamethasone-microplates. *Biofabrication.* 2021; 13 (3). doi: 10.1088/1758-5090/abdcac.
- Peloso A, Citro A, Zoro T, Cobianchi L, Kahler-Quezada A, Bianchi CM et al. Regenerative Medicine and Diabetes: Targeting the Extracellular Matrix Beyond the Stem Cell Approach and Encapsulation Technology. *Front Endocrinol.* 2018; 9: 445. doi: 10.3389/fendo.2018.00445.
- Yoshihara E, O'Connor C, Gasser E. Immune-evasive human islet-like organoids ameliorate diabetes. *Nature.* 2020; 586 (7830): 606–611. doi: 10.1038/s41586-020-2631-z.
- Strand BL, Coron AE, Skjak-Braek G. Current and future perspectives on alginate encapsulated pancreatic islet. *Stem Cells Transl Med.* 2017; 6 (4): 1053–1058. doi: 10.1002/sctm.16-0116.
- Vasile C, Pamfil D, Stoleru E, Baican M. New Developments in Medical Applications of Hybrid Hydrogels Containing Natural Polymers. *Molecules.* 2020 Mar 27; 25 (7): 1539. doi: 10.3390/molecules25071539.
- Hu S, de Vos P. Polymeric approaches to reduce tissue responses against devices applied for islet-cell encapsulation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019; 7: 134. doi: 10.3389/fbioe.2019.00134.
- Gazda LS, Vinerean HV, Laramore MA, Hall RD, Carraway W, Smith BH. Pravastatin Improves Glucose Regulation and Biocompatibility of Agarose Encapsulated Porcine Islets following Transplantation into Pancreatectomized Dogs. *J Diabetes Res.* 2014; 2014: 405362. doi: 10.1155/2014/405362.
- Iwata H, Takagi T, Amemiya H. Agarose microcapsule applied in islet xenografts (hamster to mouse). *Transplant Proc.* 1992; 24 (3): 952.
- Sabatini V, Pellicano L, Farina H, Pargoletti E, Annunziata L, Ortenzi MA et al. Design of New Polyacrylate Microcapsules to Modify the Water-Soluble Active Substances Release. *Polymers.* 2021; 13 (809). doi: 10.3390/polym13050809.
- Dupuy B, Gin H, Baquey C, Ducassou D. In situ polymerization of a microencapsulating medium round living cells. *J Biomed Mater Res.* 1988; 22 (11): 1061–1070. doi: 10.1002/jbm.820221109.
- Tun T, Inoue K, Hayashi H, Aung T, Gua Y-J, Doia R et al. A newly developed three-layer agarose microcapsule for a promising biohybrid artificial pancreas: rat to mouse xenotransplantation. *Cell Transplant.* 1996; 5 (5 Suppl 1): 59–63. doi: 10.1016/0963-6897(96)00042-5.
- Jain K, Yang H, Asina SK, Patel SG, Desai J, Diehl C et al. Long-term preservation of islets of Langerhans in hydrophilic macrobeads. *Transplantation.* 1996; 61 (4): 532–536. doi: 10.1097/00007890-199602270-00003.
- Barkai U, Rotem A, de Vos P. Survival of encapsulated islets: More than a membrane story. *World J Transplant.* 2016; 6 (1): 69–90. doi: 10.5500/wjt.v6.i1.69.
- Basta G, Montanucci P, Calafiore R. Microencapsulation of cells and molecular therapy of type 1 diabetes mellitus: The actual state and future perspectives between promise and progress. *J Diabetes Investig.* 2020; 12 (3). doi: 10.1111/jdi.13372.
- Vaithilingam V, Bal S, Tuch BE. Encapsulated Islet Transplantation: Where Do We Stand? *Rev Diabet Stud.* 2017; 14 (1): 51–78. doi: 10.1900/RDS.2017.14.51.
- Simó G, Fernández-Fernández E, Vila-Crespo J, RUIPÉREZ V, Rodríguez-Nogales JM. Research progress in coating techniques of alginate gel polymer for cell en-

- capsulation. *Carbohydr Polym.* 2017; 170: 1–14. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.04.013.
