

Pankreas Adacık Hücre Nakli: Güncel Durum

Pancreatic Islet Cell Transplantation: Current Status: Review

Başak KARBEK,^a
Ferda PINARLI ALPASLAN,^b
Tuncay DELİBAŞI^{a,b}

^aEndokrinoloji Kliniği,
^bHücre Araştırma Merkezi,
Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 26.02.2013
Kabul Tarihi/Accepted: 26.08.2013

Yazışma Adresi/Correspondence:
Başak KARBEK
Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Endokrinoloji Kliniği, Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
b_karbek@yahoo.com

ÖZET Tip 1 diabetes mellitus (DM), pankreatik Langerhans adacık β -hücrelerinin kalıcı yıkımına yol açan, otoimmün bir hastalıktır. Ekzojen insülin tedavisi yaşam kalitesini dramatik bir biçimde arttırsa da, kronik diyabetik komplikasyonlar, hastaların büyük bir çoğunluğunda gelişmekte ve bu komplikasyonlar genellikle ilerlemekte ve zaman içerisinde daha da kötüye gitmektedir. Yoğun insülin tedavisinin nefropati, retinopati, nöropati gibi komplikasyonların oluşumunu geciktirmekte ve bazen ilerlemesini önlemekte etkili olduğu gösterilmesine rağmen, uzun vadede bu sonucu elde etmek ya da sürdürmek çok zordur. Bu zorluğun nedenleri, uyum sorunları ve ekzojen insülin tedavisinin yoğunlaştırılması ile ilişkili olarak meydana gelen artan ciddi hipoglisemi atak riskidir. Klinik çalışmalar, pankreas veya saflaştırılmış pankreas adacık naklinin, Tip 1 DM hastalarında glukoz homeostazını sağlayabileceğini göstermiştir. Adacık hücre nakli, diyabet tedavisinde alternatif bir yol olabilir ve daha fizyolojik endojen insülin salgılanmasını sağlayarak, kronik komplikasyon insidansını azaltabilir. Adacık hücre naklinin, daha az invaziv cerrahi gerektirmesi ve daha düşük intra-postoperatif komplikasyon riski gibi organ nakline kıyasla bazı avantajları mevcuttur. Son yıllarda adacık hücre izolasyon ve nakil prosedürlerindeki önemli gelişmeler, pek çok merkezi, diyabetli hastalarda adacık hücre nakli klinik deneylerine devam etme konusunda teşvik etmiştir. Bu çalışmanın amacı, diyabet tedavisi için klinik adacık naklindeki en son gelişmeleri gözden geçirmektir.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, Tip 1; Langerhans adacıkları;
Langerhans adacıkları transplantasyonu

ABSTRACT Type 1 diabetes mellitus is an autoimmune disease, which results in the permanent destruction of β -cells of the pancreatic islets of Langerhans. While exogenous insulin therapy has dramatically improved the quality of life, chronic diabetic complications develop in a substantial proportion of subjects and these complications generally progress and worsen over time. Although intensive insulin therapy has proven effective to delay and sometimes prevent the progression of complications such as nephropathy, neuropathy or retinopathy, it is difficult to achieve and maintain long term in most subjects. Reasons for this difficulty include compliance issues and the increased risk of severe hypoglycemic episodes, which are generally associated with intensification of exogenous insulin therapy. Clinical studies have shown that transplantation of pancreas or purified pancreatic islets can support glucose homeostasis in type 1 diabetic patients. Islet cell transplantation may offer an alternative way to treat diabetes, and might also decrease the incidence of chronic complications by restoring a more physiological endogenous insulin secretion. Islet cell transplantation has some advantages over whole organ transplants, which include the need for a significantly less invasive surgery and the smaller risk of intra- and post-operative complications. During the last decade, the significant development of islet cell isolation and transplantation procedures has encouraged several centers to resume clinical trials of islet cell transplantation in patients with diabetes mellitus. The purpose of this article is to review recent progress in clinical islet transplantation for the treatment of diabetes.

