



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Líneas de investigación en el trasplante de islotes pancreáticos

Alfonso J. Zapata-Garrido, Karina del Carmen Trujillo-Murillo

Servicio de Endocrinología, Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Recibido: mayo, 2009. Aceptado: febrero, 2010.

PALABRAS CLAVE

Células madre; Diabetes mellitus; Hipoglucemia; Inmunosupresión; Trasplante de islotes.

KEY WORDS

Diabetes mellitus; Hypoglycemia; Immunosuppression; Islet transplantation; Stem cells.

Resumen

La diabetes mellitus representa uno de los mayores problemas de salud pública a nivel mundial y nacional, ya que es uno de los principales componentes que aumentan el riesgo de enfermedad cardiovascular, principal causa de muerte en nuestro país. El trasplante alógeno de islotes pancreáticos forma parte del material terapéutico para esta enfermedad; constituye una alternativa de tratamiento para un grupo específico de pacientes con diabetes mellitus tipo 1, en el cual se ha demostrado mejoría en la calidad de vida, reducción tanto de los eventos de impercepción de la hipoglucemia como de la dosis de insulina diaria utilizada y, en algunos casos, independencia de su empleo. En esta revisión se pretende dar a conocer las líneas de investigación que se encuentran en curso en esta materia, cuyo objetivo es lograr una mayor supervivencia del injerto y evitar el uso de inmunosupresores postrasplante.

Research lines in pancreatic islets transplantation

Abstract

Diabetes mellitus constitutes one of the main national and global health problems, besides being a strong ingredient that increases the risk of cardiovascular disease, the main national cause of mortality. Included among the therapeutic options for this disease is allogeneic pancreatic islet transplantation, an alternative modality used in a specific group of patients with type 1 diabetes mellitus. Islet transplantation has produced an improvement in the quality of life, a decrease in hypoglycemia-unawareness related events, a decrease in daily insulin dose, and occasionally, the independence from the use of insulin. In this review we pretend to inform the recent trends in research on this subject, that have as objective to achieve longer survival of the graft and/or avoiding the use of post-transplant immunosuppression.

Correspondencia: Dr. Alfonso J. Zapata Garrido. Servicio de Endocrinología, Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL. Avenida Gonzalitos y Madero s/n. Colonia Mitras Centro. CP 64460. Monterrey, Nuevo León, México. Teléfono y fax: (81) 8348 7871. *Correo electrónico:* alfonso_zapata@hotmail.com

La diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) es un trastorno en el que las células beta pancreáticas productoras de insulina son destruidas por un mecanismo autoinmunitario; por consiguiente, el paciente necesita insulina exógena para sobrevivir.¹ Uno de los objetivos del tratamiento de la DM es el control óptimo de la glucemia, que se refleja en la reducción de la hemoglobina glucosilada a valores menores de 7% de acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes.² Está demostrado que lo anterior reduce el riesgo de complicaciones microvasculares como la retinopatía, la nefropatía y la neuropatía diabéticas,^{3,4} lo mismo que el de enfermedad cardiovascular,^{5,6} principal causa de muerte en México según datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática de 2007.⁷ Cabe mencionar que existen riesgos inherentes al óptimo control glucémico con insulina, como la ganancia de peso y la hipoglucemia,⁸ los cuales, en ausencia de mecanismos compensadores por neuropatía autonómica, pueden ser graves y ocasionar daño neurológico irreversible y aun la muerte. Esta disfunción en los mecanismos compensadores causa un estado conocido como impercepción de la hipoglucemia, que determina que el paciente experimente episodios de hipoglucemia grave sin los síntomas (diaforesis, temblor fino, ansiedad) que lo harían buscar medidas para corregirla. De esta manera, el individuo puede, súbitamente, presentar alteración del estado de la conciencia o morir; además, el estado de neuropatía autonómica se relaciona con mayor mortalidad cardiovascular.⁹ Por tanto la impercepción de la hipoglucemia no sólo afecta la calidad de vida del paciente, sino que es un factor limitante de importancia para el manejo estricto de la glucemia en estos individuos.²

