

ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ВИЯВЛЕНИЙ ІНСУЛІНОЗАЛЕЖНИЙ ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ГЕМОПОЕТИЧНИМИ КЛІТИНАМИ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ

О. І. Смикодуб

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, 03110 Київ, Україна

Проводилось лікування вперше виявленого інсулінозалежного цукрового діабету методом трансплантації суспензії гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини, які містять стовбурові клітини. Було показано позитивну динаміку клінічних та лабораторних показників, а також зменшення лікувальної дози інсуліну. Трансплантація виявилась тим ефективнішою, чим меншими були метаболічні порушення та інсулінова недостатність на момент трансплантації, і чим раніше після встановлення діагнозу було розпочато лікування.

Ключові слова: інсулінозалежний цукровий діабет, гемопоетичні клітини ембріональної печінки людини, стовбурові клітини.

Вперше виявлений інсулінозалежний цукровий діабет (ІЗЦД) – це аутоімунний діабет I типу, при якому до часу клінічних проявів зруйновано більше 80% β -клітин острівців Лангерганса підшлункової залози. Цим терміном в діабетології позначають перші 6 міс перебігу ІЗЦД, який вимагає призначення інсуліну.

Аутоімунний процес вважають ведучим у патогенезі цукрового діабету (ЦД) [1-3]. Існує генетична схильність до виникнення ЦД. Визначена значима кореляція між виникненням ІЗЦД та певними антигенами лейкоцитів людини, які кодуються системою HLA.

В крові хворих на ЦД присутні різноманітні антитіла: до антигенів β -клітин, до інсуліну, проінсуліну, глутаматдекарбоксилази, карбоксипептидази H, гангліозидних антигенів. Прогресує інфільтрація острівців моноцитами/макрофагами та T-лімфоцитами – розвивається інсуліт, продукція інсуліну зменшується і його кількість стає недостатньою для підтримки рівня глюкози крові в межах норми.

Зміни показників імунітету при ІЗЦД досить виразні: зменшення абсолютної та відносної кількості лімфоцитів крові, збільшення співвідношення клітин $CD4^+/CD8^+$, пригнічення активності системи нормальних кілерів, зростання рівнів імуноглобулінів (Ig) всіх типів, а особливо IgG [3] (з подальшим поступовим їх зменшенням). Уражається функція фагоцитозу (адгезія, хемотаксис, внутрішньоклітинне перетравлювання бактерій), яка корелює з рівнем глікемії [4-6].

Враховуючи здатність гемопоетичних клітин (ГК) до відновлення імунологічної реактивності реципієнтів з вродженими та набутими імунodefіцитами, ми зробили спробу вивчити можливість застосування трансплантації клітин ембріональної печінки (ЕП) з метою переривання аутоімунного процесу та стримування деструкції β -клітин при ІЗЦД. В цей період печінка є кровотворним органом, тому виготовлені ембріональні клітинні суспензії (ЕКС) містять значну кількість стовбурових клітин ембріонального гемопоєзу. Вони залишаються жити в організмі реципієнта, дають нащадків і здатні диференціюватися в усі ростки кровотворення, в тому числі і в клітини імун-

ної системи. Крім цього, ЕКС містять у високій концентрації різноманітні цитокіни та біологічно активні речовини (еритропоетин, α -фетопротейн, інтерлейкіни, ФНП, інсуліноподібні речовини тощо), які виробляються ембріональними клітинами. ЕКС не викликають або викликають слабку імунну відповідь, що є результатом пізньої експресії головних антигенів гістосумісності. При застосуванні ЕКС досягається толерантність між HLA-несумісними клітинами донора та реципієнта [7, 8].

До початку проведення досліджень у групі хворих на цукровий діабет ми мали власний позитивний досвід проведення трансплантацій хворим при апластичних анеміях, цитостатичній хворобі, гострих лейкозах, солідних пухлинах, синдромі набутого імунodefіциту, вторинних імунodefіцитних станах, таких аутоімунних захворюваннях, як неспецифічний виразковий коліт, ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, псоріаз [8-11].

Застосування ЕКС у лікуванні цукрового діабету у вітчизняній та світовій практиці на момент початку роботи (1991 рік) не було описане.

Матеріали і методи

В дослідну групу увійшли пацієнти з вперше виявленим ІЗЦД. Група складалася з 27 пацієнтів (15 чоловіків та 12 жінок) віком від 17 до 35 років (середній вік – $24,6 \pm 2,21$ років). Діагноз встановлювали відповідно до класифікації, запропонованої Комітетом експертів ВООЗ з ЦД [12, 13]. Усі пацієнти дали згоду на проведення лікування та досліджень.