19. Ernst AU, Bowers DT, Wang L-H, Shariati K, Plesser MD, Brown NK, Mehrabian T et al. Nanotechnology in cell replacement therapies for type 1 diabetes. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019; 139: 116–138. doi: 10.1016/j.addr.2019.01.013.
20. Bochenek MA, Veiseh O, Vegas AJ. Alginate encapsulation as long-term immune protection of allogeneic pancreatic islet cells transplanted into the omental bursa of macaques. *Nat Biomed Eng.* 2018; 2 (11): 810–821. doi: 10.1038/s41551-018-0275-1.
21. Vaithilingam V, Kollarikova G, Qi M, Lacik I. Effect of prolonged gelling time on the intrinsic properties of barium alginate microcapsules and its biocompatibility. *J Microencapsl.* 2011; 28 (6): 499–507.
22. Qi M, Lacik I, Kollariková G, Strand BL, Formo K, Wang Y, Marchese E et al. A recommended laparoscopic procedure for implantation of microcapsules in the peritoneal cavity of non-human primates. *J Surg Res.* 2011; 168 (1): 117–123. doi: 10.1016/j.jss.2011.01.040.
23. Ellis CE, Korbitt GS. Chitosan-based biomaterials for treatment of diabetes. *Chitosan Based Biomaterials.* 2017; 91–113. doi: 10.1016/B978-0-08-100228-5.00004-3.
24. Kim MJ, Park H-S, Kim J-W, Lee E-Y, Rhee M, You Y-H et al. Suppression of Fibrotic Reactions of Chitosan-Alginate Microcapsules Containing Porcine Islets by Dexamethasone Surface Coating. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2021; 36 (1): 146–156. doi: 10.3803/EnM.2021.879.
25. Lin K, Zhang D, Macedo MH, Cui W, Sarmiento B, Shen G. Advanced Collagen-Based Biomaterials for Regenerative Biomedicine. *Advanced Functional Materials.* 2019; 29 (3). doi: 10.1002/adfm.201804943.
26. Silvipriya KS, Kumar KK, Bhat AR, Kumar D, John A, lakshmanan P. Collagen: Animal Sources and Biomedical Application. *JAPS.* 2015; 5 (03): 123–127. doi: 10.7324/JAPS.2015.50322.
27. Lee CH, Singla A, Lee Y. Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm.* 2001; 221 (1–2): 1–22. doi: 10.1016/s0378-5173(01)00691-3.
28. Yin C, Chia SM, Quek CH, YuH, Zhuo R-X, Leong KW, Maoad H-Q et al. Microcapsules with improved mechanical stability for hepatocyte culture. *Biomaterials.* 2003; 24 (10): 1771–1780. doi: 10.1016/S0142-9612(02)00580-X.
29. Marinucci L, Lilli C, Guerra M, Belcastro S, Becchetti E, Stabellini G et al. Biocompatibility of collagen membranes crosslinked with glutaraldehyde or diphenylphosphoryl azide: an *in vitro* study. *J Biomed Mater Res A.* 2003; 67 (2): 504–509. doi: 10.1002/jbm.a.10082.
30. Song R, Murphy M, Li C, Ting K, Soo C, Zheng Z. Current development of biodegradable polymeric materials for biomedical applications. *Drug Des Devel Ther.* 2018; 12: 3117–3145. doi: 10.2147/DDDT.S165440.
31. Gill I, Ballesteros A. Bioencapsulation within synthetic polymers (Part 1): sol–gel encapsulated biologicals. *Trends Biotechnol.* 2000; 18 (7): 282–296. doi: 10.1016/s0167-7799(00)01457-8.
32. Klymiuk N, Ludwig B, Seissler J, Reichart B, Wolf E. Current Concepts of Using Pigs as a Source for Beta-Cell Replacement Therapy of Type 1 Diabetes. *Curr Mol Biol Rep.* 2016; 2: 73–82. doi: 10.1007/s40610-016-0039-1.