El incremento del riesgo de hipoglucemia, la ganancia de peso no deseada,¹⁰ las excursiones glucémicas posprandiales y las fluctuaciones en la glucemia a lo largo del día,¹¹ que ocurren con el manejo intensivo con insulina en el paciente con DMT1, han generado la búsqueda de métodos alternativos que “curen” o “reviertan” el estado diabético a mediano y largo plazos. Algunas de estas alternativas son el control adecuado de la glucemia mediante la administración de amilina o la disminución de la secreción de glucagon, la prevención del ataque autoinmunitario, la expresión de factores de crecimiento, la diferenciación de la célula beta a partir de la administración de fármacos o terapia celular, o el reemplazo de la célula beta mediante trasplante de páncreas, trasplante de islotes, xenotrasplante, terapia génica, terapia con células madre o terapia con factores de diferenciación para promover la neogénesis de células beta.¹²

La alternativa de reemplazo de células beta puede restablecer la euglucemia y lograr la independencia del uso de insulina en pacientes con DMT1, sin el riesgo asociado de hipoglucemia.¹³ El trasplante de páncreas completo tiene una utilidad limitada a causa de la escasez de donadores, el riesgo operatorio y la posibilidad de falla del injerto,¹² por lo que en la actualidad el reemplazo se realiza mediante el trasplante de islotes pancreáticos de manera intrahepática por cateterismo transcutáneo de la vena porta, un procedimiento con menor riesgo quirúrgico.¹⁴

El trasplante alógeno de islotes pancreáticos es una alternativa de tratamiento para la DMT1 con la que se obtiene mejoría en la calidad de vida,¹⁵ menor variabilidad en la glucemia, disminución de la prevalencia de eventos de hipoglucemia grave,¹ mejoría en los niveles de hemoglobina glucosilada A1c,¹ restauración de la percepción de la hipoglucemia,^{1,16} reducción de la cantidad de insulina utilizada por día¹⁷ y, en algunos casos, independencia de su empleo.^{1,18} Sin embargo, como en el trasplante de órganos sólidos, la poca disponibilidad de páncreas humanos que cumplan con los criterios para donación y la inmunosupresión prolongada, con sus consecuentes efectos secundarios, son barreras para la implementación sistemática del trasplante como modalidad terapéutica estándar para estos pacientes.^{19,20} De hecho, los candidatos a trasplante deben presentar riesgos asociados a su inestabilidad metabólica de gravedad suficiente para justificar la inmunosupresión crónica.¹⁷

La ventaja de poder realizar el trasplante de islotes en ocasiones sucesivas si ocurre disfunción o falla del injerto se ve opacada por la historia natural de éste, que muestra disminución progresiva de su función secretora de insulina e incapacidad para producir la independencia de insulina con el paso del tiempo, de manera específica en los primeros tres años.¹ Esta reducción de su función es multifactorial y potencialmente comprende un número marginal de islotes trasplantados,²¹ toxicidad para la célula beta por inmunosupresores,²² rechazo del injerto,²³ recurrencia de autoinmunidad,²⁴ lipotoxicidad por la localización intrahepática del injerto,^{22,25} acumulación de amiloide,²⁶ activación de vías apoptóticas en la célula beta,²⁷ deficiencia de mecanismos tróficos (factores de crecimiento producidos por células madre u otras células locales),^{27,28} hipoxia posterior al aislamiento²⁹ y desproporción en la activación/regulación de la respuesta citotóxica al injerto mediada por células T. Estos mecanismos son objeto de investigación en el área básica y clínica, y pueden clasificarse en las siguientes modalidades, cuyos objetivos finales son conseguir un trasplante exitoso y funcional a largo plazo sin el uso de inmunosupresores o lograr una mayor supervivencia del injerto, o ambos.

