

На правах рукописи



Ермакова Полина Сергеевна

**Микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с островками Лангерганса
для компенсации инсулин-дефицитных состояний**

1.1.10. Биомеханика и Биоинженерия

1.5.22. Клеточная биология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент
член-корреспондент РАН

Загайнова Елена Вадимовна

кандидат биологических наук

Кашина Александра Викторовна

Официальные оппоненты:

Макарова Ольга Васильевна – доктор медицинских наук, Государственный научный центр Российской Федерации Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», лаборатория иммуноморфологии воспаления, заведующий лабораторией

Бонарцев Антон Павлович – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет, доцент

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»

Защита диссертации состоится «11» сентября 2026 года в 12:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.003.03 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.003.03
кандидат биологических наук, доцент



Шпичка Анастасия Иосифовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Абсолютные инсулин-дефицитные состояния, в первую очередь сахарный диабет 1 типа, являются заболеваниями, при которых разрушаются инсулинпродуцирующие клетки островков Лангерганса (ОЛ), что приводит к повышению уровня глюкозы в крови. Подобные метаболические нарушения сопряжены с высоким риском острых угрожающих состояний (тяжелая гипо- и гипергликемия), а также с развитием отсроченных сосудистых осложнений. Инсулиноterapia не обеспечивает полноценной защиты от гипергликемии и осложнений. В качестве альтернативы рассматривается трансплантация ОЛ, которая, даже без полной инсулиновой независимости, значительно снижает риск резких гликемических скачков и улучшает качество жизни. Тем не менее широкое внедрение этого подхода сдерживается тремя основными проблемами: необходимостью длительной иммуносупрессии, риском тромботических осложнений и значительной гибелью трансплантированных клеток в раннем посттрансплантационном периоде. Перспективным направлением является трансплантация инкапсулированных ОЛ. Клетки помещают в биосовместимую полупроницаемую мембрану, которая пропускает кислород, инсулин и питательные вещества, но блокирует иммунные клетки и антитела. Это позволяет избежать отторжения без иммуносупрессии и защищает клетки после трансплантации. Трансплантацию проводят в брюшную полость, сальник или подкожно, что повышает её безопасность. Однако проведенные клинические исследования не показали долгосрочной эффективности из-за перикапсулярного фиброза. Таким образом, ключевая задача - разработка новой микрокапсулы. Она должна быть полупроницаемой, биосовместимой, нетоксичной и повышать эффективность доставки, приживления и функциональной активности ОЛ.

Степень разработанности темы исследования

Технология инкапсуляции используется во всем мире (Sittadjody et al., 2021). Существует несколько подходов: микро-, макро- и наноинкапсуляция (Dimitrioglou et al., 2019). Наиболее популярна микроинкапсуляция. Микрокапсулы, в отличие от макрокапсул, обладают оптимальным соотношением площади поверхности к объёму, что оптимизирует диффузию веществ (Lopez-Mendez et al., 2021). В микрокапсулах ОЛ менее подвержены иммунной атаке, чем в нанокапсулах, из-за меньшего риска расположения на границе капсулы (Damyar et al., 2021).

Классический метод создания микрокапсул включает синтез альгинатной сердцевины, покрытие её полимером для увеличения стабильности и создания иммунологического барьера, и нанесение третьего слоя альгината для увеличения биосовместимости (Siwakoti, et. al., 2023). Наиболее изучены альгинат-поли(L-лизин)-альгинатные (АПА) микрокапсулы (Lim et. al.,

1980), но они недостаточно прочны и вызывают иммунную реакцию на инородное тело (Lopez-Mendez et al., 2021). Изучались и другие системы: на основе альгината сверхвысокой вязкости (Storz et al., 2010), альгинат-хитозан-ПЭГ (Najafikhah, et al., 2018), альгинат-хитозан-дексаметазон (Kim et al., 2021) и другие. Проблемы остаются: иммунное отторжение, гибель ОЛ из-за недостатка питательных веществ и гибель ОЛ из-за гипоксии после трансплантации и потери стабильности микрокапсулы (Siwakoti, et al., 2023). Выживаемость после трансплантации можно повысить за счет совершенствования технологий инкапсуляции и поиска новых биосовместимых материалов и их комбинаций (Vaithilingam et al., 2017).

Перспективным материалом является полимер ПМЭТАХ. Он является структурным аналогом поли-L-лизина. Он катионный, биосовместимый и подходит для покрытия медицинских изделий (Thompson et al., 2016). ПМЭТАХ не проявляет цитотоксичности для клеточных линий мышей (J774A.1, BV2) и человека (PVMCs) (Imtiaz Y. et al., 2020). Его использование снижает адсорбцию фибриногена и обрастание имплантата (Chouwatat et al., 2017; Kawasaki et al., 2014). В комплексе с другими полимерами и факторами роста он способствует регенерации нервной ткани (Chen et al., 2015; Ruzicka et al., 2019). Ранее ПМЭТАХ использовался как стабилизирующий компонент альгинатных микрокапсул для миобластов C2C12. Проницаемость капсул соответствовала 70 кДа, что подходит для инкапсуляции ОЛ (Shen et al., 2009).

Таким образом, биоинженерный трансплантат, совмещающий ОЛ и микрокапсулы на основе простой комбинации альгината и ПМЭТАХ уникален по двум ключевым аспектам. Во-первых, полимер ПМЭТАХ ранее не использовался для инкапсуляции ОЛ. Во-вторых, в отличие от предыдущих методов, где ПМЭТАХ сочетали с сополимерами, мы использовали ПМЭТАХ самостоятельно, создавая более простую и эффективную микрокапсулу. Перспективность применения такой микрокапсулы для инкапсуляции ОЛ обусловлена высокой биосовместимостью и стабильностью, что является ключевым фактором для увеличения срока службы трансплантата.

Цель и задачи исследования

Целью работы являлось изучение структуры, физико-механических и биологических свойств микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат», оценка возможности их применения для продления срока функционирования островков Лангерганса (ОЛ) при трансплантации.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Охарактеризовать структуру и физико-механические свойства микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с различными концентрациями ПМЭТАХ. На основании полученных данных выбрать наиболее перспективную микрокапсулу для проведения дальнейших испытаний.

2. Изучить влияние инкапсуляции в микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ альгинат» на жизнеспособность и функциональную активность ОЛ *in vitro*.

3. Оценить способность микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» пропускать инсулин, защищать от воздействия иммунной системы и продлевать срок функционирования ОЛ в экспериментальных моделях диабета 1 типа у крыс *in vivo*.

4. Исследовать биосовместимость микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ альгинат» по уровню биодegradации микрокапсулы, воспалительной реакции и окружающего фиброза в экспериментальных моделях диабета 1 типа у крыс *in vivo*.

Научная новизна

Ключевой новизной разработанных микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» является применение нового полимерного покрытия для инкапсуляции ОЛ. Мы выявили оптимальную концентрацию ПМЭТАХ для формирования трехслойной, стабильной и полупроницаемой микрокапсулы. Была охарактеризована структура и физико-механические свойства микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат». Впервые было показано, что микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» не являются цитотоксичными для ОЛ. Впервые было продемонстрировано, что микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с ОЛ способны компенсировать инсулинодефицит, продлевая срок функционирования клеток и снижая уровень глюкозы в крови у крыс с диабетом I типа. При этом выявлена высокая биосовместимость микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с ОЛ, не обнаружено выраженного фиброза и воспаления при трансплантации.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработанный биоинженерный трансплантат на основе микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с ОЛ демонстрирует новый подход к клеточной терапии. Полученные данные расширяют представление о применении новой комбинации альгината и ПМЭТАХ в составе микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» для инкапсуляции ОЛ. Данный задел можно использовать для дальнейшей разработки технологии трансплантации инкапсулированных ОЛ в микрокапсулах на основе альгината и полимера ПМЭТАХ. Полученные данные о проницаемости созданных микрокапсул, отсутствии цитотоксического эффекта и биосовместимости микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» подтверждают потенциал полимера ПМЭТАХ в качестве стабилизирующего компонента новой микрокапсулы. В будущем создание технологии трансплантации инкапсулированных ОЛ откроет большие перспективы лечения пациентов с СД1.