При маніфестації ІЗЦД у хворих дослідної групи було діагностовано кетоацидоз, рівень глікемії становив у середньому $16,94 \pm 1,51$ ммоль/л, рівень глюкозурії – в середньому $55,13 \pm 2,02$ г/л. Глікемічний профіль хворих був таким: $9^{00} - 6,94 \pm 0,51$ ммоль/л, $12^{00} - 9,8 \pm 1,84$ ммоль/л, $15^{00} - 5,7 \pm 0,79$ ммоль/л, $18^{00} - 6,3 \pm 0,66$ ммоль/л, $21^{00} - 8,5 \pm 0,72$ ммоль/л. Тривалість характерних для ІЗЦД симптомів до моменту виявлення захворювання становила від 1 до 5 міс (в середньому – $2,50 \pm 0,33$ міс). Термін від моменту виявлення ІЗЦД, початку інсулінотерапії до проведення трансплантації ГК ЕП був різним – від 1 до 6 міс і становив в середньому $3,04 \pm 0,86$ міс (табл. 1).

Контрольну групу складала 20 хворих, подібних за віком, статтю, тривалістю захворювання, вираженістю метаболічних порушень. Усі розбіжності у показниках між дослідною та контрольною групою невірогідні. Період спостереження складав від 1 до 4 років.

Таблиця 1. Клінічна характеристика хворих на вперше виявлений ІЗЦД

Показники	Група хворих	
	контрольна	дослідна
Кількість хворих	20	27
Середній вік, роки	$26,12 \pm 2,45$	$24,6 \pm 2,21$
Тривалість анамнезу до встановлення діагнозу, міс	$2,76 \pm 0,28$	$2,50 \pm 0,33$
Тривалість захворювання після встановлення діагнозу, міс	$2,91 \pm 0,74$	$3,04 \pm 0,86$
Маса тіла, кг	$72,2 \pm 4,03$	$69,4 \pm 4,41$
Глікемія натще на момент виявлення захворювання, ммоль/л	$18,13 \pm 1,18$	$16,94 \pm 1,51$
Добова глюкозурія на момент виявлення, г/л	$52,62 \pm 3,48$	$55,13 \pm 3,02$
Глікемія натще на момент початку дослідження, ммоль/л	$6,33 \pm 0,88$	$6,94 \pm 0,51$

Усім хворим проводилася інсулінотерапія. Добова доза інсуліну у хворих дослідної групи була різною і становила в середньому $0,88 \pm 0,11$ ОД/кг. Глікемія натще у хворих всієї групи складала в середньому $6,94 \pm 0,51$ ммоль/л. Необхідною умовою для проведення трансплантацій було досягнення компенсації або субкомпенсації вуглеводного обміну.

Результати імунологічного обстеження (табл. 3, 4) показали порушення клітинного та гуморального імунітету у всіх обстежених хворих.

До трансплантації ГК ЕП була зменшена (порівняно з групою здорових осіб) абсолютна кількість лімфоцитів, знижена абсолютна кількість CD3⁺-лімфоцитів, виявлені значні відхилення мінімальних та максимальних значень кількості CD4⁺-лімфоцитів та CD8⁺-лімфоцитів по групі в цілому. Відносний та абсолютний вміст CD4⁺- та CD8⁺-лімфоцитів в середньому був нижчий за норму. Збільшеною була відносна кількість CD22⁺-лімфоцитів, а також вміст імуноглобулінів класу G.

Ембріони 6-8-тижневої гестації отримували в ході медичних абортів за соціальними показаннями в гінекологічних стаціонарах м. Києва від здорових жінок, попередньо обстежених на наявність вірусних та гемічних інфекцій. Пренатальна діагностика донора ембріонального матеріалу включала дослідження на сифіліс, ВІЛ-інфекцію, вірусні гепатити В і С, токсоплазмоз, цитомегаловірус. Фетальна діагностика матеріалу включала ВІЛ-інфекцію, вірусні гепатити В і С, токсоплазмоз, цитомегаловірус, віруси краснухи, герпесу та Епштейна-Барр. Кров донорів досліджувалась також на ВІЛ-інфекцію через 90 днів після проведеної операції переривання вагітності.

Приготування клітинних суспензій проводилося згідно з загальноприйнятою технологією, яка включала наступні етапи: вилучення ембріональної печінки, гомогенізацію, фільтрацію через фільтри для переливання крові та ін'єкційні голки чим раз меншого діаметру [5]. Як криопротектор використовували 5% ДМСО (диметилсульфоксид). Контейнери з суспензією об'ємом від 0,5 до 1 мл заморожували до -196°C за програмою в камері програмного заморожувача Kryo10 (Messer Griesheim GmbH) [5]. Кріоконсервовані суспензії зберігали у банку ембріональних тканин в рідкому азоті при температурі -196°C .

Проводилось тестування функціонального стану кріоконсервованих клітинних суспензій – у розмороженій порції (0,5 мл) традиційними способами визначали: загальну кількість ядеровміщуючих клітин в 1 мл (клітинним аналізатором або візуально під мікроскопом у камері Горяєва); кількість колонієутворюючих одиниць гранулоцит-макрофагальних (КУО-ГМ в 1 мл) – методом клонування КУО в метилцелюлозі [14]; кількість колонієутворюючих одиниць гранулоцит-еритроцит-моноцит/макрофаг-мегакаріоцитарних (КУО-ГЕММ в 1 мл) – таким самим методом клонування КУО в метилцелюлозі [14]; кількість CD34* – ранніх попередників гемопоезу – визначали за допомогою тесту непрямої флуоресценції з панелями моноклональних антитіл фірми "Сорбент" (Росія).

