

## ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ І ТИПУ ЕМБРІОНАЛЬНИМИ КЛІТИННИМИ СУСПЕНЗІЯМИ, ЯКІ МІСТЯТЬ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ

А.В. Новицька, О.І. Смикодуб

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

### Резюме

У статті наведені дані стосовно ефективності трансплантації ембріональних клітинних суспензій, виготовлених з ембріону людини 5–12 тиж гестації, у хворих на цукровий діабет І типу. Описані особливості післятрансплантаційного періоду в разі вперше виявленого інсулінозалежного цукрового діабету, лабільного перебігу захворювання, у випадку розвитку ускладнень, зокрема мікроангіопатій (діабетична нефропатія, діабетична ретинопатія) та нейропатій.

**Ключові слова:** трансплантація, ембріональні клітини, цукровий діабет, мікроангіопатії.

Використання ембріональних клітинних суспензій (ЕКС) у клінічній практиці у теперішній час значно розширило можливості лікування хворих, у тому числі з такою тяжкою патологією, як цукровий діабет (ЦД). Власний досвід та багаторічна робота з проведенням наукових досліджень дозволили нам розробити метод лікування хворих на ЦД із застосуванням ЕКС, визначити показання, протипоказання, описати закономірності клінічного перебігу різних патологічних процесів після трансплантації ЕКС. Важливими стали відкриття нових клінічних явищ, а саме наявність гіпоглікемізувальної дії ЕКС під час лікування хворих на ЦД та крововідновлювальної дії у хворих на ЦД з анемічним синдромом [1,2].

Методом трансплантації ЕКС проліковано 97 хворих на ЦД І типу з різними клінічними варіантами. У якості трансплантата використовували кріоконсервовані ЕКС, виготовлені з тканин ембріону людини 5–12 тиж гестації. Клітинні суспензії містять значну кількість стовбурових клітин, у тому числі ембріонального гемопоезу, що здатні трансформуватися у всі паростки кровотворення та коригувати імунологічну реактивність реципієнта. Крім того, вони містять біологічно активні речовини, зокрема як інтерлейкіни, інтерферони, гемопоетичні фактори росту, у тому числі еритропоетин, фактори росту нервів, судин та ін. Суспензії імунологічно толерантні до антигенів реципієнта, здатні приживлятися внаслідок відсутності або слабкої експресії антигенів HLA-системи.

Ці унікальні властивості використовувалися клініцистами до початку 90-х років минулого сторіччя для лікування важких комбінованих імунодефіцитів, апластичної анемії, мієлодепресивного синдрому, для лікування природжених порушень метаболізму. Робота по лікуванню хворих на ЦД методом трансплантації ЕКС була розпочата нами у 1991 році на кафедрі факультетської терапії N2 з курсом ендокринології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (завідувач кафедри, академік А.С. Єфімов) [3]. Першим пацієнтом став хворий П., 31 рік, з діагнозом уперше виявленого інсулінозалежного цукрового діабету (ІЗЦД), тобто з захворюванням аутоімунного генезу. Незважаючи на досягнення

стану компенсації вуглеводного обміну за допомогою інсулінотерапії, залишалися порушення імунного статусу. Було відмічено зниження абсолютної та відносної кількості Т-лімфоцитів (Е-РУК;  $0,7056 \times 10^9$ /л, 49%), зниження абсолютної та відносної кількості клітин з супресорною активністю — теофілінчутливих клітин ( $0,1728 \times 10^9$ /л, 12%), збільшення величини імунорегуляторного коефіцієнту до 3,1, збільшення відносного вмісту В-лімфоцитів (ЕАС-РУК; 37%); збільшення кількості імуноглобулінів (Ig) класу А до 7,9 г/л, зниження кількості Ig класу М до 0,43 г/л.

Трансплантацію ЕКС провели через 4 тиж від виявлення захворювання та початку інсулінотерапії (внутрішньовенне крапельне уведення). Відновлення показників імунологічної реактивності хворого спостерігали вже на 11 добу: зросла абсолютна та відносна кількість Т-лімфоцитів ( $0,8904 \times 10^9$ /л, 53%), значно зросла абсолютна кількість клітин із супресорною активністю до  $0,4032 \times 10^9$ /л (у 2,3 разу), нормалізувався імунорегуляторний коефіцієнт — до 1,2, знизився відносний вміст В-лімфоцитів (31%); нормалізувався вміст Ig класу А (2,1 г/л) та Ig класу М (1,3 г/л).

Якщо покращання показників імунного статусу хворого було деякою мірою передбачуваним результатом, то неочікуваним для нас було поступове, протягом 2,5 міс, досить значне зниження рівня добової глікемії. Через 3 тиж у хворого почали з'являтися гіпоглікемічні стани, причому, якщо раніше вони мали виражений характер: хворий обмякав, з'являлися тремтіння, пітливість, тахікардія, почуття страху, то відтепер гіпоглікемії проявлялися м'якше: відчуття голоду, легким тремтінням у тілі зранку через 1–1,5 год після ін'єкції інсуліну. Вони проходили самостійно після прийому їжі. У зв'язку з цими станами знижували дозу введеного інсуліну. Максимальне зниження відмічено через 2,5 міс (на 59%). Клінічна ремісія продовжувалася 12 міс.