Методология и методы исследования

В ходе исследования применены комплексные методы оценки структурных и физико-механических свойств микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат». Устойчивость к

деформации и упругие свойства оценивали с помощью теста осмотического стресса. Также исследована стабильность микрокапсул к вымыванию сшивающих ионов альгината и замещению их ионами натрия. Ультраструктуру изучали методом трансмиссионной электронной микроскопии. Были осуществлены методы выделения и культивирования первичных клеточных культур ОЛ крыс и кроликов. Флуоресцентная и сканирующая лазерная конфокальная микроскопия (ЛСКМ) применялась для оценки проницаемости микрокапсул с ОЛ совместно с окрашиванием FITC-мечеными лектинами. Так же ЛСКМ использовалась для оценки жизнеспособности ОЛ, окрашенных набором Live/Dead assay. Функциональную активность ОЛ определяли методом ИФА, измеряя секрецию инсулина. Экспериментальную модель диабета 1 типа индуцировали стрептозотоцином (СТЗ) у крыс. Способность микрокапсул пропускать инсулин, защищать ОЛ от иммунного ответа и продлевать их функционирование *in vivo* оценивали по динамике снижения уровня глюкозы в крови после трансплантации. Биосовместимость изучали гистологическими и иммуногистохимическими методами. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.0.1 и Microsoft Office Excel.

Положения, выносимые на защиту

1. Микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с концентрацией ПМЭТАХ 0,4%, обладают характерной трехслойной структурой, необходимой проницаемостью, устойчивы к деформации осмотическим давлением и стабильны при промывании физиологическими средами.

2. В экспериментах *in vitro* подтверждено, что после инкапсуляции в микрокапсулу «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» ОЛ сохраняют жизнеспособность и функциональную активность (синтез инсулина).

3. Трансплантация микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с ОЛ крысам с диабетом I типа способна компенсировать инсулинодефицит, снижать уровень глюкозы в крови. При этом микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» способны продлевать функциональную активность ОЛ.

4. Подтверждена высокая биосовместимость микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с ОЛ, не обнаружено формирования выраженного фиброза и воспаления при трансплантации крысам с диабетом. Также показано, что ОЛ могут оставаться функционально активными до 3-х месяцев.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования были внедрены в учебный процесс НИИ Экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России при

изучении дисциплины «Основы регенеративной медицины», читаемой студентам по направлению подготовки 06.04.01 «Биология» по профилю «Экспериментальная медицина».

Личный вклад автора

Личный вклад состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационной работы. Автор самостоятельно проводил анализ имеющейся литературы, планировал и проводил описанные эксперименты. Синтез микрокапсул и их промывка выполнены совместно с ИМХ РАН, электронная микроскопия – с ЦНИЛ ФГБОУ ВО «ПИМУ». Автор самостоятельно представлял результаты исследований на конференциях и непосредственно осуществлял публикацию результатов. Имена всех соавторов, а также их вклад, указаны в опубликованных работах.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия, направлениям исследований согласно пунктам: 10 (Создание заменителей органов и тканей); 11 (Разработка инженерных принципов и развитие концепции инженерного подхода в биологии для создания искусственных органов); 14 (Применение клеточной терапии в регенеративной медицине, восстановление поврежденных тканей с помощью активации эндогенных стволовых клеток или с помощью трансплантации клеток); 18 (Выращивание методами регенеративной медицины органов и тканей для компенсации утраченных или компенсации их пониженных физиологических функций). Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.22. Клеточная биология, направлениям исследований согласно пунктам: 11 (Изучение закономерностей изменения структурной и цитохимической организации клеток при культивировании их вне организма); 12 (3D-культуры); 14 (Исследование адаптации клеток и тканей к действию различных факторов внешней среды); 19 (Клеточные технологии как основа для разработки терапевтических подходов для лечения различных патологий).

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность данных была подтверждена их воспроизводимостью при проведении нескольких (минимум трех) независимых экспериментов для каждого полученного образца, а также статистической обработкой полученных результатов.

Результаты диссертационной работы были представленный в виде устных докладов на 24 конференциях: TERMIS EU 25 (Фрайберг (Германия), 2025), 17th International conference on Laser Applications in Life Sciences (Мугла (Турция) 2023), International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT) (Владивосток, 2024; Москва 2022), IV Балтийский симпозиум по иммунологии, молекулярной и регенеративной медицине с международным участием

(Калининград, 2024), VI Национальный конгресс по регенеративной медицине, (Москва, 2022), Ломоносов 2022 (Москва, 2022), XXIV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье», (Санкт-Петербург, 2021), VII Всероссийская научно-практическая конференция «3D-технологии в медицине» (Нижний Новгород, 2023), Международный молодежный форум «Неделя науки – 2021» (Ставрополь, 2021), Биосистемы: организация, поведение, управление (Нижний Новгород, 2025; 2024; 2023), X Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием "VolgaMedScience» (Нижний Новгород, 2024; 2023; 2022; 2021), 26 Нижегородская сессия молодых ученых (технические, естественные науки) (Нижний Новгород, 2021, 2020). Работа была отмечена как лучшая в рамках конкурса молодых ученых на VI Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Санкт-Петербург, 2024) и 6-ой Российской конференции по медицинской химии (Нижний Новгород, 2024). Работа получила диплом 1 степени на XXXIV международной зимней молодежной научной школе "Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (Москва, 2022) и 75-ой Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2022). Работа вышла в финал VII Всероссийского конкурса научно-исследовательских работ студентов и аспирантов «наука будущего – наука молодых».

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 27 работ, в том числе:

7 статей в изданиях, индексируемых в международных базах Scopus; 5 иных публикаций; 14 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций; 1 патент.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов, а также главы с результатами собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Диссертация изложена на 144 страницах машинописного текста, содержит 3 таблицы и 22 рисунка. Список литературы включает 217 источников, в том числе 208 работ иностранных авторов и 9 русскоязычных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В работе исследованы новые трехслойные микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат», синтезированные микрофлюидным методом в лаборатории фотополимеризации и полимерных материалов ИМХ имени Г. А. Разуваева РАН (г. Н. Новгород). Катионный полиэлектролит ПМЭТАХ (поли-[2-(метакрилоилокси)этил]триметиламмонийхлорид), использованный для

формирования промежуточного слоя, также был синтезирован в ИМХ РАН. Работа выполнена в рамках НИР по ГЗ № АААА-А20-120022590096-6.

Для оптимизации состава покрытия варьировали концентрацию рабочего раствора ПМЭТАХ в диапазоне от 0,01% до 1,0% на этапе формирования полимерного слоя. Оценка влияния концентрации полимера включала анализ ряда свойств.

Осмотическая стабильность: устойчивость к деформации под действием осмотического давления оценивали путем регистрации динамики изменения диаметра микрокапсул в соответствии с опубликованным протоколом (Verheyen et al., 2019). Данный параметр характеризует способность материала сопротивляться внешней механической нагрузке, вызванной осмотическим градиентом.

Устойчивость к вымыванию ионов: физико-химическую стабильность гелевой сети, определяющую механические характеристики микрокапсул, оценивали путем многократного промывания физиологическим раствором с последующей регистрацией целостности, что моделирует процесс замещения сшивающих ионов кальция на ионы натрия.

Проницаемость: исследование проводили с использованием FITC-меченных лектинов с различной молекулярной массой: FITC-Triticum Vulgare (WGA, 36 кДа) и FITC Ricinus communis (RCA-I, 120 кДа). Способность лектинов специфически связываться с углеводными компонентами на поверхности ОЛ позволяла косвенно оценить проникновение молекул через мембрану по уровню флуоресценции инкапсулированных ОЛ. В качестве контролей использовали суспензии свободных ОЛ и пустых микрокапсул.

Ультроструктура: для визуального подтверждения формирования трехслойной структуры и оценки морфологии применяли трансмиссионную электронную микроскопию.

Все эксперименты на животных были одобрены Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России. Для анестезии применяли комбинацию золетила (Virbac NZ, 6 мг/кг) и ксилазина (Bayer, 90 мг/кг). В работе использовали 125 крыс линии Wistar (возраст 2-4 месяца) и 25 кроликов породы Серый Великан (возраст 1-2 месяца).

ОЛ выделяли из поджелудочных желез 45 крыс и 25 кроликов по стандартному протоколу с модификациями. Принадлежность выделенных клеток к ОЛ подтверждали окрашиванием дитизоном. Жизнеспособность клеток до и после инкапсуляции оценивали с помощью флуоресцентного красителя Life/Dead с последующей визуализацией на конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия).

Функциональную активность ОЛ (секрецию инсулина) определяли путем анализа культуральной среды после 24-часовой инкубации с помощью коммерческого набора для ИФА (Cloud-Clone Corp., США) в соответствии с инструкцией производителя.

