

ЗАСТОСУВАННЯ ЕМБРІОНАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ II ТИПУ

О.І. Смикодуб, А.В. Новицька

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ

Резюме

У статті узагальнено досвід лікування хворих на цукровий діабет II типу з використанням ембріональних клітинних суспензій, які містять стовбурові клітини. Показана ефективність методу при лікуванні пацієнтів з двома варіантами перебігу захворювання: на початку хвороби при гіперінсулінізмі з метаболічними розладами та з виснаженням функції β-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози при прогресуванні захворювання.

Ключові слова: трансплантація, ембріональні стовбурові клітини, цукровий діабет II типу.

Вступ

За поширеністю та тяжкістю ускладнень цукровий діабет (ЦД) продовжує займати в світі одне з перших місць. Справджуються прогнози стосовно подвоєння кількості хворих на ЦД кожні 10–15 років. Так, якщо у 1990 р. в світі кількість хворих на ЦД становила 80 млн, то у 2000 р. — 160 млн. Переважна більшість (85–90%) — це хворі на ЦД II типу. В Україні з виявлених 940 тис. хворих на ЦД близько 800 тис. страждають діабетом II типу, який, як відомо, призводить до тяжких хронічних ускладнень та скорочує життя. На сьогоднішній день залишаються актуальними як подальше вивчення механізмів розвитку захворювання, так і пошук нових медикаментозних засобів лікування і розробка оптимальних підходів до ведення хворих на ЦД.

Одним з нових напрямів, на цей час вже досить відомим, у лікуванні хворих на ЦД є застосування трансплантацій ембріональних клітинних суспензій (ЕКС), що містять стовбурові клітини. Розробка цього напрямку розпочалася у 1991 р. на кафедрі факультетської терапії №2 з курсом ендокринології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, коли вперше нами було доведено стійкий гіпоглікемічний ефект зі зниженням дози екзогенного інсуліну до 50% у хворого з вперше виявленим інсулінзалежним ЦД [3]. У 2000 р. було захищено дисертацію "Лікування хворих на цукровий діабет з імунними та гематологічними порушеннями гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини", в якій узагальнено різні можливі механізми дії ембріональних стовбурових клітин (ЕСК) людини. І тільки недавно, у 2002 р., в експерименті Shiroi A., Yoshikawa M. (Японія) показано, що ЕСК миші на етапах розвитку ембріона синтезують інсулін та інсуліноподібні речовини і виявляють прямий гіпоглікемізуючий ефект. Крім того, ці клітини здатні трансформуватись в β-клітини острівців

Лангерганса підшлункової залози, чинячи не поліпотентну, а плюрипотентну дію [5].

До початку роботи з хворими нами були обгрунтовані можливості застосування ЕКС при ЦД, в подальшому розроблені показання та протипоказання до застосування ЕКС при ЦД, розроблені конкретні схеми лікування різних клінічних форм ЦД з включенням трансплантацій ЕКС. Важливим у клінічному аспекті є відкриття двох явищ при лікуванні хворих на ЦД: гіпоглікемізуючої дії ЕКС та при наявності анемічного синдрому — крововідновлювальної. Більшість опублікованих нами наукових праць торкалися інсулінзалежного ЦД [1,2,4]. Мета даної роботи — узагальнення досвіду лікування хворих на інсуліннезалежний ЦД з використанням трансплантацій ЕКС.

Матеріали і методи

Проаналізовано 2 групи хворих на ЦД II типу, яким виконано трансплантації ЕСК. Загальна кількість становила 29 осіб, термін спостереження — від 1 до 5 років. Перша група — хворі з гіперінсулінізмом та метаболічними розладами у вигляді дисліпідемії, 2-га — хворі на ЦД з виснаженням функції β-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози, ускладненим перебігом захворювання з прогресуванням мікрота макроангіопатій, появою епізодів кетоацидозу на фоні прийому максимальних доз таблетованих цукрознижувальних препаратів, що потребують переведення на інсулінотерапію. Клінічні та лабораторні дослідження проводилися в повному обсязі. Вивчалися показники вуглеводного обміну з визначенням глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), пре- та постпрандіальної глікемії, жирового обміну з визначенням вмісту холестерину (ХС), тригліцеридів, ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ). Інсулінпродукуючу функ-

цію β -клітин підшлункової залози оцінювали за рівнем С-пептиду в крові.