Key Words: Diabetes mellitus, type 1; islets of Langerhans; islets of Langerhans transplantation

Diabetes mellitus (DM), tüm yaş gruplarında görülebilen, sıklığı dünyada ve ülkemizde giderek artan, yaşam kalitesini ve süresini azaltan, kronik hiperglisemi, nefropati, retinopati ve nöropati gibi hayati organları tehdit eden, komplikasyonlarla seyreden önemli bir hastalıktır.¹ Yoğun insülin tedavisi ile sıkı glisemik kontrol sağlanmaya çalışılsa da, diyabetin komplikasyonları tam olarak önlenememektedir. Bu tedavi, kabul edilebilir kan glukoz seviyesini sürdürmede etkili iken, hipo ve hiperglisemiyi önlemede başarısız olmakta ve potansiyel olarak akut (hipoglisemik epizodlar) ve kronik komplikasyonlarla sonuçlanmaktadır. Günümüzde uzun dönem komplikasyon gelişmesini önleyebilecek etkin, minimal invaziv tedavi seçenekleri araştırılmaktadır.² Pankreas nakli, hastaların yaşam kalitesi ve süresini arttırsa da, hastaların ciddi bir operasyona maruz bırakılmaları ve uzun süreli immünsüpresif kullanmaları zorunluluğu nedeni ile kullanımı kısıtlı bir tedavi prosedürüdür ve alternatif tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç vardır. Bu yaklaşımlardan biri olan pankreatik adacık nakli, daha az girişimsel olması ve hastaları, rutin insülin kullanımına bağlı olarak gelişen komplikasyonlara karşı koruyabilmesinden dolayı önemli bir avantaj sağlamaktadır.³ Pankreası bütün olarak nakletmek yerine donörlerden izole edilen pankreas adacık hücrelerinin, Tip 1 DM hastalarının karaciğerlerine enjekte edilmesiyle yapılan adacık nakillerinde umut vaat eden sonuçlar ortaya çıkmaktadır.⁴ Günümüzde başarılı adacık nakilleri, dünya çapında bir çok merkezde gerçekleştirilmektedir. Fakat bu, pek çok faktörün sonuçları etkilediği kompleks bir prosedürdür. Tüm organ nakillerinde olduğu gibi adacık naklinde de arz-talep dengesizliği olmaktadır. Bu nedenle, adacık nakli alıcıları özenle seçilmekte ve bu tedavi Tip 1 DM hastalarının yalnızca çok küçük bir yüzdesine uygulanabilmektedir. Adacık nakli için uygun olan hastalar; beş yıldan daha uzun zamandır Tip 1 DM tanılı, yaşları 18-65 yıl arasında olan ve şiddetli hipoglisemik ataklarla seyreden kötü diyabet kontrolü olanlardır.

Langerhans adacıkları, insülin salgılayan β -hücreleri içerdiğinden, sadece adacıkların nakli Tip 1 DM tedavisi için teorik olarak oldukça cazip bir yaklaşımdır. Adacıklar, pankreasın %1-2'sini oluş-

turduğundan, adacık nakli, pankreas nakline göre daha küçük bir transplant kitlesi ile gerçekleştirilmekte, bu da daha az invaziv bir prosedür olmasına ve daha az immünolojik doku nakline olanak sağlamaktadır. 1967 yılında, ilk kez Lacy ve Kostianovsky, ratlarda pankreas adacık izolasyonu için yeni kollajenaz bazlı bir yöntem geliştirmişlerdir. 1960-1970'li yıllarda adacık nakli için başarılı hayvan modelleri yayımlandı.⁵⁻⁷ Ancak adacık hücrelerinin boyutu, yapısı ve hücresel içeriklerinin farklılığı ve çevre dokulara yapışıklığı nedeni ile büyük hayvanlarda bulunan adacık hücreleri küçük hayvanlarda bulunan (sıçan, kobay gibi) adacık hücrelerinden farklı idi.⁸ Bu nedenlerden dolayı, kemirgen türlerinden adacık hücrelerinin izole edilmesi için geliştirilen yöntemlerin, büyük hayvanlara ve insanlara uygulandığında etkisiz olduğu görülmüştür. 1970-1980 yılları arasında hayvan modelleri, insanlara uyarlanmaya çalışılmıştır. Yıllar içinde, başarılı allojeneik insan adacık hücre nakli raporları yayımlanmıştır.^{9,10} Bunlardan en önemlisi, Shapiro ve ark. tarafından yayımlanan ve 7 Tip 1 DM'li hastada adacık nakli sonrası insülin den bağımsızlık elde edilen rapordur.¹¹ Edmonton Protokolü'nün sonuçlarının yayımlanması ve bir grup merkez tarafından bildirilen klinik sonuçlardaki ilerlemeler, allojeneik adacık naklinin, Tip 1 DM'nin olumsuz sonuçlarına karşı kullanılabilir bir tedavi şekli olduğunu göstermiştir.^{11,12}