33. Schneider MC, Barnes CA, Bryant SJ. Characterization of the chondrocyte secretome in photoclickable poly(ethylene glycol) hydrogels. *Biotechnol Bioeng.* 2017; 114 (9): 2096–2108. doi: 10.1002/bit.26320.
34. Carles-Carner M, Saleh LS, Bryant SJ. The effects of hydroxyapatite nanoparticles embedded in a MMP-sensitive photoclickable PEG hydrogel on encapsulated MC3T3-E1 pre-osteoblasts. *Biomed Mater.* 2018; 13 (4). doi: 10.1088/1748-605X/aabb31.
35. Nachlas ALY, Li S, Jha R. Human iPSC-derived mesenchymal stem cells encapsulated in PEGDA hydrogels mature into valve interstitial-like cells. *Acta Biomater.* 2018 Apr 15; 71: 235–246. doi: 10.1016/j.actbio.2018.02.025.
36. Qin X-H, Ovsianikov A, Stampfl J, Liska R. Additive manufacturing of photosensitive hydrogels for tissue engineering applications. *BioNanoMaterials.* 2014; 15 (3–4): 49–70. doi: 10.1515/bnm-2014-0008.
37. Cellesi F, Tirelli NA. New process for cell microencapsulation and other biomaterial applications: thermal gelation and chemical cross-linking in «tandem». *J Mater Sci Mater Med.* 2005; 16 (6): 559–565. doi: 10.1007/s10856-005-0532-1.
38. Jang JY, Lee DY, Park SJ, Byun Y. Immune reactions of lymphocytes and macrophages against PEG-grafted pancreatic islets. *Biomaterials.* 2004; 25 (17): 3663–3669. doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.062.
39. Cheung CY, Anseth KS. Synthesis of immunoisolation barriers that provide localized immunosuppression for encapsulated pancreatic islets. *Bioconjug Chem.* 2006; 17 (4): 1036–1042. doi: 10.1021/bc060023o.
40. Lin CC, Metters AT, Anseth KS. Functional PEG–peptide hydrogels to modulate local inflammation induced by the pro-inflammatory cytokine TNFalpha. *Biomaterials.* 2009; 30 (28): 4907–4914. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.05.083.
41. Dimitrioglou N, Kanelli M, Papageorgiou E, Karatzas T, Hatziavramidis D. Paving the way for successful islet encapsulation. *Drug Discov Today.* 2019; 24 (3): 737–748. doi: 10.1016/j.drudis.2019.01.020.
42. Hwang PTJ, Shah DK, Garcia JA, Bae CY, Lim D-J, Huiszoon RC et al. Progress and challenges of the bioartificial pancreas. *Nano Converg.* 2016; 3 (1): 28. doi: 10.1186/s40580-016-0088-4.
43. Song S, Roy S. Progress and challenges in macroencapsulation approaches for type 1 diabetes (T1D) treatment: Cells, biomaterials, and devices. *Biotechnol Bioeng.* 2016; 113 (7): 1381–13402. doi: 10.1002/bit.25895.
44. Gamble A, Pepper AR, Bruni A, Shapiro AMJ. The journey of islet cell transplantation and future development. *Islets.* 2018; 10 (2): 80–94. doi: 10.1080/19382014.2018.
45. Lamb M, Storrs R, Li S, Liang O et al. Function and viability of human islets encapsulated in alginate sheets: *in vitro* and *in vivo* culture. *Transplant Proc.* 2011; 43 (9): 3265–3266. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.10.028.

46. Boettler T, Schneider D, Cheng Y, Kadoya K, Brandon EP, Martinson L et al. Pancreatic tissue transplanted in theraocyte encapsulation devices is protected and prevents hyperglycemia in a mouse model of immunemediated diabetes. *Cell Transplant*. 2016; 25 (3): 609–614. doi: 10.3727/096368915X688939.