Розморожену суспензію клітин вводили внутрішньовенно через систему для переливання кровозамінників у фізіологічному розчині об'ємом до 100 мл зі швидкістю 20-40 крапель за хвилину. Перед введенням клітин вводили внутрішньовенно розчин димедролу 10 мг та преднізолону 30 мг. Для трансплантації ГК ЕП підбирали ембріональну клітинну суспензію, що містила клітини віком від 6 до 8 тиж гестації (в середньому $6,92 \pm 0,32$ тиж). Об'єм клітинної суспензії, що вводився, складав 0,5-3,5 мл (в середньому $-2,34 \pm 0,18$ мл) з кількістю ядеровміщуючих клітин – $0,1-3,6 \times 10^6/\text{мл}$, вмістом КУО-ГМ – $0,1-2,6 \times 10^3/\text{мл}$, вмістом КУО-ГЕММ – $0,01-0,3 \times 10^3/\text{мл}$, вмістом CD34* – $1-12 \times 10^6/\text{мл}$.

Субпопуляції імунокомпетентних клітин вивчали методом лазерної проточної цитофлуориметрії. Дослідження проводили за допомогою непрямої імунофлуоресцентного тесту з панелями моноклональних антитіл серії leu ("Becton Dickinson", США), які виявляють поверхневі антигени кластерів CD3, CD4, CD8, CD22. Для дослідження використовували лазерний проточний цитофлуориметр Facstar Plus ("Becton Dickinson", США), оснащений комп'ютером HP-310, за допомогою лазера "Інова-90" 200 мВт. Обробка даних проводилась за програмою Facstar Plus. Вміст імуноглобулінів визначали методом радіальної імунодифузії за Манчіні.

За норму були взяті імунологічні показники 20 здорових людей у віці від 17 до 35 років (середній вік – $26,7 \pm 4,3$ років).

Цитологічне визначення еритроцитів, що містять фетальний гемоглобін (HbF), проводилося за методом E.Kleinbauer, K.Betke [5]. Висновок про функціонування ембріональної тканини в організмі реципієнта робили за збільшенням у мазках периферійної крові кількості еритроцитів, що містили фетальний гемоглобін.

Отримані дані комплексного обстеження аналізувалися методом варіаційної статистики за допомогою статистичного пакету CSS (Complete Statistical System). Для оцінки статистичної вірогідності різниці використовувався критерій t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

27 пацієнтам з клінічним діагнозом вперше виявленого ІЗЦД було проведено трансплантацію ГК ЕП. Трансфузії ЕКС усі хворі перенесли задовільно, ускладнень відмічено не було.

У 19 хворих (70% випадків) спостерігали прояви синдрому раннього пост-трансплантаційного поліпшення загального стану: зменшення слабкості, появу бадьорості, збільшення апетиту, покращання настрою.

Разом з тим, у частини хворих (52% випадків) спостерігали і більш глибокі психосоматичні зміни – зменшення депресії, фобій, тривоги за своє майбутнє, зміцнення віри в одужання, збільшення фізичної та розумової працездатності, підсилення здатності концентрувати увагу (що проявлялося, наприклад, поліпшенням показників професійної та учбової діяльності), нормалізація сну. Реакції були виражені протягом декількох перших днів, потім дещо зменшувалися та тривали протягом 1-2 міс.

Таблиця 2. Динаміка добової дози інсуліну (ОД/кг/добу) у хворих на вперше виявлений ІЗЦД у дослідній та контрольній групах

Строки спостереження	Контрольна група			Дослідна група			
	n	M±m	P	n	M±m	P	P ₁
Перед трансплантацією	20	0,77±0,04	-	27	0,88±0,11	-	<0,5
1-7 днів	20	0,74±0,05	>0,5	27	0,83±0,09	>0,5	<0,5
8-14 днів	20	0,74±0,04	>0,5	27	0,71±0,09	<0,25	>0,5
15-28 днів	20	0,71±0,04	<0,5	27	0,62±0,07	<0,05	<0,5
29-45 днів	20	0,72±0,04	<0,25	27	0,58±0,07	<0,05	<0,5
46-60 днів	20	0,71±0,04	<0,5	27	0,48±0,04	<0,001	<0,001
2-3 міс	20	0,74±0,03	>0,5	24	0,51±0,04	<0,002	<0,001
4-6 міс	19	0,75±0,04	>0,5	21	0,50±0,04	<0,002	<0,001
7-9 міс	19	0,77±0,05	>0,5	20	0,52±0,03	<0,002	<0,001
10-12 міс	18	0,84±0,05	>0,5	20	0,55±0,04	<0,001	<0,001

Примітка: P - порівняно з вихідним рівнем, P₁ - порівняно з контрольною групою.