Для выбора оптимального места трансплантации пустые микрокапсулы (1 мл) имплантировали в брюшину и в сальник здоровым крысам (n=10) на срок 1 неделю. После извлечения проводили количественный анализ и оценку целостности микрокапсул, а также уровня адгезии клеток реципиента к их поверхности. Ткани сальника и брюшины с имплантированными микрокапсулами подвергали гистологическому анализу для оценки реакции окружающих тканей.

Модель стрептозотоцин (СТЗ)-индуцированного диабета формировали у крыс в дозах 65 мг/кг (n=15) и 45 мг/кг (n=15). Критерием успешной индукции диабета служили: уровень гликемии натощак ≥ 16 ммоль/л через 7 дней и двукратное снижение уровня глюкозы через 1 час после введения 1 МЕ инсулина. Стабильность модели в течение 3 месяцев подтверждали мониторингом уровня глюкозы в крови, определением уровня инсулина в плазме и иммуногистохимическим (ИГХ) анализом поджелудочных желез на инсулин и глюкагон.

Чтобы подтвердить необратимость индуцированного диабета при снятии глюкозотоксичности, подгруппах подгруппе животных (n=15 для каждой дозы СТЗ) проводили терапию инсулином (Хумулин® НПХ, LILLY FRANCE, Франция) в дозе 1–6 МЕ дважды в сутки на протяжении 3 месяцев с последующим ИГХ-анализом.

Для изучения влияния трансплантации ОЛ на компенсацию диабета были сформированы группы:

1. Крысы с СТЗ-индуцированным диабетом без лечения (n=15).
2. Крысы с диабетом, получившие трансплантацию свободных ОЛ кролика в сальник (n=10; 2000 ОЛ на животное).
3. Крысы с диабетом, получившие трансплантацию инкапсулированных ОЛ кролика в сальник (n=10; 2000 ОЛ на животное).

О функциональной активности трансплантированных ОЛ *in vivo* судили по динамике уровня глюкозы в крови в течение 3 месяцев, результатам теста толерантности к глюкозе и определению концентрации инсулина кролика и крысы в плазме крови.

Биосовместимость трансплантата оценивали через 3 месяца после имплантации путем гистологического анализа, включавшего оценку уровня биodeградации и фиброобразования микрокапсул, а также выраженности воспалительного ответа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Структура и физико-механические свойства микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат»

Для тестирования физико-механических свойств микрокапсул использовали концентрации ПМЭТАХ в диапазоне от 0,01% до 1%. Оценка осмотической стабильности проводили с помощью осмотического стресса на 1 и 7 сутки после синтеза. Все протестированные

микрокапсулы проявили устойчивость к осмотическому стрессу, однако степень их деформации и скорость восстановления варьировали. Непокрытые альгинатные микрокапсулы демонстрировали набухание до 30%. Нанесение покрытия ПМЭТАХ значительно повышало стабильность: изменение размера для концентраций 0,01%, 0,1%, 0,4% и 1% составило 10,6%, 3,5%, 1,0% и 0,6% соответственно (Рисунок. 1).

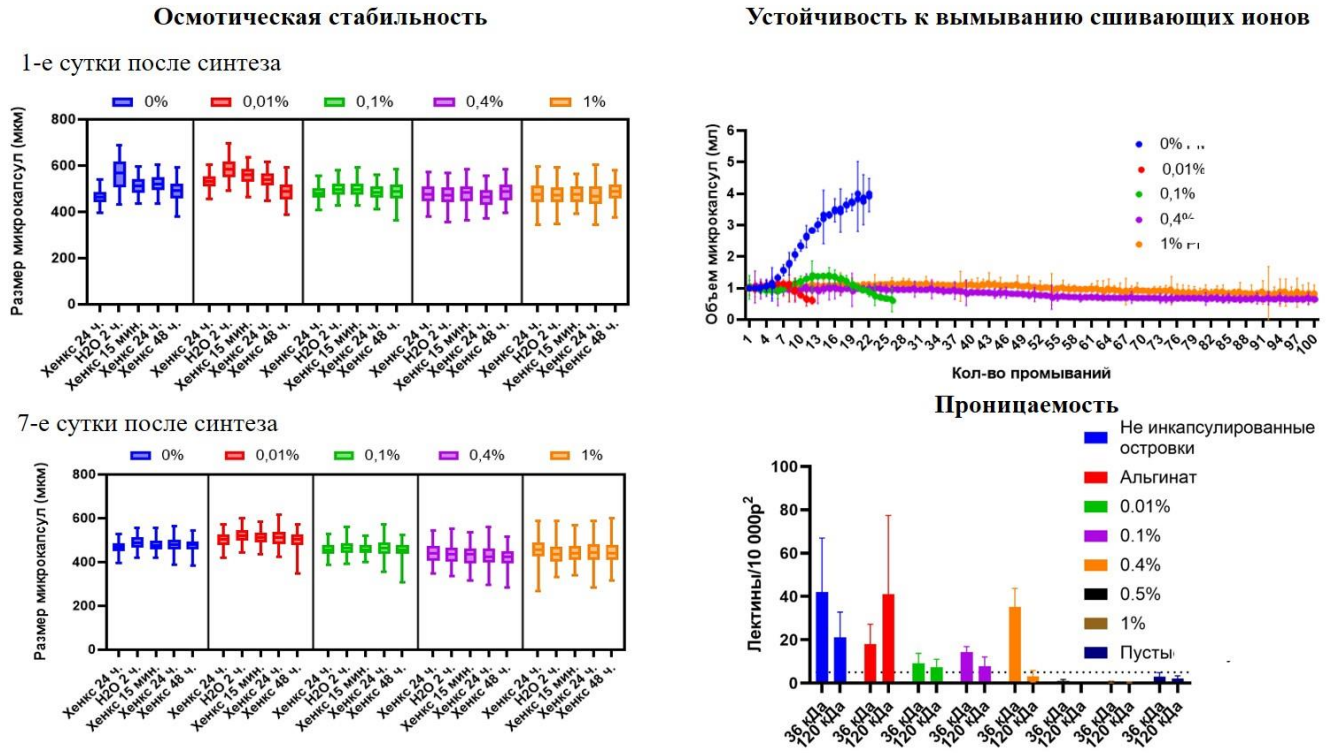


Рисунок 1. Физико-механические свойства микрокапсул, покрытых ПМЭТАХ в концентрации от 0,01% до 1%

Измерение диаметра через 15 минут после снятия осмотической нагрузки выявило вклад упругой составляющей в восстановление. Непокрытые микрокапсулы и образцы с 0,01% ПМЭТАХ восстанавливали только 50% деформации, что указывает на значительную вязкую составляющую их механического ответа. Увеличение концентрации полимера усиливало упругие свойства: микрокапсулы с покрытием $\geq 0,1\%$ ПМЭТАХ полностью восстанавливали исходный размер в течение 15 минут, демонстрируя упругие свойства.

Длительное наблюдение выявило различия в полной вязкоупругой реакции: непокрытые микрокапсулы медленно восстанавливались до остаточной деформации 5%, проявляя вязкодемпфированный отклик, в то время как образцы с покрытием показывали упругое восстановление. Через 48 часов после нагрузки микрокапсулы с 0,01% ПМЭТАХ демонстрировали уменьшение размера, связанное с разрушением оболочки.

Интересно, что все микрокапсулы на основе альгината, независимо от наличия покрытия ПМЭТАХ, через 7 дней показали улучшение механических свойств (Рисунок 1). Подобные

изменения также были описаны в работе Villarreal et al. (2019) и могут быть связаны со спонтанной термодинамически благоприятной перестройкой альгинатной цепи или связыванием дополнительного кальция.

Устойчивость микрокапсул к вымыванию сшивающих ионов оценивалась методом многократного промывания в физиологическом растворе. Непокрытые ПМЭТАХ микрокапсулы полностью растворялись после 20 промываний, демонстрируя 4-кратное увеличение объема перед разрушением.

Образцы с полимерным покрытием показали концентрационно-зависимое улучшение устойчивости:

- 0.01% ПМЭТАХ: разрушение после 6 промываний,
- 0.1% ПМЭТАХ: частичное разрушение после 15 промываний,
- 0.4% ПМЭТАХ: сохранение 70% объема после 100 промываний,
- 1% ПМЭТАХ: сохранение 80% объема после 100 промываний.