Trasplante (xenogénico, alógeno, singénico) de islotes pancreáticos en dispositivos semipermeables

Como se mencionó, la limitada disponibilidad de páncreas humanos que reúnan los criterios para donación ha generado la necesidad de utilizar islotes de especies inferiores como fuente productora de insulina en el trasplante clínico para humanos. El rechazo hiperagudo esperado del injerto en esta modalidad condujo a investigar métodos alternativos para este tipo de trasplante, de preferencia en ausencia de inmunosupresores. Resultan de interés los resultados con tecnologías basadas en el uso de dispositivos semipermeables con materiales biocompatibles que forman una barrera física que separa los islotes pancreáticos de la respuesta inmunitaria y los anticuerpos del

receptor, lo que permite la difusión de oxígeno, glucosa, insulina y nutrientes. En particular la localización subcutánea de estos dispositivos tiene las siguientes ventajas: es menos invasiva, evita el microambiente hiperglucémico hepático, previene las altas concentraciones de inmunosupresores al interior del islote y permite el análisis histológico del injerto y su rápida remoción en caso de complicaciones; no obstante, las desventajas incluyen degradación del material y generación de una reacción fibrótica, que pueden interferir con la función del injerto.^{30,31} Por ello se ha intentado encontrar el material idóneo para fabricar estos dispositivos. En 2006 Pileggi y colaboradores³² describieron los resultados de la implantación subcutánea de un dispositivo biocompatible en modelos singénicos de trasplante de islotes en ratas diabéticas. El dispositivo consistió en una malla cilíndrica (con poros de 450 micras) de acero inoxidable de 2 cm de largo y 0.6 cm de diámetro, con dos tapones de politetrafluoroetileno en sus extremos y un cilindro del mismo material en su interior. Implantaron el dispositivo 40 días antes del trasplante para permitir el desarrollo de vascularización. En el momento del trasplante, el cilindro fue retirado y los islotes implantados en la cavidad resultante, ocluyendo su salida con un tapón. La comparación con el grupo de animales control que se sometieron a trasplante intrahepático de islotes reveló neovascularización en el dispositivo, obtención de euglucemia (que se revirtió a hiperglucemia una vez que el dispositivo se retiró) y preservación de islotes bien formados dentro del dispositivo comprobada mediante inmunohistoquímica para insulina a los 80 y 170 días postrasplante; también se “evitó” el contacto sanguíneo con los islotes, lo que en teoría previno el daño por inflamación.

Por otra parte, Valdés y colaboradores³³ describieron, con el mismo dispositivo implantado de forma subcutánea, un seguimiento de cuatro años en pacientes adolescentes mexicanos trasplantados con islotes porcinos junto con células de Sertoli porcinas, sin utilizar inmunosupresión. Demostraron supervivencia del injerto medida por determinación de péptido C porcino mediante cromatografía líquida de alta resolución, células productoras de insulina y glucagon mediante inmunohistoquímica, vascularidad presente, persistencia de las células de Sertoli, infiltrado celular de linfocitos T CD3+ y CD8+, y, en algunos pacientes, disminución de los requerimientos de insulina o independencia de ella.

Trasplante alógeno de islotes pancreáticos en sitios extrahepáticos

En la actualidad el trasplante de islotes en humanos se realiza por vía transcutánea luego de cateterizar la vena porta e infundir la solución con los islotes por gravedad, simulando microémbolos que se insertan en el parénquima hepático. Esta localización, como se señaló antes,³² expone los islotes a un mayor ambiente hiperglucémico (en comparación con su localización pancreática) y a una mayor concentración y fluctuación de los niveles de inmunosupresores, que a largo plazo podrían disminuir la

función del injerto. Además, la acumulación de amiloide y la estimulación de la lipogénesis inducida por altas concentraciones de insulina en el parénquima hepático producen daños morfológicos similares al hígado graso y pueden ser deletéreas para la función del injerto.^{25,34}

Si bien el hígado es el sitio para trasplante que ha producido los mejores resultados, por las razones mencionadas se intenta encontrar una mejor localización para el injerto. Algunos sitios estudiados en modelos animales son la cápsula renal,³⁵ el bazo,³⁶ el músculo esquelético,³⁷ el epiplón,³⁸ el testículo, el tejido celular subcutáneo (insuficiente para nutrir el injerto a causa de su flujo vascular limitado)³¹ y, en fecha más reciente, la cámara anterior del ojo (con la ventaja de que el crecimiento y funcionamiento de los islotes pueden visualizarse *in vivo*).³⁹ Aunque se describen ventajas con el uso de estos sitios como santuarios inmunológicos que permiten mayor funcionalidad del injerto a largo plazo, la invasividad o la poca viabilidad del injerto por el insuficiente flujo vascular en algunos de ellos limitan su establecimiento actual como sitio alternativo con más ventajas que el hígado.