2001 yılında kurulan ortak adacık nakli veri tabanı, Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'da ve bazı Avrupa ve Avustralya'da bulunan nakil merkezlerindeki verileri toplayarak analiz etmiştir. 2009 raporu 412 allograft alıcının verilerini içermekte idi. Adacık alıcıların çoğunda, birden fazla kez tekrar edilen adacık infüzyonuna ihtiyaç duyulduğu görülmüştür. Total infüzyon sayısı göz önüne alınmaksızın, üç yıllık takipte, alıcıların yaklaşık %27'si insülin bağımsız, %30'u ölçülebilir C-peptit değerleri ile insülin bağımlı idi ve %27'sinde ise ölçülebilir C-peptit tespit edilememişti. 2005 yılından sonra adacık nakli yapılan alıcıların, 1994-2004 yılları arasında nakil yapılanlara göre insülin bağımsızlığının çok daha uzun olduğu görülmüş, bu sonuç da, gelişmiş adacık izolasyon yöntemlerine ve nakil sonrası artmış adacık canlılığı oranlarına bağlanmıştır.

Tüm adacık nakli alıcılarında insülin bağımsızlık oranı nakil sonrası altıncı ayda %55'ten dördüncü yılda %16'ya düşmektedir. Tersine, adacık fonksiyon kaybı oranı ise altıncı ayda %12'den dördüncü yılda %42'ye çıkmaktadır. Genel olarak beş yıllık insülin bağımsızlık oranı ise yaklaşık olarak %10'dur.^{13,14} Uzun süreli izlemde adacık nakli sonrası insülin bağımsızlık oranındaki bu düşme, bu tedavinin yaygın kullanımını kısıtlayan en önemli engel gibi görülmektedir. Bu nedenle, günümüzde halen süregelen çalışmaların büyük kısmında, adacık hücre kaybı nedenlerinin anlaşılması ve engellemeye yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Bazı faktörler, nakil öncesinde, nakil sırası ve sonrasında etki göstererek adacık kaybına neden olabilmektedir (Tablo 1).

NAKİL ÖNCESİ VE NAKİL SIRASINDA ETKİLİ FAKTÖRLER

Başarılı bir pankreas nakli sonrasında glukoz konsantrasyonu hemen normale dönmesine rağmen, adacık nakillerinde glukoz düşürücü etki daha yavaş gerçekleşmektedir. Bunun sebebi muhtemelen, fonksiyonel β -hücrelerinin yetersiz sayıda nakledilmesidir. Tek adacık infüzyonu -bir donörden alınan- genellikle normoglisemiyi sağlamada yetersiz kalmaktadır. Donör özellikleri, donör pankreasın elde edilmesi, taşıma sırasında pankreasın korunması, kullanılan adacık izolasyon prosedürü

ve kültür koşulları adacıkların sayı ve kalitesinde önemli etkiye sahip faktörlerdir.¹⁵ Adacık kaybının önemli bir kısmının nakil sırasında olduğu düşünülmektedir, çünkü adacık, karaciğer portal sisteminin kan bileşenleri ile doğrudan temas ettiği anlık kan aracılı iltihabi reaksiyon tetiklenmektedir.^{16,17} Böylece genellikle yetersiz miktarda adacık kitlesi karaciğer dokusuna ulaşabilmektedir. Nakil sırasında ve sonrasında heparin ya da antiinflamatuar ilaç kullanımı gibi çeşitli önlemler, fonksiyonel adacık kitlesi kaybının önlenmesinde denenmiştir.^{18,19} Hâlâ, pek çok uzman adacık nakli sonuçlarını geliştirmek için en iyi yolun, adacık nakli sırasında ve hemen sonrasında gelişen inflammatuar reaksiyonun önlenmesi ile mümkün olabileceğini düşünmektedir.