Повышение стабильности связано с образованием плотной полимерной оболочки, препятствующей ионному обмену между сшивающими ионами бария в матрице альгината и ионами натрия в растворе. Результаты демонстрируют прямую зависимость механической стабильности микрокапсул от концентрации катионного полимера ПМЭТАХ.

Селективная проницаемость микрокапсул исследовалась с использованием FITC-меченных лектинов с молекулярными массами 36 кДа и 120 кДа. Оптимальные микрокапсулы должны пропускать низкомолекулярные соединения (кислород, глюкоза, инсулин, питательные вещества), соответствующие по размеру лектину 36 кДа, и одновременно блокировать проникновение высокомолекулярных агентов (антитела, компоненты комплемента), сопоставимых с лектином 120 кДа.

Установлена выраженная зависимость барьерных свойств от концентрации полимерного покрытия. Микрокапсулы с покрытием 1% и 0,5% ПМЭТАХ демонстрировали непроницаемость даже для низкомолекулярных лектинов (36 кДа), что исключает возможность адекватного транспорта нутриентов и инсулина, делая их непригодными для инкапсуляции ОЛ. Напротив, непокрытые микрокапсулы и образцы с покрытием 0,01% и 0,1% ПМЭТАХ оказались проницаемы для высокомолекулярного лектина (120 кДа), что указывает на неспособность обеспечить иммунную защиту трансплантированных клеток. Оптимальные характеристики имели микрокапсулы с покрытием 0,4% ПМЭТАХ, сочетающие высокую проницаемость для низкомолекулярных соединений и эффективный барьер для высокомолекулярных фракций. Данный состав был определен как наиболее перспективный для применения в клеточной трансплантологии.

С использованием электронной микроскопии была исследована ультраструктура микрокапсул "альгинат-ПМЭТАХ-альгинат". Подтверждена их слоистая организация (Рисунок 2). Микрокапсулы имеют рыхлую альгинатную сердцевину, покрытую плотным слоем ПМЭТАХ, который отвечает за стабильность и проницаемость, а также тонкий третий слой из альгината, который улучшает биосовместимость.

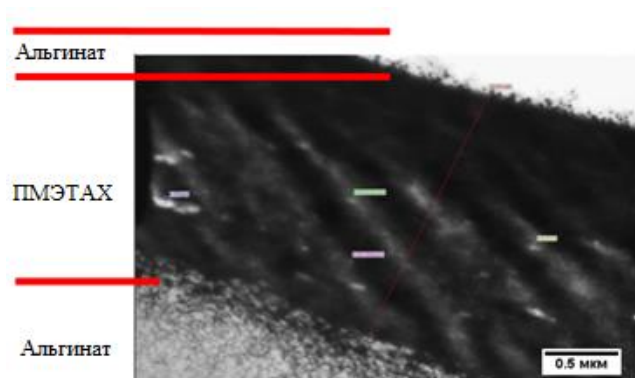


Рисунок 2. Электронная микрофотография ультраструктуры трехслойной микрокапсулы "альгинат-ПМЭТАХ-альгинат". Красными линиями выделены границы слоев на поверхности микрокапсулы

На основании совокупности данных о свойствах микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат», покрытых полимером ПМЭТАХ в концентрации 0,01-1%, был сделан вывод, что наиболее перспективными являются микрокапсулы, покрытые раствором ПМЭТАХ 0,4%, так как они обладают необходимой проницаемостью, устойчивы к деформации при изменении осмотического давления и не разрушаются при промывании физиологическими средами.

Влияние микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» на жизнеспособность и функциональную активность ОЛ *in vitro*

Выделение ОЛ из поджелудочных желез крыс и кроликов проводили по модифицированному протоколу. Протокол основан на методах, используемых для грызунов, но не требует сложной перфузии общего желчного прохода, что значительно упрощает процедуру. Используется механическая фрагментация ткани вместо перфузии, что позволяет эффективно доставлять коллагеназу и сохранять целостность ОЛ. При использовании данного протокола можно получать 400 ± 100 ОЛ от одной крысы и 3000 ± 500 ОЛ от одного кролика. После выделения остаются жизнеспособными 91.7 ± 7 % ОЛ крыс и 95.7 ± 4 % ОЛ кроликов. Результаты оценки жизнеспособности ОЛ показали, что после инкапсуляции не было обнаружено статистически значимой разницы в количестве жизнеспособных клеток как в случае ОЛ крыс (после инкапсуляции 90.1 ± 8 %, $p = 0.59$), так и в случае ОЛ кроликов (93.1 ± 4 %, $p = 0.07$) (Рисунок 3 А, Б).

Для определения функциональной активности был проведен ИФА анализ среды на наличие инсулина после суточной инкубации ОЛ до и после инкапсуляции в нагрузку 300 ОЛ/мл. Также не было обнаружено статистически значимой разницы между свободными и инкапсулированными ОЛ крыс ($4,6 \pm 1,1$ мкЕд/мл и $4,1 \pm 1,2$ мкЕд/мл, $p = 0.42$) и кроликов ($5,0 \pm 0,4$ мкЕд/мл и $4,8 \pm 0,5$ мкЕд/мл, $p = 0.40$). Таким образом, можно заключить, что ОЛ получают все необходимые им вещества, остаются жизнеспособными и синтезируют инсулин как до, так и после инкапсуляции (Рисунок 3 В).

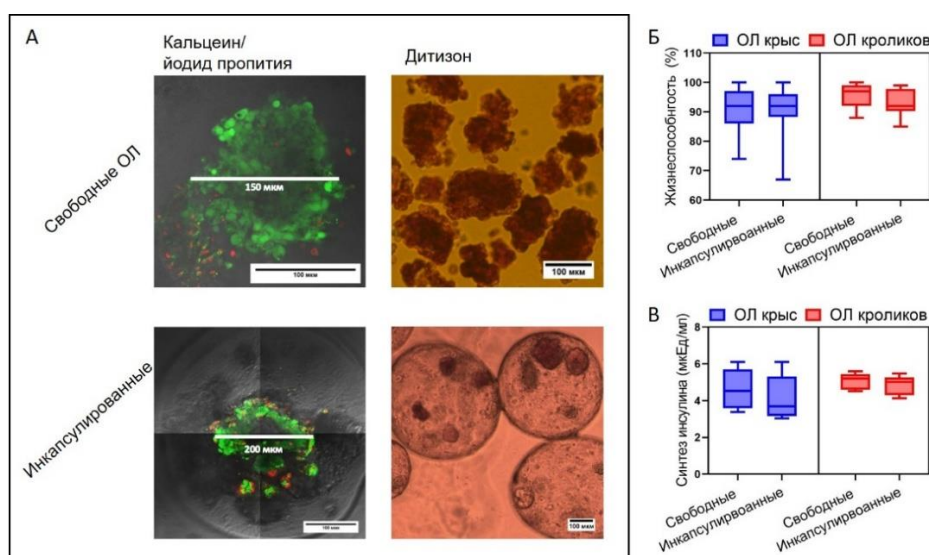


Рисунок 3. Влияние инкапсуляции на ОЛ крыс и кроликов. А – Микрофотографии ОЛ, окрашенных набором Life/Dead. (живые (кальцеин – зеленый) / мертвые (йодид пропития - красный)) и специфический красителем дитизоном (Масштабная линейка 100 мкм), Б – жизнеспособность, В – функциональная активность свободных и инкапсулированных ОЛ

Полученные результаты демонстрируют, что разработанные микрокапсулы "альгинат-ПМЭТАХ-альгинат" не оказывают негативного влияния на жизнеспособность и функциональную активность ОЛ, что подтверждает их перспективность для применения для трансплантации клеток.

Влияние микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» на компенсацию инсулин-дефицитных состояний при трансплантации ОЛ в экспериментальных моделях диабета I типа у крыс *in vivo*

Для дальнейшего анализа способности микрокапсул защищать от воздействия иммунной системы и продлевать срок функционирования ОЛ был проведен сравнительный анализ двух потенциальных участков для трансплантации - сальника и брюшины. Оба участка были выбраны на основании литературных данных. Анализ показал отсутствие статистически значимых различий в уровне разрушения микрокапсул и степени адгезии окружающих тканей между двумя участками. Однако микрокапсулы, трансплантированные в сальник, демонстрировали

лучшую извлекаемость по сравнению с трансплантированными в брюшину. Высокая степень извлекаемости микрокапсул свидетельствует об их слабой адгезии к окружающим тканям и эффективном отделении (Рисунок 4 А, Б, В). Это важно для упрощения процедуры удаления трансплантата в случае необходимости (например, при развитии осложнений или для плановой оценки состояния капсул).