Trasplante alógeno de islotes pancreáticos en conjunto con otras células con fines inmunomoduladores y/o como fuente de diferenciación o crecimiento, o ambos

La posibilidad teórica de lograr la regeneración de la célula beta tras el ataque autoinmunitario en la DMT1 se basa en experimentos en los que se consiguió la regeneración de la célula beta o la diferenciación hacia la misma a partir de células progenitoras mediante el uso de células madre (o células tallo) que “evaden” la autoinmunidad o mejoran la secreción endógena de insulina, o ambas cosas.⁴⁰ Estas células madre “adultas”, a diferencia de las células madre de embriones, pueden obtenerse de médula ósea u otros tejidos ecto/endodérmicos.⁴⁰ Aunque poseen una capacidad limitada de proliferación y una programación hacia un fenotipo celular específico, en teoría su utilización en forma autóloga evade el rechazo inmunológico; además, por su plasticidad, son susceptibles de manipulación hacia otros fenotipos celulares.⁴¹

El empleo de células madre provenientes de médula ósea arroja resultados contradictorios y no reproducibles. En los casos en los que se demuestra neogénesis endógena de células beta, los resultados sugieren que es secundaria a la restauración de la hematopoyesis o la formación de nueva vasculatura a partir de células endoteliales derivadas de las células madre.⁴¹

Las células madre mesenquimales, que pueden aislarse a partir de médula ósea o tejido adiposo,⁴¹ tienen propiedades inmunomoduladoras y un potencial de diferenciación *in vitro* hacia células secretoras de insulina.⁴⁰ En la actualidad la investigación con estas células es intensa. Fumimoto y colaboradores³¹ usaron células estromales derivadas de tejido adiposo (células mesenquimales), las cuales son capaces de diferenciarse en células endoteliales y producir neovascularización

en un modelo singénico de ratas con diabetes inducida por estreptozotocina. Después del implante temporal en el tejido subcutáneo de un espaciador plano de poliéster (10 x 12 mm) rodeado de las células estromales por cuatro semanas, se realizó el trasplante de islotes pancreáticos en la cavidad creada por el espaciador y se examinó el modelo a las ocho semanas. Se demostró mayor neovascularización medida por inmunohistoquímica para factor de von Willebrand, normoglucemia (< 200 mg/dL) en la primera semana después del trasplante (la cual se revirtió a hiperglucemia tras el retiro del injerto), una respuesta similar al control en una curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal y el logro de viabilidad del islote en el modelo que utilizó células estromales mezcladas con tejido adiposo microseccionado. Asimismo, en un modelo de ratones con diabetes inducida por estreptozotocina, Urbán y colaboradores⁴² probaron que la administración conjunta de células madre derivadas de médula ósea y células madre mesenquimales singénicas o alogenas restauró los niveles de insulina y glucosa después de una sola aplicación. La administración aislada de cualquiera de los dos tipos de células madre no tuvo estos resultados. Se demostró que ambos tipos de células madre inducen la regeneración endógena de células productoras de insulina; además, las células madre mesenquimales indujeron la desaparición de una población de linfocitos T específicos para la célula beta en el páncreas diabético. Aunque los resultados parecen alentadores, debe tomarse en cuenta la alta capacidad proliferativa de estas células con el consecuente riesgo de neoplasia. En particular, en modelos animales se informa la ganancia recurrente de ciertos cromosomas y un incremento en la expresión de c-Myc, que producen teratomas en modelos con inmunodeficiencia a corto plazo después del trasplante.^{40,41}

En otro modelo celular, mediante el uso de adyuvante completo de Freund y esplenocitos alogénos, Kodama y colaboradores⁴³ describieron reversión de la diabetes en ratones NOD (no-obesos diabéticos) a consecuencia de neoformación endógena de islotes, lo que sugiere la presencia de progenitores de células pancreáticas.