У 1-шу групу увійшли 18 хворих — 6 жінок та 12 чоловіків віком від 37 до 48 років (середній вік — $43,5 \pm 5,8$ року). Тривалість виявленого захворювання становила від 6 міс до 2 років (у середньому $1,2 \pm 0,5$ року). Всі пацієнти були зі збільшеною масою тіла. Індекс маси тіла (ІМТ) коливався від 25,8 до $34,3 \text{ кг/м}^2$, середня величина становила $30,4 \pm 1,7 \text{ кг/м}^2$. 40% хворих до моменту виконання трансплантації дотримувалися дієтотерапії, решта отримували монотерапію у вигляді препаратів сульфонілсечовини в мінімальних дозах (6 хворих приймали глімепірид у добовій дозі від 1 до 3 мг, 3 хворих — глібенкламід у дозі до 5 мг/добу, 2 хворих — гліклазид у дозі 80 мг/добу). У всіх пацієнтів відзначено стійку ранкову гіперглікемію (від 8,1 до 9,6 ммоль/л, у середньому $8,96 \pm 0,52$ ммоль/л) при задовільному рівні постпрандіальної глікемії — від 7,9 до 9,6 ммоль/л, у середньому $8,83 \pm 0,46$ ммоль/л, відсутності глюкозурії. Рівень HbA_{1c} становив у середньому $8,19 \pm 0,50\%$. У всіх пацієнтів виявлено зміни ліпідного профілю крові з підвищенням рівня ХС в середньому на 35% ($7,00 \pm 0,36$ ммоль/л), зростанням концентрації ЛПНЩ та ЛПДНЩ у середньому на 30%, що становило в середньому $5,02 \pm 0,56$ ммоль/л та $1,09 \pm 0,14$ ммоль/л відповідно. Рівень ЛПВЩ знижений — у середньому становив $0,89 \pm 0,10$ ммоль/л. У всіх пацієнтів був підвищеним рівень С-пептиду в крові і становив у середньому $5,44 \pm 0,85$ нг/мл. Клінічні прояви захворювання були незначними — функціональні розлади та психофізіологічні реакції.

У 2-гу групу спостереження увійшли 11 пацієнтів — 4 жінки та 7 чоловіків віком від 48 до 65 років (середній вік — $54,3 \pm 8,2$ року). Тривалість виявленого захворювання становила від 11 до 23 років (у середньому $18,7 \pm 5,3$ року). 6 пацієнтів були з надлишковою масою тіла, 5 — у межах норми. ІМТ коливався від 23,7 до $33,6 \text{ кг/м}^2$, середня величина становила $28,1 \pm 1,9 \text{ кг/м}^2$. Хворі отримували препарати сульфонілсечовини у максимальних дозах (глімепірид — 6–8 мг/добу, глібенкламід — 15–20 мг/добу, гліквідон — 120–180 мг/добу) як монотерапію, так і в комбінації з бігуанідами (метформіном). Незважаючи на дотримання дієти, виконання дозованих фізичних навантажень, використання різних цукрознижувальних препаратів з підвищенням доз до максимальних, хворі залишалися у стані декомпенсації вуглеводного обміну. Рівень глікемії натще становив у середньому $12,79 \pm 1,45$ ммоль/л, постпрандіальної — $15,7 \pm 1,57$ ммоль/л, добова глюкозурія — $28,18 \pm 4,62$ г/л, HbA_{1c} — в середньому $9,73 \pm 0,81\%$. Рівень С-пептиду в крові становив у середньому $1,2 \pm 0,41$ нг/мл. У 7 хворих виявляли епізоди кетоацидозу, зазвичай зумовлені порушеннями в харчуванні або наявністю гострого чи

загострення хронічного інфекційно-запального процесу, психологічного стресу. У всіх пацієнтів виявлено ускладнення перебігу ЦД: у 6 — артеріальна гіпертензія, у 2 — ІХС, у 3 — облітеруючий артеріосклероз, у 8 — непроліферативна ретинопатія, у 3 — діабетична нефропатія, у 4 — прояви діабетичної нейропатії. Виявлено також супутню патологію: хронічний бронхіт — у 6 хворих, хронічний пієлонефрит — у 6, виразкова хвороба дванадцятипалої кишки — у 2, синдром подразненої товстої кишки — у 7 хворих.

Хворим одноразово виконували трансплантації кріоконсервованих ЕКС, що містять стовбурові клітини, отриманих з трупів ембріонів людини 4–8 тиж гестації. Спосіб введення — внутрішньовенний крапельний в об'ємі від 0,5 до 3,0 мл, з концентрацією клітин в 1 мл від $0,1$ до 100×10^5 , вмістом прогеніторних клітин CD34 — від 1 до 20×10^6 /мл.