47. Lysy PA, Corritore E, Sokal EM. New Insights into Diabetes Cell Therapy. *Curr Diab Rep*. 2016; 16: 38. doi: 10.1007/s11892-016-0729-3.
48. Bartlett ST, Markmann JF, Johnson P, Korsgren O, Hering BJ, Scharp D et al. Report from IPITA-TTS Opinion Leaders Meeting on the Future of  $\beta$ -Cell Replacement. *Transplantation*. 2016; 100 (Suppl 2): S1–44. doi: 10.1097/TP.0000000000001055.
49. Cañibano-Hernández A, Burgo LSD, Espona-Nogueira A, Ciriza J, Pedraz JL. Current advanced therapy cell-based medicinal products for type-1-diabetes treatment. *Int J Pharm*. 2018; 543 (1–2): 107–120. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.03.041.
50. Ludwig B, Rotem A, Schmid J et al. Improvement of islet function in a bioartificial pancreas by enhanced oxygen supply and growth hormone releasing hormone agonist. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012; 109 (13): 5022–5027. doi: 10.1073/pnas.1201868109.
51. Neufeld T, Ludwig B, Barkai U et al. The efficacy of an immunoisolating membrane system for islet xenotransplantation in minipigs. *PLoS One*. 2013; 8 (8). doi: 10.1371/journal.pone.0070150.
52. Gholipourmalekabadi M, Zhao S, Harrison SB, Mozafari M, Seifalian MA. Oxygen-generating biomaterials: A new, viable paradigm for tissue engineering? *Trends Biotechnol*. 2016; 34 (12): 1010–1021. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.05.012.
53. Rausa RA, Nawawi FWMW, Nasaruddin RR. Alginate and alginate composites for biomedical applications. *AJPCR*. 2021; 16 (3): 280–306. doi: 10.1016/j.ajps.2020.10.001.
54. Pandolfi V, Pereira U, Dufresne M, Legallais C. Alginate-Based Cell Microencapsulation for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Curr Pharm Des*. 2017; 23 (26): 3833–3844. doi: 10.2174/1381612823666170609084016.
55. Fernando IPS, Lee WW, Han EJ, Ahn G. Alginate-based nanomaterials: Fabrication techniques, properties, and applications. *Chemical Engineering Journal*. 2020; 391. doi: 10.1016/j.cej.2019.123823.
56. Mallett AG, Korbitt GS. Alginate modification improves long-term survival and function of transplanted encapsulated islets. *Tissue Eng Part A*. 2009; 15 (6): 1301–1309. doi: 10.1089/ten.tea.2008.0118.
57. Ashimova A, Yegorov S, Negmetzhanov B, Hortelano G. Cell Encapsulation Within Alginate Microcapsules: Immunological Challenges and Outlook. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019; 7: 380. doi: 10.3389/fbioe.2019.00380.
58. Paredes-Juarez GA, de Haan BJ, Faas MM, de Vos PA. Technology platform to test the efficacy of purification of alginate. *Materials (Basel)*. 2014; 7 (3): 2087–2103. doi: 10.3390/ma7032087.
59. De Groot M, Schuur TA, van Schilfgaarde R. Causes of limited survival of microencapsulated pancreatic islet grafts. *J Surg Res*. 2004; 121 (1): 141–150. doi: 10.1016/j.jss.2004.02.018.
60. Mitchell A, Johnson B. Reactive polymers and microcapsules. *McMaster*: 2020.
61. De Vos P, de Haan B, van Schilfgaarde R. Effect of the alginate composition on the biocompatibility of alginate-polylysine microcapsules. *Biomaterials*. 1997; 18 (3): 273–278. doi: 10.1016/s0142-9612(96)00135-4.
62. Schneider S, Feilen PJ, Kraus O, Haase T, Sagban TA, Lehr H-A et al. Biocompatibility of alginates for grafting: impact of alginate molecular weight. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*. 2003; 31 (4): 383–394. doi: 10.1081/bio-120025409.