En modelos humanos, Valdés y colaboradores³³ utilizaron, mediante un dispositivo semipermeable, células porcinas de Sertoli, a las que se atribuyen factores inmunomoduladores como el factor transformante de crecimiento beta 1.⁴⁴ Este modelo, descrito antes, mostró tanto función del xenoinjerto a largo plazo sin inmunosupresión como necesidad de una menor cantidad de insulina. Sin embargo, no se reportaron signos de inmunodepresión, ni variaciones en las subpoblaciones de linfocitos, inmunoglobulinas o complemento.

Un modelo que integra varios de los conceptos descritos es el trasplante alogeno de islotes pancreáticos en la médula ósea. Hasta ahora se han descrito modelos en ratas. Salazar-Bañuelos y colaboradores^{45,46} demostraron por medios histológicos que, sin inmunosupresión, los islotes trasplantados producen insulina y glucagon, los signos de apoptosis o rechazo en modelos singénicos y alogénos, pero no en xenogénicos.

Desarrollo de tolerancia al injerto

La ocurrencia de efectos adversos, algunos serios o fatales, de los medicamentos que se utilizan en la inmunosupresión impulsó la búsqueda de nuevas modalidades de tratamiento para inducir tolerancia al injerto. Dichas modalidades incluyen quimerismo hemolinfopoyético (luego de regímenes mieloablativos o no mieloablativos),⁴⁷ administración intratímica de antígenos del donador⁴⁷ y bloqueo de la respuesta inmunitaria.⁴⁷ Puesto que hasta ahora no se conoce previamente al donador de los pacientes que se someten a trasplante (ya que para los protocolos de investigación se utilizan donadores cadavéricos con corazón latente), la investigación en este ramo se orienta cada vez más hacia el bloqueo de la respuesta inmunitaria y el abandono de inmunosupresores tradicionales (mofetilo de micofenolato, tacrolímús, sirolímús). El bloqueo de la respuesta inmunitaria puede efectuarse mediante la administración de moléculas (por lo general anticuerpos monoclonales) que interfieren en la co-estimulación de la célula T ante un antígeno,⁴⁸ anticuerpos específicos contra interleucinas inflamatorias,⁴⁸ anticuerpos depletos o no depletos de células T,⁴⁸ o maniobras manipuladoras de las células T reguladoras.⁴⁸ La creciente producción de anticuerpos monoclonales va aparejada a una regulación mayor por parte de la FDA (*Food and Drug Administration*) para su uso, a causa del incremento en la incidencia de leucoencefalopatía multifocal progresiva con la administración de efalizumab⁴⁹ (que se utilizaba para receptores de islotes pancreáticos) y mofetilo de micofenolato.⁵⁰

Encapsulación de islotes

Como el desarrollo de dispositivos semipermeables, esta línea de investigación busca crear un microambiente semipermeable a través del cual se difundan con libertad gases, nutrientes e insulina, evitando el paso de anticuerpos o citocinas hacia el islote y, por tanto, el uso de inmunosupresores en la medida de lo posible. En la actualidad se busca un material de encapsulación idóneo que sea biocompatible y mecánicamente estable; se han utilizado como materiales alginato, quitosán y, en fecha más reciente, polietilenglicol.⁵¹ Aunque se informa el logro de normoglucemia en roedores con diabetes inducida por estreptozotocina, aún no se demuestra una función óptima con cargas de glucosa.⁵¹ Otra desventaja de este procedimiento es que requiere maquinaria especializada para lograr la encapsulación de los islotes, además de que quizá sea necesaria una mayor cantidad de islotes pancreáticos para lograr resultados óptimos en modelos humanos.

Aporte de factores farmacológicos diferenciadores/protectores del injerto

Se describen diversas moléculas como posibles protectores o diferenciadoras del injerto, las cuales se utilizan durante el aislamiento de los islotes, durante el cultivo

de los mismos o en el receptor después del trasplante. Dichas moléculas incluyen hormonas (calcitriol, estradiol, GLP-1, IGF-1), factores de transcripción (HGF, agonistas de PPAR gamma) y fármacos (estatinas, dextrano, inhibidores de COX-2, nicotinamida, inhibidores de proteasas, endotoxina, lisofilina).⁵² En específico, con el uso de exenatida se obtiene una mayor secreción de insulina del injerto en pruebas de estimulación y un menor empleo de insulina exógena, pero no una mejor supervivencia del injerto.²¹ La combinación de lisofilina y exenatida mostró reversión de la diabetes por cerca de cinco meses en modelos de ratones NOD.⁵³ Asimismo, Suárez-Pinzón y colaboradores⁵⁴ demostraron incremento en la masa de células beta y disminución de la respuesta autoinmunitaria en un modelo de ratones NOD con una combinación de GLP-1 y gastrina.