Отримані дані комплексного обстеження обробляли методом варіаційної статистики. Статистичну вірогідність відмінностей оцінювали за допомогою критерію Стьюдента. Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Усі хворі трансплантацію перенесли задовільно, ускладнень не виявлено. У 23 (79,3%) хворих спостерігали прояви синдрому раннього післятрансплантаційного поліпшення загального стану: зменшення слабкості, збільшення фізичної та розумової працездатності, нормалізація форми сну, покращання настрою, зменшення явищ депресії. Реакція була більш вираженою протягом 1-го місяця, потім дещо зменшувалася і тривала протягом 2–4 міс. Протягом 1-го тижня після введення ЕКС у 8 (44%) хворих 1-ї групи спостереження виявили підвищення рівня глікемії на 15–25%. Гіперглікемія знижувалась без додаткової гіпоглікемічної терапії. У подальшому показники глікемії поступово знижувались (табл. 1), що потребувало зниження дози або відмови від таблетованих цукрознижувальних препаратів. Важливим у клінічному плані виявилось поступове зниження вмісту С-пептиду в сироватці крові хворих даної групи до межі норми. Зниження рівня підвищеної інсулінової секреції одночасно зі стійким зниженням глікемії може свідчити про зниження ступеня інсулінорезистентності тканин. Також спостерігали поступове зниження ліпідемії з нормалізацією ліпідного профілю: зниження рівня ХС, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, підвищення рівня ЛПВЩ.

Однією з найскладніших проблем у клінічній діабетології є розвиток резистентності до таблетованих цукрознижувальних препаратів, коли призначення максимальних доз не сприяє компенсації захворювання і виникає необхідність призначення інсулінотерапії. У табл. 2 представлено дані змін показників вуглеводного обміну

Таблиця 1

Динамика показників вуглеводного та ліпідного обміну, С-пептиду у хворих на ЦД II типу (1-ша група спостереження)

Показник	До трансплантації	Після трансплантації		
		через 2–3 міс	через 5–7 міс	через 10–12 міс
Глікемія натще, ммоль/л	8,96±0,52	8,09±0,58	5,82±1,05*	5,6±0,59*
Глікемія постпрандіальна, ммоль/л	8,83±0,46	8,41±0,44	8,16±0,63	8,06±0,45
HbA1c, %	8,19±0,50	7,73±0,60	6,46±0,65*	6,13±0,47*
Холестерин, ммоль/л	7,00±0,36	6,70±0,13	5,40±0,21*	5,13±0,29*
Тригліцериди, ммоль/л	2,05±0,34	1,93±0,23	1,82±0,12	1,63±0,15*
ЛПВЩ, ммоль/л	0,89±0,10	0,93±0,1008	1,14±0,13*	1,34±0,12*
ЛПНЩ, ммоль/л	5,02±0,56	4,41±0,37	4,03±0,16*	3,81±0,17*
ЛПДНЩ, ммоль/л	1,09±0,14	0,97±0,10	0,76±0,14*	0,65±0,11*
С-пептид, кг/мл	5,44±0,85	4,72±0,71	3,02±0,45*	2,26±0,35*

Примітка: * — $p < 0,05$ порівняно з даними до трансплантації.

Таблиця 2

Динамика показників вуглеводного обміну, С-пептиду у хворих на ЦД II типу (2-га група спостереження)

Показник	До трансплантації	Після трансплантації		
		через 2–3 міс	через 5–7 міс	через 10–12 міс
Глікемія натще, ммоль/л	12,79±1,45	11,6±1,23	8,95±0,90*	7,71±0,96*
Глікемія постпрандіальна, ммоль/л	15,7±1,57	14,42±0,91	11,4±1,31*	10,78±1,19*
Добова глюкозурія, г/л	28,18±4,62	23,63±4,52	14,09±4,40*	8,18±3,37*
HbA1c, %	9,73±0,81	9,57±0,62	8,3±0,65	7,78±0,54*
С-пептид, кг/мл	1,2±0,41	1,43±0,42	1,92±0,33	2,39±0,58*

Примітка: * — $p < 0,05$ порівняно з рівнем до трансплантації.

в післятрансплантаційний період саме у таких хворих (2-га група спостереження).