63. Robitaille R, Pariseau JF, Leblond FA, Lamoureux M, Lepage Y, Hallé JP. Studies on small (<350 microm) alginate-poly-L-lysine microcapsules. III. Biocompatibility Of smaller versus standard microcapsules. *J Biomed Mater Res*. 1999; 44 (1): 116–120. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(199901)44:1<116::aid-jbm13>3.0.co;2-9.
64. Lum ZP, Krestow M, Tai IT, Vacek I, Sun AM. Xenografts of rat islets into diabetic mice. An evaluation of new smaller capsules. *Transplantation*. 1992; 53 (6): 1180–1183. doi: 10.1097/00007890-199206000-00002.
65. Veisheh O, Doloff JC, Ma M, Vegas AJ, Tam HH, Bader AR et al. Size- and shape-dependent foreign body immune response to materials implanted in rodents and non-human primates. *Nat Mater*. 2015; 14 (6): 643–651. doi: 10.1038/nmat4290.
66. Haque MR, Kim J, Park H, Lee HS, Lee KW, Al-Hilal TA et al. Xenotransplantation of layer-by-layer encapsulated nonhuman primate islets with a specified immunosuppressive drug protocol. *J Control Release*. 2017; 258: 10–21. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.04.021.
67. Park H, Haque MR, Park JB, Lee KW, Lee S, Kwon Y et al. Polymeric nano-shielded islets with heparin-polyethylene glycol in a non-human primate model. *Biomaterials*. 2018; 171: 164–177. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.04.028.
68. Lou S, Zhang X, Zhang J, Deng J, Kong D, Li C. Pancreatic islet surface bioengineering with a heparinincorporated starPEG nanofilm. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017; 78: 24–31. doi: 10.1016/j.msec.2017.03.295.
69. Soon-Shiong P, Heintz RE, Merideth N, Yao QX, Yao Z, Zheng T et al. Insulin independence in a type 1 diabetic patient after encapsulated islet transplantation. *Lancet*. 1994; 343 (8903): 950–951. doi: 10.1016/s0140-6736(94)90067-1.
70. Calafiore R, Basta G, Luca G, Lemmi A, Montanucci MP, Calabrese G et al. Microencapsulated pancreatic islet allografts into nonimmunosuppressed patients with type 1 diabetes: First two cases. *Diabetes Care*. 2006; 29 (1): 137–138. doi: 10.2337/diacare.29.1.137.
71. Touch BE, Keogh GW, Williams LJ, Wu W, Foster JL, Vaithilingam V et al. Safety and viability of microencapsulated human islets transplanted into diabetic humans. *Diabetes Care*. 2009; 32 (10): 1887–1889. doi: 10.2337/dc09-0744.

72. *Graham ML, Schuurman H-J*. Pancreatic islet xenotransplantation. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2017; 23: 43–50. doi: 10.1016/j.ddmod.2017.11.004.
73. *Nagaraju S, Bottino R, Wijkstrom M, Trucco M, Cooper DKC*. Islet xenotransplantation: what is the optimal age of the islet-source pig? *Xenotransplantation*. 2015; 22 (1): 7–19. doi: 10.1111/xen.12130.
74. *Пеллегрини С, Сорди В, Пьемонти Л*. Замещение  $\beta$ -клеток поджелудочной железы при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 2013; (3): 11–20. *Pellegrini C, Sordi B, Piemonti L*. Pancreatic  $\beta$ -cell replacement in diabetes mellitus. *Diabetes*. 2013; (3): 11–20.
75. *Klymiuk N, van Buerck L, Bahr A, Offers M, Kessler B, Wuensch A et al*. Xenografted islet cell clusters from INSLEA29Y transgenic pigs rescue diabetes and prevent immune rejection in humanized mice. *Diabetes*. 2012; 61 (6): 1527–15232. doi: 10.2337/db11-1325.
76. *Ludwig B, Ludwig S*. Transplantable bioartificial pancreas devices: current status and future prospects. *Langenbecks Arch Surg*. 2015; 400 (5): 531–540. doi: 10.1007/s00423-015-1314-y.