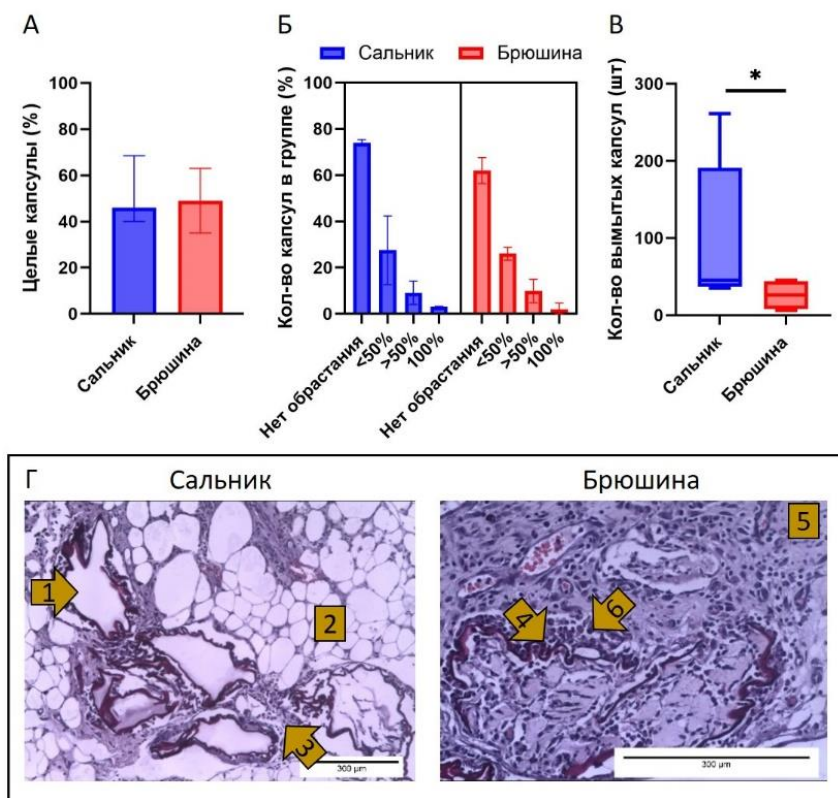


Рисунок 4. Выбор места для трансплантации между сальником и брюшиной. А - уровень разрушения микрокапсул, Б - уровень адгезии клеток к микрокапсулам, В- извлекаемость микрокапсул (медиана \pm квантили 25-75) (количество извлеченных микрокапсул n=50), Г- микрофотографии оставшихся в ткани микрокапсул через 1 неделю после трансплантации. Окрасивание гематоксилином и эозином. Масштабная линейка 300 мкм. 1 - сохранная микрокапсула, 2 - жировая ткань сальника, 3 - инфильтрация лимфоцитов, 4 – разрушенная микрокапсула, 5 - соединительная ткань брюшины, 6 – воспалительная инфильтрация, содержащая лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги

Гистологический анализ выявил существенные различия в тканевой реакции (Рисунок 4 Г). В сальнике: минимальная лимфоцитарная инфильтрация, частичное покрытие микрокапсул тонкими прослойками соединительной ткани. В брюшине: выраженная воспалительная инфильтрация с лимфоцитами, плазматическими клетками и макрофагами, активное образование молодой соединительной ткани, потеря целостности микрокапсул. На основании полученных результатов для последующих трансплантационных исследований был выбран сальник как оптимальный участок, обеспечивающий лучшую извлекаемость микрокапсул и

менее выраженную воспалительную реакцию. Более того, сальник, это хорошо васкуляризованная ткань, секретирующая факторы роста (CXCR4, VEGF, SDF-1), которые способствуют выживанию и васкуляризации трансплантата (Zhu et al., 2018; Rajab, 2010). Сальник подходит для трансплантации как инкапсулированных, так свободных ОЛ, что подтверждается клиническими данными (NCT02213003).

Отработан протокол индукции стабильной модели диабета I типа (Рисунок 5). Применение СТЗ в дозах 65 мг/кг и 45 мг/кг обеспечивало развитие стойкой гипергликемии ($27,0 \pm 8,5$ и $28,4 \pm 4,5$ мМоль/л соответственно) в течение 3 месяцев. Уровень инсулина у животных снижался до 1,8 мкЕд/мл против 17,1 мкЕд/мл в норме. ИГХ-анализ подтвердил отсутствие β -клеток через 3 месяца после индукции.

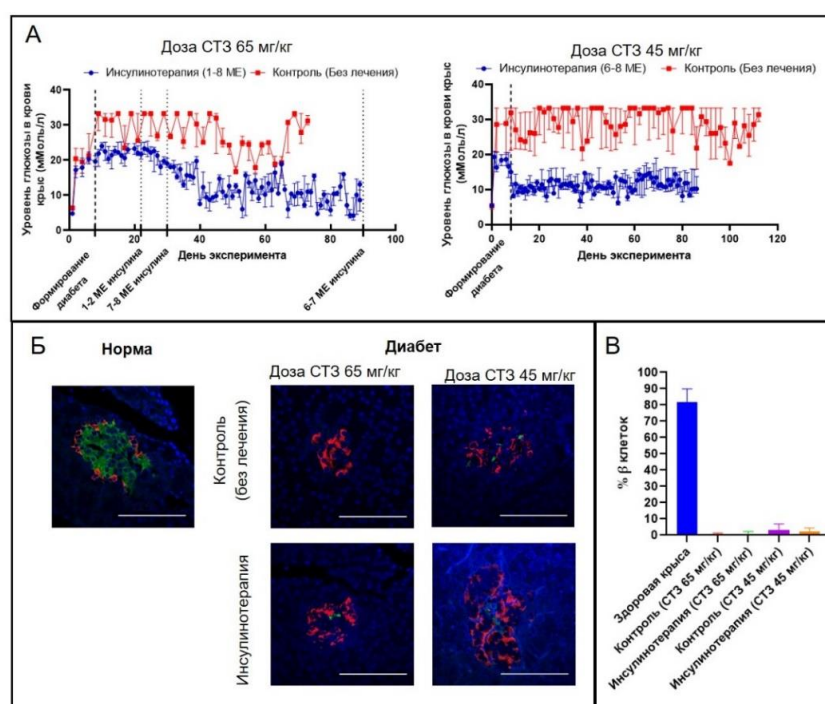


Рисунок 5. Стабильность диабета I типа при индукции СТЗ в дозах 65 и 45 мг/кг без лечения и при снятии глюкозотоксичности инсулинотерапией. А - график мониторинга уровня глюкозы в крови крыс, Б - микрофотографии ИГХ анализа ОЛ в поджелудочной железе (Красное окрашивание – глюкагон, зеленое – инсулин, синее – ядра. Масштабная линейка 100 мкм), В - анализ количества β -клеток в ОЛ поджелудочной железе крыс через 3 месяца после индукции диабета (медиана \pm квантили 25-75)

Функциональная активность инкапсулированных и свободных ОЛ кроликов оценивалась по динамике уровня глюкозы в крови крыс с диабетом после трансплантации (Рисунок б). Критерием функциональной активности трансплантата считался уровень гликемии ниже 27 мМоль/л. Трансплантация свободных ОЛ вызвала статистически значимое снижение уровня глюкозы до $23,2 \pm 8,5$ мМоль/л ($p = 0,03$) по сравнению с нелечеными животными. Однако продолжительность функциональной активности ксеногенных ОЛ не превышала 7 дней, после

чего у всех животных наблюдался возврат к исходным значениям гипергликемии (выше 27 мМоль/л, $p = 0,17$), что свидетельствовало о потере функциональности трансплантата. Инкапсулированные ОЛ обеспечивали снижение гликемии до $23,5 \pm 4,3$ мМоль/л в первые 3 дня после трансплантации у всех животных. При этом отмечена вариабельность продолжительности функциональной активности: у более чем 50% животных потеря функции происходила через 14 дней, и у 20% крыс трансплантат оставался функционально активным в течение всего 90-дневного периода наблюдения. У этих животных поддерживался уровень гликемии $19,3 \pm 4,4$ мМоль/л, что на 33% ниже показателей контрольной группы без лечения.

Таким образом, микрокапсулы защищают от воздействия иммунной системы и продлевают срок функционирования ОЛ.