Найважливішим клінічним ефектом, виявленим в процесі спостереження за хворими після трансплантації ГК ЕП, була гіпоглікемізуюча дія ембріональних клітинних суспензій. Висновок про ефективність клітинної терапії робили, базуючись на ступені зменшення дози екзогенного інсуліну, частоті та тривалості неповної ремісії (табл. 2). Критерієм неповної ремісії вважали зменшення потреби в інсуліні <0,4 ОД на 1 кг маси тіла при задовільному метаболічному контролі [3].

У всіх хворих зменшувалася добова доза інсуліну у зв'язку зі зменшенням глікемії протягом декількох днів. Відбувалося це по-різному. У 16 чоловік (60%) добову дозу інсуліну почали зменшувати вже з першої доби, бо в них з'явилися "м'які" гіпоглікемічні стани один або два рази на день (глікемія на рівні 2,7-3,0 ммоль/л). Характерним для цих станів було те, що вони не набували виражених проявів, мали мінімальний вплив на самопочуття хворих та легко переривалися прийомом їжі. У 11 чоловік (40 %) спостерігали гіперглікемічну реакцію з помірним збільшенням добової дози протягом першого тижня. Через 6-8 год після трансплантації у цих пацієнтів спостерігалось підвищення рівня глюкози крові на 20-30%, що, як правило, компенсувалось збільшенням сумарної дози інсуліну. Підвищення дози інсуліну відбувалось, як правило, за рахунок збільшення дози інсуліну короткого терміну дії. У подальшому динаміка зниження денної дози інсуліну в обох групах не відрізнялась. Також не спостерігали різниці у частоті виникнення та тривалості неповної ремісії у хворих з різною первинною реакцією на введення ембріональної тканини.

На малюнку наведена динаміка добової дози інсуліну, що вводився. В дослідній групі вірогідне зменшення дози інсуліну спостерігали через 2-3 тиж. Доза інсуліну складала в середньому 0,62±0,07 ОД/кг/добу (P=0,05 порівняно з дозою інсуліну до трансплантації). Максимально індивідуальна доза інсуліну у хворих зменшувалася у строки від 14 до 90 днів після трансплантації, в середньому – через 53,03±5,21 днів, на 20-100%. В цілому по групі максимальне зниження дози інсуліну відзначено у термін, який відповідає строку спостереження у 45-60 днів після трансплантації. Доза інсуліну складала в середньому 0,48±0,04 ОД/кг/добу, виявлено зменшення її на 45,5%. Вірогідне зменшення дози введеного інсуліну, порівняно з дозою до трансплантації, спостерігалось протягом одного року. Починаючи з 3-го місяця і протягом усього терміну спостереження доза інсуліну, що вводився, була вірогідно нижчою порівняно з контрольною групою.

Через 2-4 тиж після трансплантації ми спостерігали збільшення абсолютної кількості лімфоцитів, кількості Т-лімфоцитів, зростання абсолютної

Таблиця 3. Імунні показники хворих на вперше виявлений інсулінозалежний цукровий діабет (контрольна група)