77. *Korbitt GS, Elliott JF, Rajotte RV*. Co-transplantation of allogeneic islets with allogeneic testicular cell aggregates allows long-term graft survival without systemic immunosuppression. *Diabetes*. 1997; 46 (2): 317–322. doi: 10.2337/diab.46.2.317.
78. *Dufour JM, Rajotte RV, Kin T, Korbitt GS*. Immunoprotection of rat islet xenografts by cotransplantation with sertoli cells and a single injection of antilymphocyte serum. *Transplantation*. 2003; 75 (9): 1594–1596. doi: 10.1097/01.TP.0000058748.00707.88.
79. *Korbitt GS, Suarez-Pinzon WL, Power RF, Rajotte RV, Rabinovitch A*. Testicular Sertoli cells exert both protective and destructive effects on syngeneic islet grafts in non-obese diabetic mice. *Diabetologia*. 2000; 43 (4): 474–480. doi: 10.1007/s001250051331.
80. *Luca G, Calafiore R, Basta G, Ricci M, Calvitti M, Neri L et al*. Improved function of rat islets upon comicroencapsulation with Sertoli's cells in alginate/poly-Lornithine. *AAPS PharmSciTech*. 2001; 2 (3). doi: 10.1208/pt020315.
81. *Rasmusson I*. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res*. 2006; 312 (12): 2169–2179. doi: 10.1016/j.yexcr.2006.03.019.
82. *Longoni B, Szilagyi E, Quaranta P, Paoli GT, Tripodi S, Urbani S et al*. Mesenchymal stem cells prevent acute rejection and prolong graft function in pancreatic islet transplantation. *Diabetes Technol Ther*. 2010; 12 (6): 435–446. doi: 10.1089/dia.2009.0154.
83. *Kerby A, Jones ES, Jones PM, King AJ*. Cotransplantation of islets with mesenchymal stem cells in microcapsules demonstrates graft outcome can be improved in an isolated-graft model of islet transplantation in mice. *Cytotherapy*. 2013; 15 (2): 192–200. doi: 10.1016/j.jeyt.2012.10.018.
84. *Jourdan G, Dusseault J, Benhamou PY*. Co-encapsulation of bioengineered IGF-II-producing cells and pancreatic islets: effect on beta-cell survival. *Gene Therapy*. 2011; 18: 539–545. doi: 10.1038/gt.2010.166.
85. *Babiker NE, Gassoum A, Abdelraheem NE, Arbab MA, ALDeaf SAH, El-Sheikh MAA et al*. The progress of stem cells in the treatment of diabetes mellitus type 1. *Progress in Stem Cell*. 2017; 1: 175–188.
86. *Ilic D, Devito L, Miere C, Codognotto S*. Human embryonic and induced pluripotent stem cells in clinical trials. *Br Med Bull*. 2015; 116: 19–27. doi: 10.1093/bmb/ldv045.
87. *Zhou Q, Melton DA*. Pancreas regeneration. *Nature*. 2018; 557 (7705): 351–358. doi: 10.1038/s41586-018-0088-0.
88. *Dang LT-T, Bui AN-T, Pham VM, Phan NK, Pham PV*. Production of islet-like insulin-producing cell clusters *in vitro* from adiposederived stem cells. *Biomedical Research and Therapy*. 2015; 2 (1): 184–192. doi: 10.7603/s40730-015-0003-3.
89. *Борусов МА, Петракова ОС, Гвазава ИГ, Калистратова ЕН, Васильев АВ*. Клеточные подходы к лечению инсулинзависимого диабета. *Acta Nature (русскаяязычная версия)*. 2016; 8 (3): 34–48. *Borisov MA, Petrakova OS, Gvazava IG, Kalistratova EN, Vasiliev AV*. Cellular approaches to the treatment of insulin-dependent diabetes. *Acta Nature (Russian version)*. 2016; 8 (3): 34–48.
90. *Hashemian SJ, Kouhnavard M, Nasli-Esfahani E*. Mesenchymal stem cells: rising concerns over their application in treatment of type one diabetes mellitus. *J Diabetes Res*. 2015; 2015: 675103. doi: 10.1155/2015/675103.