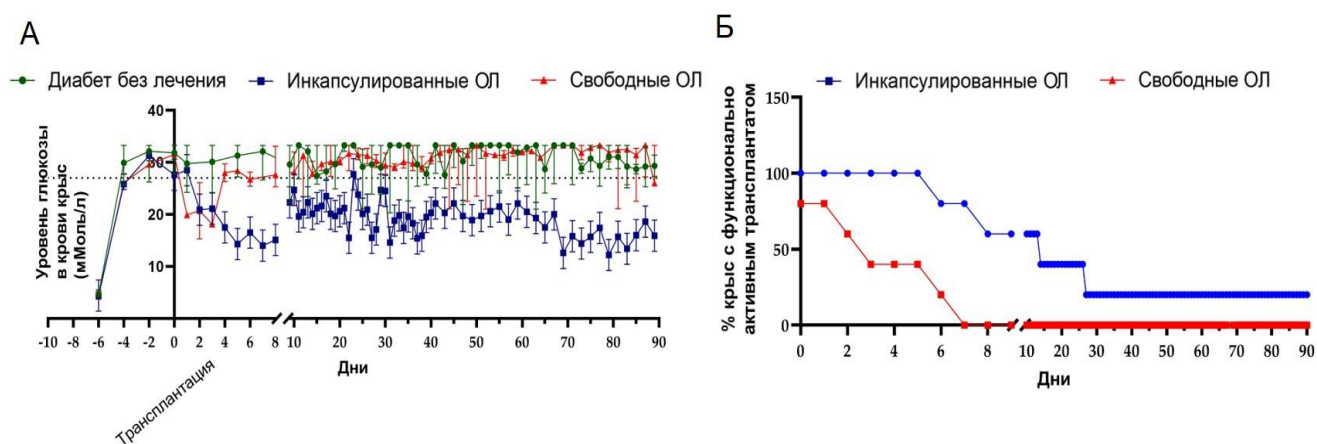


Рисунок 6. Оценка функциональной активности трансплантата инкапсулированных и свободных ОЛ. А - мониторинг уровня глюкозы в крови (медиана \pm квартили 25-75), Б - оценка длительности действия трансплантата

Биосовместимость микрокапсул «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» в экспериментальных моделях диабета I типа у крыс *in vivo*

Гистологический анализ реакции тканей реципиента проводился после потери функциональной активности трансплантата, за исключением группы животных с инкапсулированными ОЛ через 3 месяца. Инкапсулированные ОЛ на всех сроках вызывали менее выраженную воспалительную и фиброзную реакцию по сравнению со свободными ОЛ (Рисунок 7). Через 2 недели после трансплантации свободных ОЛ наблюдалась значительная лимфогистиоцитарная инфильтрация трансплантата. Клетки ОЛ не идентифицируются среди воспалительных клеток (Рисунок 7А). После потери функциональной активности менее чем через 2 недели 20-40% микрокапсул оставались целы, внутри видны клетки ОЛ (Рисунок 7Д). В части разрушенных микрокапсул наблюдаются погибшие клетки ОЛ и воспалительная реакция. Вокруг микрокапсул молодая соединительная ткань с макрофагами (47%), фибробластами

(28%), лимфоцитами (22%). Через 1 месяц в месте трансплантации свободных ОЛ наблюдается умеренное остаточное воспаление и формирование соединительной ткани, в центре остаются многоядерные гигантские клетки (Рисунок 7Б). Микрокапсулы теряют свою целостность, но видны остатки полимерного материала. Наблюдаются усиление макрофагальной реакции. На поверхности 50-60% микрокапсул гигантские многоядерные клетки (Рисунок 7Е). Через 3 месяца в месте трансплантации свободных ОЛ наблюдается тотальный фиброз, толщина фиброзной ткани: 153 ± 51 мкм (Рисунок 7В). В месте трансплантации микрокапсул с ОЛ не потерявших свою функциональную активность воспалительная реакция менее выражена, но продолжается биодegradация, в макрофагах наблюдается поглощенный материал микрокапсул. Толщина фиброзного слоя: 45 ± 16 мкм (в ~ 3.5 раза меньше, чем вокруг свободных ОЛ) (Рисунок 7Ж). Несмотря на разрушение микрокапсул, внутри некоторых сохраняются скопления жизнеспособных ОЛ, что было подтверждено иммуногистохимическим окрашиванием на инсулин (Рисунок 7З).

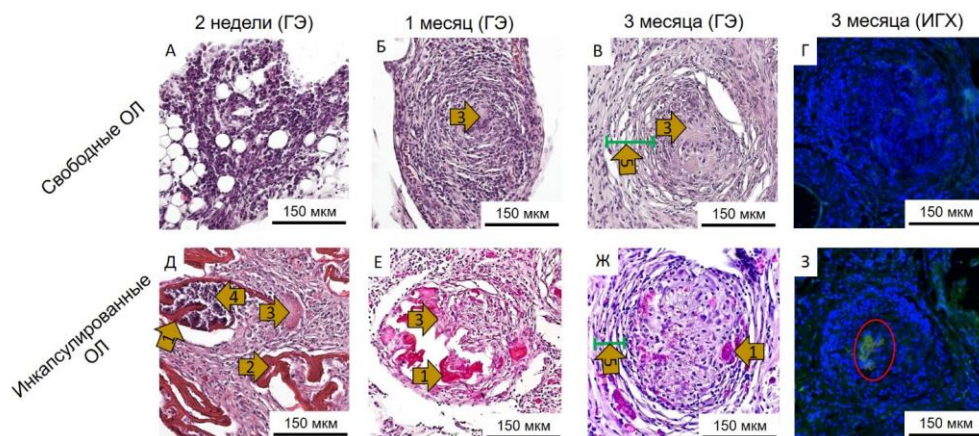


Рисунок 7. Реакция окружающих тканей реципиента на трансплантацию инкапсулированных и свободных ОЛ. 1- полимерный материал микрокапсулы, 2 – целая микрокапсула с клетками ОЛ, 3- гигантские многоядерные клетки, 4 – погибшие клетки ОЛ внутри разрушенной микрокапсулы. 5 – фиброз (зеленой линией отмечено толщина обрастания), красный овал – клетки ОЛ. (ГЭ- окраска гематоксилином и эозином, ИГХ – иммуногистохимическое окрашивание (синее (DAPI)- ядра, зеленое- инсулин))

Отмечено сохранение функциональной активности инкапсулированных ОЛ даже после разрушения микрокапсул (Рисунок 8). Результаты теста толерантности к глюкозе (ТТГ) показали, что у крыс с трансплантированными инкапсулированными ОЛ кролика, в крови отсутствует инсулин крыс, но присутствует инсулин кролика. При этом уровень инсулина кролика в крови экспериментальных крыс повышается с $11,4$ мкЕд/мл до $30,7$ мкЕд/мл через 30 минут после введения глюкозы ($0,5$ г/кг) (Рисунок 8А). Таким образом, инкапсулированные ОЛ остаются жизнеспособными и функционально активными после трансплантации.

Жизнеспособность ОЛ через три месяца подтверждена окрашиванием дитизоном, наблюдалось характерное красное окрашивание за счет связывания с цинком, который связан с инсулином, хранящимся в клетках ОЛ (Рисунок 8Б). Трансплантация привела к значительному снижению уровня глюкозы в крови крыс с диабетом, несмотря на отсутствие собственных инсулин-продуцирующих клеток в поджелудочной железе (Рисунок 8В). Эти данные свидетельствуют о способности трансплантата компенсировать дефицит инсулина независимо от функции собственной поджелудочной железы.