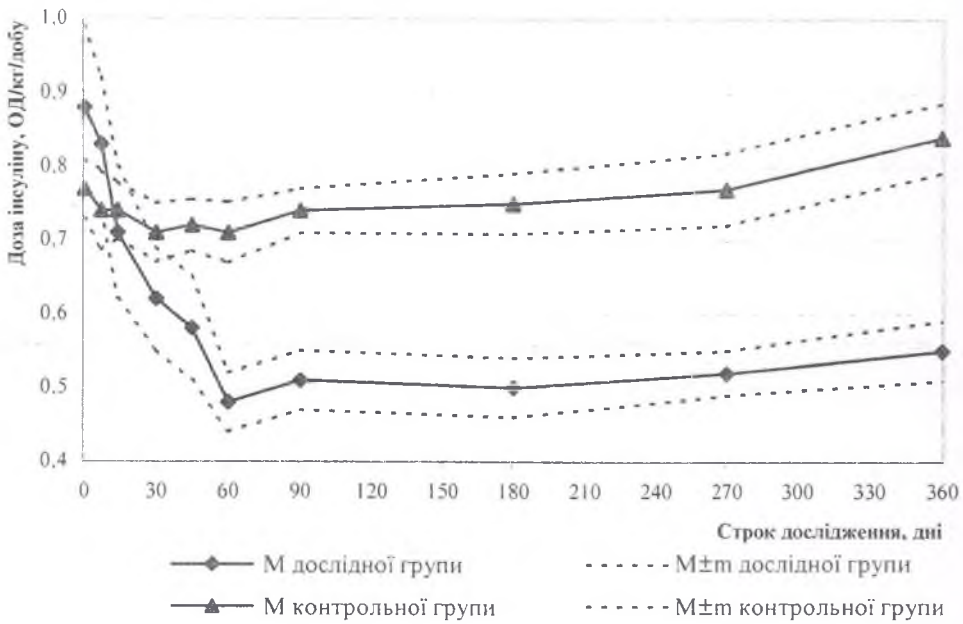
Показники	Строки спостереження											
	Здорові (n=20)		Вихідні дані хворих (n=20)		14-28 днів (n=20)		2-3 міс (n=20)		4-6 міс (n=18)		9-12 міс (n=17)	
	M±m	P ₁	M±m	P ₁	M±m	P ₁	M±m	P ₁	M±m	P ₁	M±m	P ₁
Лімфоцити, Г/л	1,91±0,22	**	1,14±0,11	**	0,92±0,07	**	1,11±0,11	**	1,25±0,09	**	1,25±0,09	**
T-лімфоцити, CD3+, Г/л	1,34±0,02	**	0,61±0,08	**	0,54±0,04	**	0,51±0,07	**	0,62±0,12	**	0,62±0,12	**
T-лімфоцити, CD3+, %	58,8±1,51	**	53,53±2,46	**	58,7±3,01	**	45,9±2,39	**	49,6±3,04	**	49,6±3,04	**
T-хелпери, CD4+, Г/л	0,88±0,01	**	0,32±0,07	**	0,36±0,04	**	0,36±0,06	**	0,41±0,05	**	0,41±0,05	**
T-хелпери, CD4+, %	40,2±0,82	**	61,0±1,53	**	54,1±2,27	**	49,9±5,87	*	62,1±1,37	**	62,1±1,37	**
T-супресори, CD8+, Г/л	0,61±0,2	**	0,24±0,07	**	0,24±0,06	**	0,28±0,06	**	0,28±0,07	**	0,28±0,07	**
T-супресори, CD8+, %	21,79±2,11	**	39,4±1,78	**	44,5±1,53	**	54,9±1,61	**	45,2±1,41	**	45,2±1,41	**
CD4+/CD8+	1,47±0,22	**	1,27±0,12	**	1,44±0,09	**	1,23±0,09	**	1,37±0,12	**	1,37±0,12	*
В-лімфоцити, CD22+, Г/л	0,21±0,08	**	0,35±0,06	**	0,38±0,05	**	0,38±0,06	**	0,35±0,07	**	0,35±0,07	**
В-лімфоцити, CD22+, %	8,2±1,24	**	21,1±0,57	**	19,0±1,28	**	20,45±0,43	**	17,83±0,49	**	17,83±0,49	**
Імуноглобуліни G, г/л	11,33±1,48	**	13,44±1,45	**	12,26±1,12	**	12,56±0,98	**	13,93±1,23	**	13,93±1,23	**

Примітка: * – коефіцієнт вірогідності <0,001; ** – коефіцієнт вірогідності <0,05; P – порівняно з вихідним рівнем, P₁ – порівняно з рівнем у здорових.

Таблиця 4. Імунні показники хворих на вперше виявлений інсулінозалежний цукровий діабет, яким проводили трансплантацію ГК ЕП

Показники	Строки після трансплантації											
	Здорові (n=20)		Перед трансплантацією (n=27)		14-28 днів (n=27)		2-3 міс (n=24)		4-6 міс (n=21)		9-12 міс (n=20)	
	M±m	P ₁	M±m	P ₁	M±m	P ₁	M±m	P ₁	M±m	P ₁	M±m	P ₁
Лімфоцити, Г/л	1,91±0,20	**	1,74±0,11	**	1,32±0,07	**	1,53±0,10	**	1,45±0,09	**	1,45±0,09	**
T-лімфоцити, CD3+, Г/л	1,34±0,02	**	1,26±0,08	**	0,78±0,09	**	0,81±0,11	**	0,96±0,12	**	0,96±0,12	**
T-лімфоцити, CD3+, %	58,81±1,51	**	54,24±2,46	**	57,87±3,01	**	51,47±2,39	**	62,35±3,04	**	62,35±3,04	*
T-хелпери, CD4+, Г/л	0,88±0,01	**	0,62±0,07	**	0,58±0,11	**	0,53±0,09	**	0,60±0,12	**	0,60±0,12	**
T-хелпери, CD4+, %	40,20±0,80	**	33,12±1,53	**	42,18±2,27	**	37,25±1,87	**	40,34±1,37	**	40,34±1,37	**
T-супресори, CD8+, Г/л	0,61±0,02	**	0,49±0,07	**	0,41±0,06	**	0,48±0,09	**	0,32±0,12	**	0,32±0,12	**
T-супресори, CD8+, %	21,79±2,11	**	31,83±1,78	**	28,74±1,53	**	30,22±1,61	**	23,55±1,41	**	23,55±1,41	**
CD4+/CD8+	1,47±0,22	**	1,46±0,12	**	1,54±0,10	**	1,27±0,09	**	1,97±0,12	**	1,97±0,12	**
В-лімфоцити, CD22+, Г/л	0,21±0,08	**	0,19±0,04	**	0,15±0,02	**	0,14±0,06	**	0,21±0,07	**	0,21±0,07	**
В-лімфоцити, CD22+, %	8,20±1,24	**	10,45±0,57	**	12,53±1,28	**	10,85±0,43	**	12,31±0,49	**	12,31±0,49	**
Імуноглобуліни G, г/л	11,33±1,48	**	9,41±1,34	*	9,53±0,39	**	8,82±0,40	**	9,57±0,87	**	9,57±0,87	*

Примітка: * – коефіцієнт вірогідності <0,001; ** – коефіцієнт вірогідності <0,05; P – порівняно з вихідним рівнем, P₁ – порівняно з рівнем у здорових, P₂ – порівняно з рівнем у групі контролю.