NAKİL SONRASINDA ADACIKLAR ÜZERİNDE ETKİLİ FAKTÖRLER

Portal ven içerisine infüze edildikten sonra adacıklar karaciğere ulaşmaktadır. Burada yeni çevrelere uyum sağlamaları gerekir, ancak olumsuz koşullarla karşı karşıya gelirler. Adacıklar, infüzyon sonrasında hemen, ilaçlara ve glukoz gibi portal sistemde periferik dolaşımdan daha yüksek konsantrasyonda bulunan besinlere maruz kalırlar ve bu da adacık fonksiyonunu olumsuz etkileyebilir. En potansiyel sorunlardan biri, immünespresif ilaçların verilmesini gerektiren akut rejeksiyondur. Ne yazık ki, kalsinörin inhibitörü ve steroid gibi bazı immünespresif ilaçlar, β -hücre fonksiyonunu olumsuz etkileyebilir.²⁰ Glukoz metabolizması üzerinde daha az etkiye sahip immünespresif ilaçlar kullanmak ve glukotoksisiteden kaçınmak için sıkı glisemik kontrol yapmak gibi önlemler, adacıkların iyi bir başlangıç yapmasına yardımcı olabilir.¹⁸ Ek olarak, karaciğerdeki toksik ilaç seviyeleri ve ani kan aracılı inf-lamatuar reaksiyondan kaçınacak ve transplante dokunun vaskülaritesini iyileştirecek alternatif implantasyon yerleri araştırılmaktadır.¹⁹ Son zamanlarda adacıklar, insan kol kasına transplante edilmiştir ve bu adacıkların damar yoğunluğu ve adacık kan akışı, karaciğere nakledilen adacıkların aksine, sağlam pankreasın doğal adacıklarına benzer bulunmuştur.²¹ Böbrek kapsülü, dalak, omental poş, kas ve kemik iliği diğer potansiyel nakil yerleridir.

TABLO 1: Adacık kaybına etki eden faktörler.

Adacık verim ve kalitesini etkileyen faktörler
Verici özellikleri
Organ alımı
Koruma ve ulaşım
Izolasyon teknikleri
Kültür koşulları
Nakil sırası ve sonrasında, transplante hücre kitlesi kaybına etki eden faktörler
Hızlı kan aracılı inflammatuar reaksiyon
Otoimmünite nöksü
İmmünespresif ilaçların toksisitesi
Allorejeksiyon
Glukotoksisite
Hepatik yağlanma

Adacık revaskülarizasyonu birkaç hafta içinde ortaya çıkar, ama karaciğer içine transplante edilen adacıklarda, adacık içi damar ağı daha az gelişir.²² Bu nedenle, erken rejeksiyon olmasa bile adacık greftleri, nakil sonrası bir aydan üç aya kadar maksimal etkinliğe ulaşamayabilirler. Üç aya kadar adacık etkinliği belirgin hale gelir, ancak hastaların ortalama olarak sadece yarısı 15 ay insülin bağımsız olarak kalır.²³ Kronik allogreft rejeksiyon, uzun dönem greft yetmezliğinin potansiyel bir nedenidir.²² Otoimmünite de tekrarlayabilir, çünkü otoantijenlere pozitif T-hücre yanıtları ile adacık alıcılarının, tüm greft işlevini kaybetmesi daha olasıdır.²⁴ Dahası, β -hücreleri üzerinde immünsupresif ilaçların uzun dönem toksik etkileri de büyük bir öneme sahiptir.

Adacık nakli sonrası insülin bağımsız olan hastalarda, glukoz konsantrasyonu yükselmeye başlamadan önce β -hücre kitlesinin önemli bir kısmı zaten yok edilmiş olabilir. β -hücre kitlesi veya β -hücrelerine karşı alloimmün ve otoimmün reaksiyonu monitörize etmek için kullanılacak bir yöntem olmadığından, nakil yapılmış intrahepatik adacıkları değerlendirme işlemi sorunludur. Çünkü diğer tüm organ nakillerinde biyopsiler, rejeksiyon, iskemi, immünsupresif ilaç toksisitesi hakkında bilgi vermekte iken, karaciğere dağılmış adacıklara biyopsi yapmak çok zordur. Karaciğer biyopsileri ışık mikroskopu ile nakledilen adacıkları değerlendirmek için yapılmıştır.²² Ancak bu işlem, adacık örnekleme oranı düşük, referans değerlerin yokluğu nedeni ile klinik pratikte sınırlı değeri olan invaziv bir metottur. Bu nedenle güncel araştırmalar, nakil öncesi, nakil sonrası ve sonrasında fonksiyonel β -hücre kitlesinin artırılmasına ve nakil yapılmış adacıkların fonksiyonel değerlendirmesini geliştirmeye odaklanmıştır.