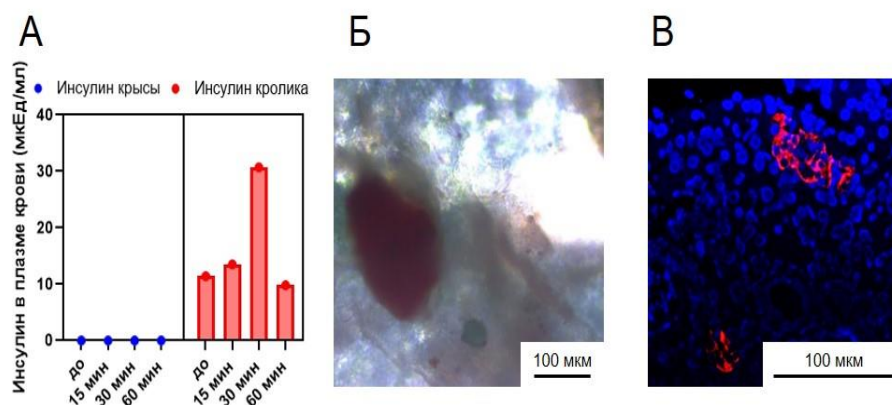


Рисунок 8. Подтверждение функциональной активности ОЛ после разрушения микрокапсул. А - изменения концентрации инсулина кролика в крови крыс с диабетом в ТТГ при трансплантации инкапсулированных ОЛ, Б - микрофотография ОЛ в сальнике крысы через 3 месяца после трансплантации. Окрашивание дитизоном, В - микрофотография поджелудочной железы крысы через 3 месяца после трансплантации инкапсулированных ОЛ. Красное окрашивание – глюкагон, зеленое – инсулин, синее – ядра

Сохранение длительной функциональной активности инкапсулированных ОЛ после разрушения микрокапсул у 20% животных может быть связано с изменением иммуногенности ОЛ. Например, в работе Скалецкой Е.И. 2017, успешно проведена трансплантация неонатальных ОЛ кролика в децелюляризованных матриксах, которые обеспечивали лучшую выживаемость ОЛ. Работа была выполнена без иммуносупрессии, это стало возможно благодаря предварительному культивированию, которое привело к значительному снижению иммуногенности. Другими исследователями было отмечено, что при культивировании ОЛ могут уменьшать иммуногенность. Ключевыми механизмами являются элиминация резидентных лейкоцитов из ОЛ и резкое снижение экспрессии ключевых иммуногенных молекул, таких как ICAM-1 (Kuttler et al., 2002). Кроме того, длительное культивирование приводит к снижению экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1, TNF- α , что уменьшает иммунную видимость ОЛ (Kim et al., 2005).

Таким образом, микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» обеспечили пролонгацию функции трансплантированных ОЛ *in vivo* за счёт формирования иммуноизолирующего

барьера и биосовместимого микроокружения в критический постимплантационный период. Низкая провоспалительная и профибротическая активность материала подтверждает его перспективность, однако для достижения долговременной эффективности требуется повышение срока сохранения целостности микрокапсул.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что при использовании ПМЭТАХ в концентрации 0,4%, микрокапсулы имеют характерную трехслойную структуру (рыхлую альгинатную сердцевину, покрытую вторым плотным слоем ПМЭТАХ и третьим тонким слоем альгината), проницаемы для низкомолекулярных соединений (36 кДа), не проницаемы для высокомолекулярных соединений (120 кДа), устойчивы к деформации осмотическим давлением и стабильны при промывании физиологическими средами.

2. Показано, что инкапсуляция ОЛ в микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» позволяет сохранить их высокую жизнеспособность ($86,7 \pm 1,7\%$) и функциональную активность (синтез инсулина – $4,64 \pm 0,29$ мкЕд/мл). Статистически значимых различий между показателями до и после инкапсуляции не выявлено ($p = 0,08$), что подтверждает биосовместимость метода.

3. Микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» проницаемы для инсулина, что подтверждается их способностью снижать уровня глюкозы в крови крыс с диабетом I типа. Микрокапсулы защищают от воздействия иммунной системы и продлевают срок функционирования ОЛ с 7 дней до 3-х месяцев

4. Микрокапсулы «альгинат-ПМЭТАХ-альгинат» с ОЛ биосовместимы. При трансплантации не отмечено выраженного воспаления и некроза тканей. Отмечался незначительный фиброз вокруг микрокапсул на всех сроках трансплантации. Микрокапсулы теряли свою целостность через месяц после трансплантации, однако при этом часть ОЛ сохраняли свою функциональную активность.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. In Vitro and In Vivo Testing of Decellularized Lung and Pancreas Matrices as Potential Islet Platforms / A. Bogomolova, P. **Ermakova**, A. Potapov, A. Mozherov, J. Tselousova, E. Vasilchikova, A. Kashina, E. Zagaynova. // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2025. – Vol. 26. – № 14. – P. 6692. doi: 10.3390/ijms26146692. [**Scopus**].

2. Модель формирования стрептозотоцин-индуцированного диабета на крупных животных с оценкой ее эффективности и стабильности / **П.С. Ермакова**, Л.А. Луговая, Е.А. Васильчикова, А.Ю. Богомолова, Ю.М. Целоусова, Н.У. Наралиев, Д.М. Кучин, Е.В. Загайнова,

В.Е. Загайнов, А.В. Кашина // **Сахарный диабет**. – 2025. – Т. 28. – № 2. – С. 111-123. doi: 10.14341/DM13168 [Scopus].

3. Probing of New Polymer-Based Microcapsules for Islet Cell Immunoisolation / **P. Ermakova**, E. Vasilchikova, M. Baten'kin, A. Bogomolova, A., Konev A., Anisimova N., Egoshina A., Zakharina M., Tselousova J., Naraliev N., Kuchin D., Lugovaya L., Zagainov V., Chesnokov S., Kashina A., Zagaynova E // **Polymers**. – 2024. – Vol. 16. – № 17. – P. 2479. doi: 10.3390/полимер16172479. [Scopus].

4. Alginate–Poly [2-(methacryloyloxy) ethyl] trimethylammonium Chloride (P3METAC) Immunoisolating Capsules Prolong the Viability of Pancreatic Islets In Vivo / **P. Ermakova**, E. Vasilchikova, A. Potapov, M. Baten'kin., Lugovaya L., Bogomolova A., Tselousova J., Konev A., Anisimova N., Egoshina A., Zakharina M., Naraliev N., Kuchin D., Zagainov V., Chesnokov S., Kashina A., Zagaynova E // **Biomedicines**. – 2024. – Vol. 12. – № 11. – P. 2573. doi: 10.3390/biomedicines12112573. [Scopus].

5. Fresh Look at Islet Isolation from Rabbit Pancreases / E. Vasilchikova, **P. Ermakova**, A. Bogomolova, A. Kashirina, L. Lugovaya, J. Tselousova, N. Naraliev, D. Kuchin, E. Zagaynova, V. Zagainov, A. Kashina // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2024. – Vol. 25. – № 19. – P. 10669. doi: 10.3390/ijms251910669. [Scopus].

6. The Effect of diabetes mellitus type 1 on the energy metabolism of hepatocytes: multiphoton microscopy and fluorescence lifetime imaging / S. Rodimova, N. Bobrov, A. Mozherov, V. Elagin, M. Karabut, **P. Ermakova**, I. Shchechkin, D. Kozlov, D. Krylov, A. Gavrina, A. Kashina, V. Zagainov, E. Zagaynova, D. Kuznetsova // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2023. – Vol. 24. – № 23. – P. 17016. doi: 10.3390/ijms242317016. [Scopus].

7. Contrast-Free FLIM Reveals Metabolic Changes in Pathological Islets of Langerhans / **P. Ermakova**, A. Kashirina, I. Kornilova, A. Bogomolova, D. Myalik, N. Naraliev, D. Kuchin, L. Lugovaya, E. Zagaynova, V. Zagainov, A. Kashina // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2022. – Vol. 23. – № 22. – P. 13728. doi: 10.3390/ijms232213728. [Scopus].

8. Новое поколение методов терапии в лечении сахарного диабета 1-го типа / Ю.М. Целоусова, Л.А. Луговая, Д.М. Кучин, Е.А. Васильчикова, П.С. **Ермакова**, А.В. Кашина, В.Е. Загайнов // **Вестник трансплантологии и искусственных органов** – 2026 – Т. 28. – № 1. – С. 212-226. (обзорная статья)

9. Тотальная панкреатэктомия с аутотрансплантацией островков поджелудочной железы (ТРИАТ) как способ лечения хронического идиопатического панкреатита: анализ первого опыта / В.Е. Загайнов, Д.М. Кучин, А.В. Кашина, Л.А. Луговая, Н.В. Заречнова, Т.А. Галанина, Н.У. Наралиев, Я.И. Колесник, Е.А. Васильчикова, П.С. **Ермакова**, Е.М. Загайнов, Ю.А. Кучерявый,

А.Ю. Богомолова, А.Л. Потапов, И.Ю. Широкова // **Современные технологии в медицине.** – 2024. – Т. 16. – № 6. – С. 44-59. doi: 10.17691/stm2024.16.6.05.