Мал. Динаміка дози інсуліну (ОД/кг/добу) у хворих ІЗЦД в дослідній та контрольній групах.

(більше як вдвічі) та відносної (в 1,8 рази) кількості CD8⁺-клітин. Вірогідно зменшився вміст імуноглобуліну G. У строк від 2 до 3 міс після трансплантації зберігалось збільшення Т-лімфоцитів порівняно з вихідними даними. Зберігалось також збільшення кількості клітин з супресорною активністю (CD8⁺-лімфоцитів). З часом зменшувалася кількість CD22⁺-лімфоцитів, причому якщо через 2-4 тиж вірогідно зменшився лише їх процентний вміст, то через 2-3 міс – їх абсолютна кількість (табл. 3, 4).

Зважаючи на унікальність відкритого нами явища гіпоглікемізуючого ефекту ембріональних клітинних суспензій, ми дозволимо собі навести детальний клінічний приклад.

Хвора Д., 1970 р. н., знаходиться під спостереженням в Клініці клітинної терапії з грудня 1994 р. з приводу інсулінозалежного цукрового діабету. Вважає себе хворою з вересня 1994 р., коли без будь-якої причини з'явилися типові для цукрового діабету скарги: спрага, часте надмірне сечовиділення, сухість у роті, похудання. 20.10.94 р. у прекомаатозному стані доставлена в реанімаційне відділення. З 28.10.94 р. до 17.11.94 р. лікувалася в ендокринологічному відділенні міського ендокринологічного диспансеру. Встановлений діагноз: цукровий діабет, тип I, вперше виявлений, тяжка форма, стан декомпенсації. При поступленні глікемічний профіль був таким: 13,2–11,7–21,0–9,1–11,0 ммоль/л, глюкозурія – 53,0 г/л, ацетонурія ++++. Отримувала традиційне лікування: інсулінотерапія (42 ОД/добу), інфузійна, дезінтоксикаційна терапія, препарати калію, вітаміни, гепатотропні засоби. Виписана додому у субкомпенсованому стані.

З 26.12.94 р. до 5.01.95 р. лікувалась в Клініці клітинної терапії (історія хвороби № 13127). При поступленні до клініки стан був компенсованим, отримувала інсулін В у добовій дозі 38 ОД (0,67 ОД/кг) – вранці 20 ОД та ввечері – 18 ОД. 27.12.1994 р., через 2 міс після встановлення діагнозу та 3 міс з часу появи перших типових скарг, проведена трансплантація гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини (зразок 3038С131: вік ембріону – 6 тиж, кількість клітин

– $21,5 \times 10^6$ /мл, об'єм введеної суспензії – 2,5 мл). Спосіб введення – внутрішньовенний крапельний.

Трансплантацію хвора перенесла без ускладнень. Гіпоглікемізуючий ефект ембріональної тканини почав виявлятися вже на першу добу: через 10 год з'явилися помірні гіпоглікемічні явища у вигляді відчуття голоду, внутрішнього дрожу (глікемія – 2,7 ммоль/л), зупинені хворою самостійно прийомом їжі. Наступної доби була знижена доза інсуліну на 2 ОД ввечері. Подібний гіпоглікемічний стан з'являвся раз на 4-5 днів. Під контролем глікемії через 2 тиж добову дозу інсуліну, що вводився, зменшили на 4 ОД (вранці – 20 ОД, ввечері – 14 ОД). Через 1,5 міс дозу інсуліну знизили до 24 ОД (вранці – 14 ОД, ввечері – 10 ОД). Максимальне зниження відмітили через 2 міс – на 51%. Доза інсуліну, який вводили, складала 20 ОД на добу (0,33 ОД/кг добу) – вранці 12 ОД, ввечері – 8 ОД інсуліну В. У хворої розвинулась неповна ремісія захворювання, яка тривала 9 міс.

Через 11 міс після першої трансплантації ГК ЕП і 13 міс від початку захворювання у зв'язку з погіршенням показників глікемії дозу інсуліну збільшили до 36 ОД на добу (0,59 ОД/кг на добу). 30.11. 95 р. провели повторну трансплантацію ГК ЕП: зразок 3038A206, вік ембріону – 6 тиж, кількість клітин – $18,1 \times 10^6$ /мл, об'єм введеної тканини – 2 мл. Спостерігали розвиток гіперглікемічної реакції на введення ембріональної тканини протягом першого тижня з підвищенням добової дози інсуліну з 36 ОД до 40-42 ОД на добу та наступним зниженням до 34-32 ОД. На теперішній час добова доза інсуліну становить 26-28 ОД, або 0,48 ОД/кг.