У майбутньому трансплантації ЕКС були проведені 27 хворим на вперше виявлений ІЗЦД (тривалість виявленого захворювання не більше 6 міс). Контрольну групу склали 20 хворих, подібних за віком, статтю, тривалістю захворювання, вираженістю метаболічних порушень. У 19 хворих (70% випадків) спостерігали

прояв синдрому раннього післятрансплантаційного поліпшення загального стану: зменшення слабкості, поява бадьорості, збільшення апетиту, покращання настрою. У частини хворих (52% випадків) спостерігали більш глибокі психосоматичні зміни — зменшення депресії, фобій, тривоги за своє майбутнє, зміцнення віри в одужання, збільшення фізичної та розумової працездатності, нормалізація сну. Реакції були виражені протягом декількох перших днів, потім дещо зменшувалися та тривали протягом 1–2 міс. Найважливішим клінічним ефектом, виявленим у процесі спостереження за хворими після трансплантації ЕКС, була гіпоглікемізувальна дія клітинних суспензій. Ефективність клітинної терапії визначали за ступенем зниження дози екзогенного інсуліну, частотою та тривалістю ремісії (зниження потреби в інсуліні — менше 0,4 ОД на 1 кг маси тіла при задовільному метаболічному контролі). У всіх хворих після лікування ЕКС зменшилася доза введеного інсуліну. Відбувалося це по-різному. У 16 чоловік (60%) добову дозу інсуліну почали знижувати вже з перших днів через появу “м’яких” гіпоглікемічних станів один або 2 рази на день (глікемія на рівні 2,7–3,0 ммоль/л), що не мали вираженого характеру, мали мінімальні прояви, легко виявлялися хворими та проходили завдяки прийому їжі. В 11 чоловік (40%) спостерігали гіперглікемічну реакцію з помірним підвищенням добової дози протягом 1 тиж. Через 6–8 год після трансплантації в цих пацієнтів спостерігали підвищення рівня глюкози крові на 20–30%, що компенсувалося збільшенням сумарної добової дози екзогенного інсуліну (в основному за рахунок інсуліну короткої дії). У подальшому динаміка зниження добової дози екзогенного інсуліну в обох групах не відрізнялася. Також не спостерігали відмінностей у частоті виникнення та тривалості клінічної ремісії у хворих із різною первинною відповіддю на введення ембріональної тканини. У досліджуваній групі вірогідне зниження дози введеного інсуліну, спостерігали через 4–6 тиж. Максимальне зменшення добової дози відбувалось через 14–90 діб, у середньому через  $53,03 \pm 4,3$  доби, на 20–100%. Загалом по групі максимальне зниження дози (на 45,5%) відмічено через 45–60 діб після трансплантації. Вірогідне зменшення дози введеного інсуліну, порівняно з дозою до трансплантації, спостерігалось протягом 1 року. Починаючи з 3 міс і протягом усього терміну спостереження доза введеного інсуліну була вірогідно нижчою, порівняно з контрольною групою. Вже на теперішній час ми маємо групу пацієнтів з уперше виявленим ІЗЦД, у яких у динаміці визначали наявність С-пептиду та глікозильованого гемоглобіну. Перше оброблення отриманих даних показало, що рівень С-пептиду зростає через 3 міс спостереження і до кінця року збільшується в декілька разів (у 2–4 рази). Крім того, спостерігалось зниження рівня глікозильованого гемоглобіну з тенденцією до нормалізації.

Виразеними були зміни імунного статусу хворих досліджуваної групи через 1 та 3 міс після трансплантації: збільшення абсолютної кількості лімфоцитів, кількості CD3+ лімфоцитів, зростання кількості клітин із супресорною активністю (CD8+ лімфоцитів), нормалізація імунорегуляторного коефіцієнту, зменшення кількості В-лімфоцитів (CD22+ лімфоцитів)

та тенденція до зменшення вмісту IgG. Отримані результати відображають реакції підсилення імунного захисту, а також послаблення або призупинення аутоімунного процесу в  $\beta$ -клітинах острівців Лангерганса. У той же час, гіпоглікемізувальний ефект ЕКС не можна пояснити лише імунокоригувальною дією, бо ми спостерігали ранній розвиток гіпоглікемії (від декількох годин до 1 доби після трансплантації) з необхідністю відповідного зменшення дози інсуліну в наступну добу.

Частота розвитку неповної ремісії вірогідно вища у хворих досліджуваної групи, порівняно з контрольною групою (65% та 35%, відповідно), також вірогідно вища і тривалість ремісії (від 6 до 14 міс) — у середньому  $9,46 \pm 0,6$  міс та  $3,16 \pm 0,4$  міс, відповідно. Відзначена залежність ефективності лікування від часу з моменту виявлення захворювання до проведення трансплантації ЕКС — чим коротший цей проміжок, тим кращий результат (частота та тривалість ремісії). Лікування ЕКС необхідно проводити якомога раніше після встановлення діагнозу ЦД [4].