91. *Li W, Cavelti-Weder C, Zhang Y, Clement K, Donovan S, Gonzalez G et al*. Long-term persistence and development of induced pancreatic  $\beta$  cells generated by lineage conversion of acinar cells. *Nat Biotechnol*. 2014; 32 (12): 1223–1230. doi: 10.1038/nbt.3082.
92. *Ariyachet C, Tovaglieri A, Xiang G, Lu J, Shah MS, Richmond CA et al*. Reprogrammed stomach tissue as a renewable source of functional  $\beta$  cells for blood glucose regulation. *Cell Stem Cell*. 2016; 18 (3): 410–421. doi: 10.1016/j.stem.2016.01.003.
93. *Cerda-Esteban N, Naumann H, Ruzittu S, Mah N, Pongrac IM, Cozzitorto C et al*. Stepwise reprogramming of liver cells to a pancreas progenitor state by the transcriptional regulator Tgif2. *Nature Communications*. 2017; 8: 14127. doi: 10.1038/ncomms14127.
94. *Chera S, Baronnier D, Ghila L, Cigliola V, Jensen JN, Gu G et al*. Diabetes recovery by age-dependent conversion of pancreatic  $\delta$ -cells into insulin producer. *Nature*. 2014; 514 (7523): 503–507. doi: 10.1038/nature13633.
95. *Pileggi A, Molano RD, Ricordi C, Zahr E, Collins J, Valdes R et al*. Reversal of diabetes by pancreatic islet transplantation into a subcutaneous, neovascularized device. *Transplantation*. 2006; 81 (9): 1318–1324. doi: 10.1038/nature13633.
96. *Pepper AR, Gala-Lopez B, Pawlick R, Merani S, Kin T, Shapiro AMJ*. A prevascularized subcutaneous deviceless site for islet and cellular transplantation. *Nat Biotechnol*. 2015; 33 (5): 518–523. doi: 10.1038/nbt.3211.
97. *Phelps EA, Templeman KL, Thule PM, Garcia AJ*. Engineered VEGF-releasing PEG-MAL hydrogel for pancreatic islet vascularization. *Drug Deliv Transl Res*. 2015; 5 (2): 125–136. doi: 10.1007/s13346-013-0142-2.

98. Marchioli G, Luca AD, Koning E. Hybrid polycaprolactone/alginate scaffolds functionalized with VEGF to promote de novo vessel formation for the transplantation of islets of Langerhans. *Adv Healthc Mater*. 2016; 5 (13): 1606–1616. doi: 10.1002/adhm.201600058.
99. Phelps EA, Headen DM, Taylor WR. Vasculogenic bio-synthetic hydrogel for enhancement of pancreatic islet engraftment and function in type 1 diabetes. *Biomaterials*. 2013; 34 (19): 4602–4611. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.012.
100. Veriter, S, Gianello P, Igarashi Y, Beaurin G, Ghyselink A, Aouassar N et al. Improvement of subcutaneous bioartificial pancreas vascularization and function by coencapsulation of pig islets and mesenchymal stem cells in primates. *Cell Transplant*. 2014; 23 (11): 1349–1364. doi: 10.3727/096368913X663550.
101. Bloch K, Papismedov E, Yavriyants K, Vorobeychik M, Beer S, Vardi P. Photosynthetic oxygen generator for bioartificial pancreas. *Tissue Eng*. 2006; 12 (2): 337–344. doi: 10.1089/ten.2006.12.337.
102. Barkai U, Weir GC, Colton CK, Ludwig B, Bornstein SR, Brendel MD et al. Enhanced oxygen supply improves islet viability in a new bioartificial pancreas. *Cell Transplant*. 2013; 22 (8): 1463–1476. doi: 10.3727/096368912X657341.
103. Thevenot P, Hu W, Tang L. Surface chemistry influences implant biocompatibility. *Curr Top Med Chem*. 2008; 8 (4): 270–280. doi: 10.2174/156802608783790901.