Ми спостерігали відновлення імунологічної реактивності хворої вже на 9-ту добу після першої трансплантації. Збільшилась абсолютна кількість лімфоцитів, $CD3^+$ -лімфоцитів, різко збільшилась кількість $CD8^+$ -лімфоцитів, нормалізувався коефіцієнт $CD4^+/CD8^+$ з 7,6 до 1,22, зменшилась абсолютна та відносна кількість $CD22^+$ -лімфоцитів. Нормалізувались показники гуморального імунітету – спостерігали зниження до норми вмісту імуноглобулінів класу G. Дані зміни утримувались протягом 3-х міс. Суб'єктивний стан хворої значно змінився: через 1-2 тиж після трансплантації вона стала бадьорішою, змінився настрій, зникло звичайне відчуття втоми ввечері, підсилювся апетит, незважаючи на постійне зниження дози інсуліну, який вводився. Спостереження триває.

Для аналізу чинників, що впливають на досягнення неповної ремісії, всі хворі були розділені на дві групи: ті, що її досягли, та ті, що не досягли. До першої групи увійшли 16 хворих з дослідної групи (65%) та 7 хворих з контрольної групи (35%). Різниця за частотою виникнення та тривалістю неповної ремісії – статистично вірогідна.

У хворих, що не досягли неповної ремісії, порівняно з тими, що її досягли, до трансплантації був виявлений більший ступінь метаболічних порушень: усі хворі знаходилися у стані субкомпенсації вуглеводного обміну, мали вірогідно вищий рівень глікемії натще, вищу вихідну дозу інсуліну.

При порівнянні показників хворих, що не досягли неповної ремісії, у дослідній та контрольній групах, в контрольній групі вихідна доза інсуліну та рівень глікемії натще виявилися вірогідно нижчими, отже, можна говорити про більш тяжкий первинний перебіг ЦД у хворих дослідної групи порівняно з контролем у групі без неповної ремісії.

Важливу роль у досягненні неповної ремісії відіграв фактор часу – строк від виявлення ІЗЦД до проведення трансплантації. В групі з неповною ремісією цей період був у середньому $2,09 \pm 0,32$ міс, без ремісії – $3,7 \pm 0,23$ міс, різниця вірогідна ($P < 0,001$).

В дослідній групі з неповною ремісією раніше спостерігали вірогідне зменшення дози інсуліну, її більшу тривалість та більше максимальне зменшення дози.

У зв'язку з погіршенням показників вуглеводного обміну у термін від 2 до 13 міс 8 хворим були проведені повторні трансплантації ГК ЕП. В результаті спостерігалось подовження строку неповної ремісії у 5 хворих. У 3 хворих, які первинно не досягли неповної ремісії, спостерігали помірне зменшення добової дози інсуліну.

Ми вважаємо, що отримані результати відображають реакції підсилення імунного захисту, які відмічаються після трансплантації ГК ЕП, а також послаблення або призупинення аутоімунного процесу у β -клітинах острівців Лангерганса (зменшення частки Т-супресорів, нормалізація імунорегуляторного коефіцієнту, зменшення кількості В-лімфоцитів). У той же час, причиною гіпоглікемізуючої дії ЕКС не можна вважати лише імюнокоригуючий ефект, адже ми спостерігали ранній розвиток гіпоглікемії вже через кілька годин та протягом першої доби після трансплантації з необхідністю відповідного зменшення дози інсуліну наступної доби.

Дані, наведені у статті, стали основою патенту України № 27048 від 28.02.2000 р. "Лікарський препарат імюнокоригуючої дії на основі клітинної суспензії, спосіб лікування цукрового діабету з використанням цього препарату". Патенти одержані також у Росії (№ 2126260 від 20.02.1999 р.) та в Греції (№ 1002968 від 9.09.1998 р.).

Автор статті дякує академіку Єфімову А.С. та к.м.н. Новицькій А.В. – співавторам цього методу [15-17].

Висновки

1. Трансплантація ГК ЕП сприяла відновленню показників клітинного та гуморального імунітету у хворих на вперше виявленій ІЗЦД.

2. ГК ЕП позитивно впливали на вуглеводний обмін – виявляли гіпоглікемічний ефект, сприяли стійкій компенсації захворювання. При цьому добова доза інсуліну поступово протягом 2-3 міс зменшувалась (максимально – до 45,5%).

3. Трансплантація ГК ЕП позитивно впливає на психофункціональний та фізичний стан хворих.