У разі наявності виявленого ІЗЦД більше, ніж 6 міс, особливо у випадку лабільного перебігу, гіпоглікемізувальна дія ЕКС проявляється інакше. Поступово рівні глікемії протягом доби наближаються до нормальних, через 3–4 міс після трансплантації стабілізується перебіг захворювання, зменшується добова амплітуда глікемічних коливань, зникають гіпоглікемічні стани та епізоди кетоацидозу на достатньо довгий час (декілька місяців чи років). При цьому добова доза інсуліну, що вводиться, майже не змінюється. Таким чином, клітинна терапія допомагає досягти стійкої компенсації вуглеводного обміну.

Високу клінічну ефективність виявляють ЕКС під час лікування хворих на ІЗЦД з різноманітними ускладненнями. Доведено, що трансплантації є новим дієвим засобом лікування анемічного синдрому у хворих на ЦД, утому числі при вторинних еритропоетинзалежних анеміях, що зустрічаються під час діабетичної нефропатії [5]. Лікування проведено хворим на ІЗЦД, що ускладнений діабетичною нефропатією III стадії, хронічною нирковою недостатністю (ХНН) I, II та III ступенів з анемічним синдромом, стійким до звичайної гемостимулювальної терапії. У хворих з ХНН I та II ступеня вірогідно зросла кількість еритроцитів та вміст гемоглобіну через 1–1,5 міс. Тривалість ефекту спостерігалась від 2 до 11 міс. Результати лікування (вираженість та тривалість гемостимулювальної дії) кращі в групі хворих з ХНН I ступеня. Також у хворих цих груп спостерігали інші позитивні зміни: покращання функціонального стану нирок (зниження добової протеїнурії, покращання сечового осаду); стабілізацію гемодинамічних показників (зниження рівня артеріального тиску одночасно зі зменшенням дози гіпотензивних препаратів); стабілізацію показників глікемії протягом доби; зменшення частоти гіпоглікемічних станів; відновлення показників імунологічної реактивності, що клінічно проявлялося зниженням частоти та вираженості гострих респіраторних захворювань, загострень хронічних запальних захворювань. У хворих з ХНН III ступеня клінічного покращання стану не відмітили.

У разі наявності діабетичної ретинопатії у

хворих відмічали покращання картини очного дна після трансплантації ЕКС. Особливої уваги під час лікування ЕКС потребують хворі з проліферативною ретинопатією: необхідно дотримуватися показань та протипоказань до застосування цих клітин [5] і правильно виробити програму лікування. Ми маємо позитивний досвід ведення хворих з проліферативною ретинопатією, у яких до лікування ЕКС виявлялися масивні преретинальні крововиливи. Упродовж більше двох років відмічена відсутність появи нових кро-

вовиливів. Вельми перспективною є також подальше розроблення методу лікування ЕКС хворих з діабетичною нейропатією, оскільки відмічено зменшення таких проявів цього ускладнення, як біль, парестезії, відчуття оніміння, печія протягом декількох місяців.

Розроблений нами метод лікування хворих на цукровий діабет ембріональними клітинними суспензіями охоплює практично всі клінічні форми цукрового діабету. Метод захищений патентами України, Росії, Греції та Нідерландів.

#### Література

- [1] 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 N27048 від 28.02.2000. – Держпатент, Україна.
- [2] 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, Part 8.– N2.– 2000.
- [3] Єфімов А.С., Смикодуб О.І., Новицька А.В. Лікування хворих з вперше виявленим інсулінозалеж-

ним цукровим діабетом гемопоетичними клітинами ембріональної печінки: Метод. рекомендації.– К.,– 2000.– 14с.

[4] Смикодуб О.І. Лікування хворих на вперше виявлений інсулінозалежний цукровий діабет гемопоетичними клітинами ембріональної печінки.– Ендокринологія.– 2001.– Т.6.– №1.– С.80–88.

[5] Єфімов А.С., Смикодуб О.І., Новицька А.В. Лікування анемії у хворих на інсулінозалежний цукровий діабет гемопоетичними клітинами ембріональної печінки: Метод. рекомендації. – К., 2002. – 14с.

#### Резюме

В статье приведены данные об эффективности трансплантаций эмбриональных клеточных суспензий, приготовленных из эмбриона человека 5–12 нед гестации, у больных с сахарным диабетом I типа. Описаны особенности посттрансплантационного периода при впервые выявленном инсулинзависимом сахарном диабете, лабильном течении заболевания, при развитии осложнений, в частности, микроангиопатий (диабетическая нефропатия, диабетическая ретинопатия) и нейропатий.

#### Summary

This article provides information on the effectiveness of transplantations of embryonic cell suspensions made from 5–12 weeks old human embryos to type I DM patients. Described are peculiarities of post-transplantation period in first revealed insulin-dependent DM characterized by labile course and such complications as microangiopathy (diabetic nephropathy, diabetic retinopathy), and neuropathy.