104. Zhu H, Li W, Liu Z, Li W, Chen N, Lu L et al. Selection of Implantation Sites for Transplantation of Encapsulated Pancreatic Islets. *Tissue Eng Part B Rev*. 2018; 24 (3): 191–214. doi: 10.1089/ten.TEB.2017.0311.
105. Desai T, Shea LD. Advances in islet encapsulation technologies. *Nat Rev Drug Discov*. 2017; 16 (5): 338–350. doi: 10.1038/nrd.2016.232.
106. Muthyala S, Safley S, Gordan K, Barber G, Weber C, Sambanis A. The effect of hypoxia on free and encapsulated adult porcine islets—an *in vitro* study. *Xenotransplantation*. 2017; 24 (1). doi: 10.1111/xen.12275.
107. Dufrane D, Goebels RM, Saliez A, Guiot Y, Gianello P. Six-month survival of microencapsulated pig islets and alginate biocompatibility in primates: proof of concept. *Transplantation*. 2006; 81 (9): 1345–1353. doi: 10.1097/01.tp.0000208610.75997.20.
108. Vaithilingam V, Evans MD, Rowe A, Bean PA, Tuch BE. Co-encapsulation of Target Effector Cells With Mesenchymal Stem Cells Reduces Pericapsular Fibrosis and Improves Graft Survival in a Xenotransplanted Animal Model. *Cell Transplant*. 2016; 25 (7): 1299–1317. doi: 10.3727/096368915X688975.
109. Yang HK, Yoon KH. Current status of encapsulated islet transplantation. *J Diabetes Complications*. 2015; 29 (5): 737–743. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2015.03.017.
110. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] A Phase I/II Study of the Safety and Efficacy of Sernova's Cell Pouch™ for Therapeutic Islet Transplantation. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01652911>.
111. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet]. Open-label Investigation of the Safety and Effectiveness of DIABECCELL® in Patients With Type 1 Diabetes Mellitus. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01739829>.
112. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] Safety and Efficacy Study of Encapsulated Human Islets Allograft Transplantation to Treat Type 1 Diabetes. Available from: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00790257>.
113. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01379729\(2013\)](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01379729(2013)).
114. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] A Safety, Tolerability, and Efficacy Study of VC-01™ Combination Product in Subjects With Type I Diabetes Mellitus. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02239354>.
115. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] An Open Label, Pilot Investigation, to Assess the Safety and Efficacy of Transplantation of Macroencapsulated Human Islets Within the Bioartificial Pancreas Beta-Air in Patients With Type 1 Diabetes Mellitus. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02064309>.
116. US National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov [Internet] Allogeneic Islet Cells Transplanted Onto the Omentum. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02213003>.
117. Tan PL. Company profile: Tissue regeneration for diabetes and neurological diseases at living cell technologies. *Regen Med*. 2010; 5 (2): 181–187. doi: 10.2217/rme.10.4.
118. Carlsson P-O, Espes D, Sedigh A. Transplantation of macroencapsulated human islets within the bioartificial pancreas βAir to patients with type 1 diabetes mellitus. *Am J Transplant*. 2018; 18 (7): 1735–1744. doi: 10.1111/ajt.14642.
119. Baidal DA, Ricordi C, Berman DM, Alvarez A, Padilla N, Ciancio et al. Bioengineering of an intraabdominal endocrine pancreas. *N Engl J Med*. 2017; 376 (19): 1887–1889. doi: 10.1056/NEJMc1613959.
120. Niu D, Wei HJ, Lin L, George H, Wang T, Lee I-H. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR–Cas9. *Science*. 2017; 357 (6357): 1303–1307. doi: 10.1126/science.aan4187.
121. Yang L, Güell M, Niu D, George H, Lesha E, Grishin D et al. Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs). *Science*. 2015; 350 (6264): 1101–1004. doi: 10.1126/science.aad1191.

Статья поступила в редакцию 13.07.2021 г.  
The article was submitted to the journal on 13.07.2021