Література

1. Єфімов А.С., Полтораєк В.В. Аутоімунні аспекти інсулінзалежного сахарного діабета. Попытки імюнокорекції на ранніх стадіях захворювання // Пробл. ендокринології. 1989, №5, 85-90.
2. Baker J. Autoimmune endocrine disease // JAMA. 1997, 278, 1931-1937.
3. Foster D. W. Diabetes Mellitus / By Harrison's Principles of Internal Medicine. 14th ed., 1999, 2060-2081.
4. Новицька А.В. Лікування хворих на цукровий діабет з імунними та гематологічними порушеннями гемопоетичними клітинами ембріональної печінки людини: Автореф. дис. канд. мед. наук. К., 2000.
5. Єфімов А. С., Смикодуб О. І., Новицька А. В. Лікування хворих з вперше виявленим інсулінозалежним цукровим діабетом гемопоетичними клітинами ембріональної печінки: Метод. рекомендації. К., 2000.
6. Smikodoub A. I., Novitskaya A. V., Yefimov A. S. Experience in treatment of patients suffering from diabetes mellitus with the use of fetal cell suspensions // Cell Transplantation. 1999, 8, N2, 2000.
7. Fine A. Human fetal tissue research: practice, prospects and policy // Cell Transplantation. 1994, 3, N2, 113-145.
8. Смикодуб О. І. Клітинна терапія – новий напрямок в клініці внутрішніх хвороб // Матер. 14-го з'їзду терапевтів України. К., 1998, 586-588.
9. Смикодуб О. І. Клітинна терапія – сучасний напрямок імюнотерапії в онкологічній практиці // Імюнотерапія при лікуванні злоякісних новоутворень: Матер. наук.-практ. конф. К., 1998, 115-121.

10. Гриневич Ю. Я., Смикодуб О. І., Бендюг Г. Д. та ін. Застосування трансплантації криоконсервованих гемопоетичних клітин ембріональної печінки в комплексному лікуванні хворих на злоякісні новоутворення: Метод. рекомендації. К., 1999.
11. Новицька А.В. Застосування гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини в лікуванні анемічного синдрому у хворих на цукровий діабет, ускладнений діабетичним гломерулосклерозом, хронічною нирковою недостатністю // Український науково-медичний молодіжний журнал. 1999, №1-2, 36-40.
12. Ефимов А.С., Скробонская Н.А. Клиническая диабетология. К.: Здоров'я, 1998.
13. Новицька А.В., Смикодуб О.І., Єфімов А.С. Застосування ембріональних клітинних суспензій у хворих на цукровий діабет // Матер. 14-го з'їзду терапевтів України. К., 1998, 554-556.
14. Hann V., Bodger M., Hoffbrand A. Development of pluripotent hematopoietic progenitor cells in the human fetus // Blood. 1983, 62, N4, 118-123.
15. Смикодуб О.І., Єфімов А.С., Новицька А.В. Лікарський препарат імунокоригуючої дії на основі клітинної суспензії, спосіб лікування цукрового діабету з використанням цього препарату. Патент на винахід № 27048 від 28.02.2000. Держпатент, Україна.
16. Ефимов А. С., Смикодуб А. И., Новицкая А. В. Лекарственный препарат иммунокорригирующего действия на основе клеточной суспензии и способ лечения сахарного диабета с использованием этого препарата. Патент на изобретение N 2126260 от 20 февраля 1999 г. Российское агенство по патентам и товарным знакам.
17. Ефимов А.С., Novitskaya A.V., Smikodub A.I. Medical preparation based on fetal cell suspension having immunocorrecting effect and method of sugar diabetes treatment with the use of said preparation. Greece patent certificate. Number: 1002968. Date of patent: Sep. 9, 1998. Industrial property organization.

Лечение больных с впервые выявленным инсулинзависимым сахарным диабетом гемопоэтическими клетками эмбриональной печени

А.И.Смикодуб

Национальный медицинский университет им.А.А.Богомольца, 03110 Киев, Украина

Проводилось лечение впервые выявленного инсулинзависимого сахарного диабета методом трансплантации суспензий гемопоэтических клеток эмбриональной печени человека, содержащих стволовые клетки. Была показана положительная динамика клинических и лабораторных показателей, а также уменьшение лечебной дозы инсулина. Трансплантация оказалась тем более эффективной, чем меньшими были метаболические нарушения и инсулиновая недостаточность на момент трансплантации, а также чем раньше после установления диагноза было начато лечение.

Ключевые слова: *инсулинзависимый сахарный диабет, гемопоэтические клетки эмбриональной печени человека, стволовые клетки.*

Treatment of patients with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus with hematopoietic cells of embryonic liver

A.I.Smykodoub

O.O.Bogomolets National Medical University, 03110 Kyiv, Ukraine

Newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus was treated by transplantation of suspensions containing hematopoietic stem cells of human fetal liver. Positive changes in clinical and laboratory results, as well as reduction of therapeutic dose of insulin were demonstrated. The less expressed metabolic disorders and insulin deficiency were observed at the time of transplantation and the earlier the treatment started, the more effective transplantation proved to be.

Key words: *insulin-dependent diabetes mellitus, hematopoietic cells of human embryonic liver, stem cells.*