Відзначено поступове покращання показників вуглеводного обміну. У 82% хворих протягом 1–2 міс зникли епізоди кетоацидозу, поліпшився загальний стан. Переконливу компенсацію захворювання вдалося досягти до 8–12-го місяця післятрансплантаційного періоду. Як і у хворих I-ї групи спостереження, відбувалося поступове зниження дози таблетованих цукрознижувальних засобів до 25–30%. На інсулінотерапію був переведений тільки 1 хворий. Підвищення рівня С-пептиду сироватки крові хворих зумовлено, напевно, підсиленням інсулінпродукуючої функції β -клітин острівців Лангерганса підшлункової залози. Серед інших позитивних змін можна відзначити зменшення вираженості проявів діабетичної ретинопатії, нефропатії, полінейропатії. Поступове зниження підвищеного артеріального тиску без розширення гіпотензивної терапії зафіксовано у 27% пацієнтів. У 60% хворих через 12–16 міс виконано повторні трансплантації у зв'язку з наявністю недостатньої компенсації або з метою закріплення результатів.

Висновки

Застосування ЕСК у комплексному лікуванні хворих на ЦД II типу сприяє стійкій ком-

пенсації захворювання.

Прояви синдрому раннього післятрансплантаційного поліпшення загального стану відзначено у 79,3% хворих на ЦД II типу. У хворих на ЦД з гіперінсулінізмом тенденцію до зниження показників глікемії спостерігали з 2–3-го місяця після лікування паралельно зі зниженням концентрації С-пептиду сироватки крові, нормалізацію цих показників відзначено через 5–7 міс, стійку стабілізацію — через 10–12 міс у 78% хворих. Тенденція до нормалізації показників ліпідного обміну відзначається через 5–7 міс після трансплантації зі стійкою нормалізацією через 10–12 міс.

У хворих на ЦД з виснаженням функції β -клітин компенсація захворювання настає через 8–10 міс після трансплантації, до цього часу відмічено вірогідне зростання вмісту С-пептиду в крові в 1,8–2,2 разу у 64% хворих. Можливі повторні трансплантації ЕСК з метою досягнення компенсації захворювання або закріплення результатів. Покращання показників вуглеводного обміну в післятрансплантаційний період відбувається паралельно зі зниженням добової дози таблетованих цукрознижувальних засобів. Застосування ЕСК у хворих на ЦД з виснаженням функції β -клітин запобігає переведенню пацієнтів на інсулінотерапію у 90% випадків.

Література

- Єфімов А.С., Смикодуб О.І., Новицька А.В. Трансплантація гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини хворим на цукровий діабет I типу // Трансплантологія. – 2002. – Т. 3, №2. – С. 26–31.
- Єфімов А.С., Смикодуб О.І., Новицька А.В. Лікування анемії у хворих на інсулінозалежний

цукровий діабет гемопоетичними клітинами ембріональної печінки людини: Метод. рекомендації. – К., 2002. – 14 с.

- Єфімов А.С., Смикодуб О.І., Новицька А.В. Лікування хворих з вперше виявленим інсулінозалежним цукровим діабетом гемопоетичними клітинами ембріональної печінки: Метод.

- рекомедації. – К., 2000. – 14 с.
4. Новицька А.В. Застосування гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини в лікуванні анемічного синдрому у хворих на цукровий діабет, ускладнений діабетичним гломерулосклерозом, хронічною нирковою недостатністю // Укр. наук.-мед. молодіж. журн. – 1999. – № 1–2. – С. 36–40.
5. Shiroy A., Yoshikawa M., Yokota H. et al. Identification of insulin-producing cells derived from embryonic stem cells by zinc-chelating dithizone // Stem Cells. – 2002. – Vol. 20, N4. – P. 284–292.

Применение эмбриональных стволовых клеток при лечении больных сахарным диабетом II типа

О.И. Смикодуб, А.В. Новицкая

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев

Резюме

В статье обобщен опыт лечения больных сахарным диабетом II типа с использованием эмбриональных клеточных суспензий, содержащих стволовые клетки. Показана эффективность метода при лечении двух вариантов течения заболевания: в начале болезни при гиперинсулинизме с метаболическими расстройствами и с истощением функции β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы при прогрессировании заболевания.

Ключевые слова: трансплантация, эмбриональные стволовые клетки, сахарный диабет II типа.

Embryonic Stem Cells Use in Treatment of Type II Diabetes Mellitus

O.I. Smikodub, A.V. Novitska

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv

Summary

Summarized is the experience of treatment of type II diabetes by application of embryonic cell suspensions containing stem cells. It is shown the efficiency of the method in treatment of two forms of the disease: onset with hyperinsulinism and metabolic disturbances; insufficiency of β -cells of pancreatic islets in progressive diabetes.

Key words: transplantation, embryonic stem cells, II type diabetes mellitus.