En trasplantes singénicos de ratas con diabetes inducida por estreptozotocina trasplantadas de manera intraportal, Lee y colaboradores²⁵ comprobaron que la administración de leptina produjo lipopenia, con la consecuente prevención de esteatosis hepática, hiperglucemia y apoptosis de la célula beta.

Finalmente, otra línea de investigación comprende el uso de herramientas farmacológicas/genéticas de transdiferenciación celular hacia células beta o células productoras de insulina, o ambas. Existe evidencia de neoformación de células beta a partir de células pancreáticas exocrinas con el empleo de factor de crecimiento epidérmico y factor inhibidor de la leucemia⁴¹ o a partir de células ductales con factor de crecimiento epidérmico y gastrina.⁵⁵

Conclusiones

Con base en lo anterior resulta claro que el campo de la investigación en el trasplante de islotes pancreáticos es extenso y requiere la participación de un equipo multidisciplinario de especialistas: técnicos en imagen, biotecnólogos, personal de laboratorio, bioquímicos, cirujanos, genetistas, inmunólogos y endocrinólogos. Se espera que en los próximos años esta modalidad de tratamiento alternativo, aún en fase de investigación, pueda ofrecerse a pacientes en la clínica, tanto a individuos con diabetes mellitus tipo 1 como a aquéllos con diabetes mellitus tipo 2, lo que produciría un mayor impacto en salud pública dada la epidemiología de estas enfermedades.

Referencias

- Collaborative Islet Transplant Registry Fifth Annual Report. Collaborative Islet Transplant Registry. Rockville, MD, 2008. www.citregistry.org
- American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010 (Position statement). *Diabetes Care* 2010;33(Suppl. 1): S11-S61.
- Reichard P, Nilsson B-Y, Rosenqvist U. The effect of long-term intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:304-309.
- Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus: the Diabetes Control and Complications Trial. *N Engl J Med* 1993;329:978-986.
- Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005;353:2643-2653.
- Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2003;348:2294-2303.
- www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/proyectos/continuas/vitales/BD/tabulados/ConsultaMortalidad.asp
- Cryer PE. Hypoglycemia: the limiting factor in the glycemic management of type I and type II diabetes. *Diabetologia* 2002;45:937-948.
- Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003;26:1553-1579.
- Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Weight gain associated with intensive therapy in the diabetes control and complications trial. The DCCT Research Group. *Diabetes Care* 1988;11:567-573.
- Boland E, Monsod T, Delucia M, Brandt CA, Fernando S, Tamborlane WV. Limitations of conventional methods of self-monitoring of blood glucose: lessons learned from 3 days of continuous glucose sensing in pediatric patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001;24:1858-1862.
- Ruggles JA, Kelemen D, Baron A. Emerging therapies: controlling glucose homeostasis, immunotherapy, islet transplantation, gene therapy, and islet cell neogenesis and regeneration. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2004;33:239-252.
- Sutherland DER, Gruessner A, Hering BJ. Beta-cell replacement therapy (pancreas and islet transplantation) for treatment of diabetes mellitus: an integrated approach. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2004;33:135-148.
- Hering BJ, Ricordi C. Results, research priorities, and reasons for optimism: islet transplantation for patients with type 1 diabetes. *Graft* 1999;2:12-27.
- Poggioli R, Faradji RN, Ponte G, Betancourt A, Messinger S, Baidal DA et al. Quality of life after islet transplantation. *Am J Transplant* 2006;6:371-378.
- Leitao CB, Tharavani T, Cure P, Pileggi A, Baidal DA, Ricordi C et al. Restoration of hypoglycemia awareness after islet transplantation. *Diabetes Care* 2008;31:2113-2115.
- Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL, Kneteman NM et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000;343:230-238.
- Hering BJ, Kandaswamy R, Ansite JD, Eckman P, Nakano M, Sawada T et al. Single-donor, marginal-dose islet transplantation in patients with type 1 diabetes. *JAMA* 2005;293:1594.
- Hauptman PJ, O'Connor KJ. Procurement and allocation of solid organs for transplantation. *N Engl J Med* 1997;336:422-431.
- Robertson RP. Islet transplantation: travels up the learning curve. *Curr Diabet Rep* 2002;2:365-370.
- Froud T, Faradji RN, Pileggi A, Messinger S, Baidal DA, Ponte G et al. The use of exenatide in islet transplant recipients with chronic allograft dysfunction: Safety, efficacy, and metabolic effects. *Transplantation* 2008;86:36-45.
- Desai NM, Goss JA, Deng S, Wolf BA, Markmann E, Palanjian M et al. Elevated portal vein drug levels of sirolimus and