ADACIK HÜCRE CANLILIĞINI ARTTIRMAK İÇİN DEVAM EDEN ARAŞTIRMALAR

Son 20 yılda, adacık hücre izolasyon tekniğinde önemli gelişmeler olmasına, allojeneik adacık naklinin klinik sonuçlarında bildirilmiş başarılarla ve yeni immünsupresif rejimlerin mevcudiyetine rağmen, allojeneik adacık hücreleri naklinde hâlâ dikate değer sorunlar devam etmektedir.²⁵⁻²⁷

Alternatif bir teknik olarak, nakledilecek β -hücrelerinin bağışıklık sisteminden izole edilip koruyacak yarı geçirgen bir muhafazanın (enkapsülasyon) içine konulması önerilmiştir. Yine pek çok merkezde, destek veya koruma sağlayan diğer hücre türleri ile adacık naklinin yapılması üzerinde birlikte çalışılmaktadır. Rodentlerde endotel hücreleri ile birlikte adacık nakli daha başarılı bulunmuştur.²⁸ Proanjiyojenik faktör VEGF ürettikleri bilinen kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre (MKH)'lerin adacıklar ile birlikte nakli, adacık greft morfoloji ve fonksiyonunu büyük olasılıkla adacık revaskülarizasyonunu destekleyerek geliştirmektedir.²⁹ Lu ve ark.nın yaptığı bir çalışmada ise MKH'lerin, apoptotik hücre oranını azaltıp, hipoksi ve oksidatif stres ile ilişkili genleri arttırarak, adacıkları hipoksi/reoksijenizasyona bağlı hasarlarından koruduğu gösterilmiştir.³⁰

Sonuç olarak;

- Bir başarılı nakilde, gerekli donör sayısını azaltmak için adacık verimi nasıl geliştirilebilir?
- Optimal greft fonksiyonunu elde etmede, en iyi adacık nakli yeri ve tekniği hangisidir?
- Alternatif nakil yöntemleri geliştirmek için biyomateryaller nasıl kullanılabilir?
- Hangi in vitro test, nakledilen adacıkların in vivo fonksiyonlarını en iyi gösterir?
- Hangi alternatif hücre kaynakları (embriyonik kök hücre veya doku spesifik progenitör hücreler gibi) donör organ sıkıntısını aşmak için kullanılabilir?
- Adacık hücrelere daha az toksik olan immünsupresif stratejiler nelerdir?
- Uzun dönem adacık allogreft yetersizliğinde önemli faktörler nelerdir?
- Adacıklar in vivo en iyi nasıl görüntülenebilir ve izlenebilir?
- Uzun dönem adacık fonksiyonu nasıl iyileştirilebilir?