10. Выделение островковых клеток из поджелудочной железы после панкреатэктомии. Показания, методика, оценка результатов / В.Е. Загайнов, Д.М. Кучин, **П.С. Ермакова**, Е.А. Васильчикова, Л.А. Луговая, Н.У. Наралиев, А.В. Кашина. // **Анналы хирургической гепатологии.** – 2022. – Т. 27. – № 3. – С. 46-54. doi: 10.16931/1995-5464.2022-3-46-54

11. Современные технологии инкапсуляции островков Лангерганса поджелудочной железы для коррекции сахарного диабета 1-го типа / **П.С. Ермакова**, Е.И. Черкасова, Н.А. Леньшина, А.Н. Конев, М.А. Батенькин, С.А. Чесноков, Д.М. Кучин, Е.В. Загайнова, В.Е. Загайнов, А.В. Кашина // **Вестник трансплантологии и искусственных органов.** – 2021. – Т. 23. – № 4. – С. 95-109. doi: 10.15825/1995-1191-2021-4-95-109 (обзорная статья)

12. Функционализация альгината для микроинкапсуляции инсулин-продуцирующих клеток / Н.А. Леньшина, А.Н. Конев, М.А. Батенькин, **П.С. Бардина**, Е.И. Черкасова, А.В. Кашина, Е.В. Загайнова, В.Е. Загайнов, С.А. Чесноков // **Высокомолекулярные соединения. Б.** – 2021. – Т. 63. - № 6. - С. 383-418. doi: 10.31857/S2308113921060127

13. **Патент RU2822875C1** Российская Федерация, МПК А61К 35/39, А61К 47/32, А61К 47/36. Способ приготовления микрокапсул с островками Лангерганса и микрокапсула по предложенному способу: RU2822875C1 : заявл. **25.12.2023** : опубл. **15.07.2024** / Васильчикова Е.А., **Ермакова П.С.**, Чесноков С.А., Батенькин М.А., Конев А.Н., Анисимова Н.Д., Загайнов В.Е., Кучин Д.М., Луговая Л.А., Наралиев Н.У., Кашина А.В., Загайнова Е.В.; заявитель ФГБОУ ВО "ПИМУ" Минздрава России // Патентон.ру: электрон. справочник патентов. – URL: <https://patenton.ru/patent/RU2822875C1>

14. **Ермакова П.С.**, Богомолова А.Ю., Наралиев Н.У., Кучин Д.М., [и др.], Создание микроинкапсулирующей технологии для защиты эндокринных клеток поджелудочной железы при трансплантации // Сборник тезисов Национального Конгресса по регенеративной медицине. Гены и Клетки. – 2022. – Т. 17. – № 3. – С.85. <https://genescells.ru/2313-1829/article/view/122548>

15. **Ермакова П.С.**, Васильчикова Е.А., Батенькин М.А., Богомолова А.Ю., [и др.], Биоинженерный трансплантат на основе инкапсулированных островков Лангерганса // Сборник тезисов Национального Конгресса по регенеративной медицине. Морфология. – 2024. С 331-332. <https://j-morphology.com/1026-3543/announcement/view/956>

16. **Ermakova P.**, Vasilchikova E., Lugovaya L., Baten'kin M., Bogomolova A., Tselousova J., Zagainov V., Chesnokov S., Zagaynova E., Kashina A. Innovative bioengineered alginate-pmetac-based microcapsules for transplantation of Langerhans islets // Сборник материалов TERMIS EU 25 – 2025. – № 884.

17. **Ermakova P.**, Kashirina A., Kornilova I., Bogomolova A., Vasilchikova E., Naraliev N., Kuchin D, Lugovaya L., Zagaynova E., Zagainov V., Kashina A. Marker- independent pancreas and islets quality diagnostics with FLIM // 17th International conference on Laser Applications in Life Sciences – 2023. С. 49.

18. **Ermakova P.**, Vasilchikova E., Kashirina A., Bogomolova A. Vasilchikova E., Naraliev N., Kuchin D., Lugovaya L., Zagaynova E., Zagainov V., Kashina A. Marker-free diagnostics for assessing pancreas and islet quality. // Сборник трудов конференции «International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT)» – 2024 – №. 24. – С. 68-68. <https://cyberleninka.ru/article/n/marker-free-diagnostics-for-assessing-pancreas-and-islet-quality>

19. Kashina A., **Ermakova P.**, Kornilova I., Bogomolova A., Kashirina A., Naraliev N., Kuchin D. Contrast-free FLIM diagnostics of the quality of pancreas islet of Langerhans //Сборник трудов конференции «International Conference on Advanced Laser Technologies (ALT)». – 2022 – №. 22. – С.95. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49489941>

20. **Ермакова П.С.**, Васильчикова Е.А., Богомолова А.Ю., Батенькин М.А., Луговая Л.А., Загайнова Е.В., Кашина А.В. Микрокапсула альгинат-ПМЭТАХ-альгинат для иммуноизоляции островков Лангерганса при трансплантации //Материалы IV Балтийского симпозиума по иммунологии, молекулярной и регенеративной медицине с международным участием – 2024. – С. 56-58. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68501533>

21. **Ермакова П.С.**, Васильчикова Е.А., Батенькин М.А., Луговая Л.А., Загайнова Е.В., Кашина А.В. Микрокапсулы ПМЭТАХ-альгинат для защиты островков Лангерганса при трансплантации // Сборник тезисов 6-ой Российской конференции по медицинской химии – 2024. С. 134. <https://medchemconf.ru/programa/>

22. **Ермакова П.С.**, Васильчикова Е.А., Батенькин М.А., Леньшина Н.А., Чесноков С.А., Загайнов В.Е., Загайнова Е.В., Кашина А.В. Микроинкапсуляция как альтернативный подход для иммуноизоляции инсулин-продуцирующих клеток при трансплантации // Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции «3D-технологии в медицине» – 2023. С. 17.

23. **Ермакова П.С.**, Леньшина Н.А., Конев А.Н., Батенькин М.А., Чесноков С.А., Загайнов В.Е., Загайнова Е.В., Кашина А.В. Тестирование качества инкапсуляции островков Лангерганса в альгинатные микрокапсулы. // Материалы XXXIV международной зимней молодежной научной школы "Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии" – 2022. С. 130. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48245368>

24. **Ермакова П.С.** Тестирование in vitro цитотоксичности и in vivo биосовместимости новых альгинатных микрокапсул, покрытых РМОТА, для инкапсуляции островков Лангерганса // Сборник тезисов докладов участников седьмого Всероссийского молодежного научного форума «Наука будущего – наука молодых» – 2022. – С.111

25. **Ермакова, П.С.**, Леньшина, Н.А., Конев, А.Н., Батенькин, М.А., Чесноков, С.А., Загайнов, В.Е., Загайнова Е.В., Кашина. Результаты оценки качества получаемых капсул с островками Лангерганса поджелудочной железы для дальнейшей разработки технологии микроинкапсуляции // Материалы Международного молодежного форума «Неделя науки – 2021» – 2021 – С. 359-360. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48259688>

26. **Ермакова, П.С.**, Батенькин, М.А., Леньшина, Н.А., Чесноков, С.А., Загайнов, В.Е., Загайнова Е.В., Кашина А.В. Исследование *in vitro* цитотоксичности и *in vivo* биосовместимости альгинатных микрокапсул с полимерным покрытием (РМОТА) при инкапсуляции островков лангерганса и их трансплантации // Сборник тезисов докладов 75-й Международной школы-конференции молодых ученых Биосистемы: организация, поведение, управление – 2022. – С. 71-71. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54173586>

27. **Ермакова П.С.**, Васильчикова Е.А., Батенькин М.А., Луговая Л.А., [и др.], Инновационная микроинкапсуляция для продления жизнеспособности трансплантата островков // Сборник тезисов X Всероссийской научно- практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием. Volgamedscience – 2024. – С. 49-50. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=71572974>

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АПА – альгинат-поли(L-лизин)-альгинат

ГЭ – гематоксилин и эозин (окрашивание)

ИГХ – иммуногистохимический, иммуногистохимия

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛСКМ – лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

МЕ – международная единица

ОЛ – островки Лангерганса

ПМЭТАХ – поли-[2-(метакрилоилокси)этил]триметиламмонийхлорид

СД1 – сахарный диабет 1 типа

СТЗ – стрептозотцин

ТТГ – тест толерантности к глюкозе

FITC – флуоресцеина изотиоцианат

RCA-I – *Ricinus communis* агглютинин I

TNF- α – фактор некроза опухоли альфа

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

WGA – Wheat germ agglutinin (агглютинин зародышей пшеницы)