- tacrolimus in islet transplant recipients: Local immunosuppression or islet toxicity? *Transplantation* 2003;76:1623.
23. Campbell PM, Salam A, Ryan EA, Senior P, Paty BW, Bigam D et al. Pretransplant HLA antibodies are associated with reduced graft survival after clinical islet transplantation. *Am J Transplant* 2007;7:1242.
 24. Stegall MD, Lafferty KJ, Kam I, Gill RG. Evidence of recurrent autoimmunity in human allogeneic islet transplantation. *Transplantation* 1996;61:1272.
 25. Lee Y, Ravazzola M, Park BH, Bashmakov YK, Orci L, Unger RH. Metabolic mechanisms of failure of intraportally transplanted pancreatic beta-cells in rats. *Diabetes* 2007;56:2295.
 26. Haataja L, Gurlo T, Huang CJ, Butler PC. Islet amyloid in type 2 diabetes, and the toxic oligomer hypothesis. *Endocr Rev* 2008;29:303-316.
 27. Pileggi A, Ricordi C, Alessiani M, Inverardi L. Factors influencing islet of Langerhans graft function and monitoring. *Clinica Chimica Acta* 2001;310:3-16.
 28. Thomas FT, Contreras JL, Bilbao G, Ricordi C, Curiel D, Thomas JM. Anoikis, extracellular matrix, and apoptosis factors in isolated cell transplantation. *Surgery* 1999;126:299-304.
 29. Giuliani M, Moritz W, Bodmer E, Dindo D, Kugelmeier P, Lehmann R et al. Central necrosis in isolated hypoxic human pancreatic islets: Evidence for postisolation ischemia. *Cell Transplant* 2005;14:67-76.
 30. Juang JH, Bonner-Weir S, Ogawa Y, Vacanti JP, Weir GC. Outcome of subcutaneous islet transplantation improved by polymer device. *Transplantation* 1996;61:1557.
 31. Fumimoto Y, Matsuyama A, Komoda H, Okura H, Lee CM, Nagao A et al. Creation of a rich subcutaneous vascular network with implanted adipose tissue-derived stromal cells and adipose tissue enhances subcutaneous grafting of islets in diabetic mice. *Tissue Engineering* 2009;15:1.
 32. 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;81:1318-1324.
 33. Valdés-González RA, Dorantes LM, Garibay GN, Bracho-Blanchet E, Méndez AJ, Dávila-Pérez R et al. Xenotransplantation of porcine neonatal islets of Langerhans and Sertoli cells: a 4-year study. *Eur J Endocrinol* 2005;153:419-427.
 34. Markmann JF, Rosen M, Siegelman ES, Soulen MC, Deng S, Barker CF et al. Magnetic resonance-defined periportal steatosis following intraportal islet transplantation. *Diabetes* 2003;52:1591-1594.
 35. Reece-Smith H, DuToit DF, McShane P, Morris PJ. Prolonged survival of pancreatic islet allografts transplanted beneath the renal capsule. *Transplantation* 1981;31:305.
 36. Finch DR, Wise PH, Morris PJ. Successful intrasplenic transplantation of syngeneic and allogenic isolated pancreatic islets. *Diabetologia* 1977;13:195.
 37. Axen KV, Pi-Sunyer FX. Long-term reversal of streptozotocin-induced diabetes in rats by intramuscular islet implantation. *Transplantation* 1981;31:439.
 38. Kin T, Korbitt GS, Rajotte RV. Survival and metabolic function of syngeneic rat islet grafts transplanted in the omental pouch. *Am J Transplant* 2003;3:281.