Bu soruların yanıtları adacık hücre naklinin başarısını arttırarak, Tip 1 DM hastalarında rutin bir tedavi olarak uygulanmasına imkân sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993;329(14):977-86.
2. Lim DJ, Antipenko SV, Anderson JM, Jaimes KF, Viera L, Stephen BR, et al. Enhanced rat islet function and survival in vitro using a biomimetic self-assembled nanomatrix gel. *Tissue Eng Part A* 2011;17(3-4):399-406.
3. 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(2):371-8.
4. Naftanel MA, Harlan DM. Pancreatic islet transplantation. *PLoS Med* 2004;1(3):e58; quiz e75.
5. Lacy PE, Kostianovsky M. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 1967;16(1):35-9.
6. Ballinger WF, Lacy PE. Transplantation of intact pancreatic islets in rats. *Surgery* 1972;72(2):175-86.
7. Lillehei RC, Idezuki Y, Kelly WD, Najarian JS, Merkel FK, Goetz FC. Transplantation of the intestine and pancreas. *Transplant Proc* 1969;1(1):230-8.
8. Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes* 1988;37(4):413-20.
9. Gores PF, Najarian JS, Stephanian E, Lloveras JJ, Kelley SL, Sutherland DE. Insulin independence in type I diabetes after transplantation of unpurified islets from single donor with 15-deoxyspergualin. *Lancet* 1993;341(8836):19-21.
10. Scharp DW, Lacy PE, Santiago JV, McCullough CS, Weide LG, Falqui L, et al. Insulin independence after islet transplantation into type I diabetic patient. *Diabetes* 1990;39(4):515-8.
11. Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000;343(4):230-8.
12. Shapiro AM, Ricordi C, Hering B. Edmonton's islet success has indeed been replicated elsewhere. *Lancet* 2003;362(9391):1242.
13. Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP, et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med* 2006;355(13):1318-30.
14. Langer RM. Islet transplantation: lessons learned since the Edmonton breakthrough. *Transplant Proc* 2010;42(5):1421-4.
15. Ryan EA, Paty BW, Senior PA, Bigam D, Alfadhli E, Kneteman NM, et al. Five-year follow-up after clinical islet transplantation. *Diabetes* 2005;54(7):2060-9.
16. Vantyghem MC, Kerr-Conte J, Arnalsteen L, Sergent G, Defrance F, Gmyr V, et al. Primary graft function, metabolic control, and graft survival after islet transplantation. *Diabetes Care* 2009;32(8):1473-8.
17. Fiorina P, Gremizzi C, Maffi P, Caldara R, Tavano D, Monti L, et al. Islet transplantation is associated with an improvement of cardiovascular function in type 1 diabetic kidney transplant patients. *Diabetes Care* 2005;28(6):1358-65.
18. Warnock GL, Thompson DM, Meloche RM, Shapiro RJ, Ao Z, Keown P, et al. A multi-year analysis of islet transplantation compared with intensive medical therapy on progression of complications in type 1 diabetes. *Transplantation* 2008;86(12):1762-6.
19. Merani S, Toso C, Emamaullee J, Shapiro AM. Optimal implantation site for pancreatic islet transplantation. *Br J Surg* 2008;95(12):1449-61.
20. Harlan DM, Kenyon NS, Korsgren O, Roep BO; Immunology of Diabetes Society. Current advances and travails in islet transplantation. *Diabetes* 2009;58(10):2175-84.
21. Daly B, O'Kelly K, Klassen D. Interventional procedures in whole organ and islet cell pancreas transplantation. *Semin Intervent Radiol* 2004;21(4):335-43.
22. Campbell PM, Senior PA, Salam A, Labranche K, Bigam DL, Kneteman NM, et al. High risk of sensitization after failed islet transplantation. *Am J Transplant* 2007;7(10):2311-7.
23. Robertson RP. Islet transplantation a decade later and strategies for filling a half-full glass. *Diabetes* 2010;59(6):1285-91.
24. Khan MH, Harlan DM. Counterpoint: clinical islet transplantation: not ready for prime time. *Diabetes Care* 2009;32(8):1570-4.
25. Linetsky E, Bottino R, Lehmann R, Alejandro R, Inverardi L, Ricordi C. Improved human islet isolation using a new enzyme blend, liberase. *Diabetes* 1997;46(7):1120-3.
26. Bucher P, Mathe Z, Morel P, Bosco D, Andres A, Kurfuest M, et al. Assessment of a novel two-component enzyme preparation for human islet isolation and transplantation. *Transplantation* 2005;79(1):91-7.
27. Emamaullee JA, Stanton L, Schur C, Shapiro AM. Caspase inhibitor therapy enhances marginal mass islet graft survival and preserves long-term function in islet transplantation. *Diabetes* 2007;56(5):1289-98.
28. Johansson U, Rasmusson I, Niclou SP, Forslund N, Gustavsson L, Nilsson B, et al. Formation of composite endothelial cell-mesenchymal stem cell islets: a novel approach to promote islet revascularization. *Diabetes* 2008;57(9):2393-401.
29. Ito T, Itakura S, Todorov I, Rawson J, Asari S, Shintaku J, et al. Mesenchymal stem cell and islet co-transplantation promotes graft revascularization and function. *Transplantation* 2010;89(12):1438-45.
30. Lu Y, Jin X, Chen Y, Li S, Yuan Y, Mai G, et al. Mesenchymal stem cells protect islets from hypoxia/reoxygenation-induced injury. *Cell Biochem Funct* 2010;28(8):637-43.