 39. Speier S, Nyqvist D, Cabrera O, Yu J, Molano RD, Pileggi A et al. Noninvasive in vivo imaging of pancreatic islet cell biology. *Nature Medicine* 2008;14:574.
 40. Vija L, Farge D, Gautier JF, Vexiau P, Dumitrache, Bourgarit A et al. Mesenchymal stem cells: Stem cell therapy perspectives for type 1 diabetes. *Diabetes Metab* (2009), doi:10.1016/j.diabet.2008.10.003
 41. Santana A, Enseñat-Waser R, Arribas MI, Reig JA, Roche E. Insulin-producing cells derived from stem cells: recent progress and future directions. *J Cell Mol Med* (2006), doi:10.2755/jcmm010.004.06
 42. Urbán VS, Kiss J, Kovács J, Gócsa E, Vas V, Monostori E et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells* 2008;26:244-253.
 43. Kodama S, Kuhlreiber W, Fujimura S, Dale EA, Faustman DL. Islet regeneration during the reversal of autoimmune diabetes in NOD mice. *Science* 2003;302:1223-1227.
 44. Suárez-Pinzón W, Korbitt GS, Power R, Hooton J, Rajotte RV, Rabinovitch A. Testicular Sertoli cells protect islet beta-cells from autoimmune destruction in NOD mice by a transforming growth factor-beta-1-dependent mechanism. *Diabetes* 2000;49:1810-1818.
 45. Salazar-Bañuelos A, Wright J, Sigalet D, Benítez-Bribiesca L. The bone marrow as a potential receptor site for pancreatic islet grafts. *Arch Med Res* 2008;39:139-141.
 46. Salazar-Bañuelos A, Wright J, Sigalet D, Benítez-Bribiesca L. Pancreatic islet transplantation into the bone marrow of the rat. *Am J Surg* 2008;195:674-678.
 47. Inverardi L, Ricordi C. Tolerance and pancreatic islet transplantation. *Phil Trans R Soc Lond* 2001;356:759-765.
 48. Piccirillo CA, Shevach EM. Naturally-occurring CD4+CD25+ immunoregulatory T cells: central players in the arena of peripheral tolerance. *Seminars in Immunology* 2004;16:81-88.
 49. Berger JR, Houff SA, Major EO: Monoclonal antibodies and progressive multifocal leukoencephalopathy. *MAbs* 2009;1:583-589.
 50. Neff RT, Hurst FP, Falta EM, Bohem EM, Lentine KL, Dharnidharka VR et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy and use of mycophenolate mofetil after kidney transplantation. *Transplantation* 2008;86:1474-1478.
 51. De Vos P, Hamel AF, Tatarkiewicz K. Considerations for successful transplantation of encapsulated pancreatic islets. *Diabetologia* 2002;45:159-173.
 52. Pileggi A, Fenjves ES, Klein D, Ricordi C, Pastori RL. Protecting pancreatic beta-cells. *IUBMB Life* 2004;56:387-394.
 53. Yang Z, Chen M, Carter JD, Nunemaker CS, Garmey JC, Kimble SD et al. Combined treatment with lisofylline and exendin-4 reverses autoimmune diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;344:1017-1022.
 54. Suárez-Pinzón WL, Poer RF, Yan Y, Wasserfall C, Atkinson M, Rabinovitch A. Combination therapy with glucagon-like peptide-1 and gastrin restores normoglycemia in diabetic NOD mice. *Diabetes* 2008;57:3281-3288.
 55. Rooman I, Bouwens L. Combined gastrin and epidermal growth factor treatment induces islet regeneration and restores normoglycemia in C57Bl6/J mice treated with alloxan. *Diabetologia* 2004;47:259-265.