

УДК: 616.379-008.64:615.032.14.611.36.013.018.1

## ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ В ДЕБЮТІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЕМБРІОНАЛЬНИМИ СТОВБУРОВИМИ КЛІТИНАМИ

О.І. Смикодуб, А.В. Новицька

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

### Резюме

В статті узагальнено досвід лікування хворих на цукровий діабет II типу з гіперінсулінізмом та метаболічними розладами з використанням ембріональних клітинних суспензій, які містять стовбурові клітини. Обґрунтовані підходи до лікування, показана ефективність методу, особливості післятрансплантаційного періоду.

*Ключові слова:* трансплантація, ембріональні стовбурові клітини, цукровий діабет 2 типу.

Цукровий діабет (ЦД) — це хронічне захворювання з тяжкими ускладненнями, що за останні роки набуло характеру неінфекційної епідемії. Так, за даними Міжнародної Діабетичної Федерації (IDF) в 2005 році кількість хворих на ЦД становила близько 230 млн людей (5,1%), а за прогнозами в 2025 році становитиме 333 млн (6,3%). При ЦД 2 типу середня тривалість життя на 12-14 років нижча за середню в популяції, у 75-80% хворих на ЦД причиною смерті є кардіоваскулярні, цереброваскулярні захворювання, захворювання периферичних судин. [1].

Серед механізмів розвитку ЦД 2 типу виділяють порушення секреції інсуліну β-клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози та зниження чутливості периферичних тканин до інсуліну — інсулінорезистентність (ІР). В якості патофізіологічної основи ЦД 2 типу розглядають саме ІР як механізм, що визначає розвиток взаємопов'язаних порушень вуглеводного та жирового обміну, а також регуляції артеріального тиску (АТ), функції ендотелію. Дані порушення відповідальні за прискорення розвитку атеросклерозу та високу летальність від кардіоваскулярних захворювань у хворих на ЦД 2 типу.

Головні метаболічні зміни при ІР пов'язані із зниженням фізіологічної дії інсуліну на рівні клітин. Гіперглікемія виникає внаслідок зниження захвату глюкози периферичними тканинами та посиленням глюконеогенезу і збільшенням продукції глюкози печінкою, гіперліпідемія - внаслідок зниження синтезу жирних кислот, стимуляції ліполізу з накопиченням вільних жирних кислот (ВЖК) в плазмі крові, які в гепатоцитах стають джерелом формування атерогенних ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), тригліцеридів (ТГ), та зниження елімінації атерогенних ліпопротеїдів — ЛПДНЩ та ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ). Крім того, розвивається дисліпідемія із зниженням ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), так як для їх утворення потрібні апопротеїни та фосфоліпіди,

що вивільнюються із ЛПДНЩ та ЛПНЩ під час ліполізу. ВЖК, що надходять в системний кровоток, порушують функцію інсулінових рецепторів та поглиблюють ІР (ефект ліпотоксичності).

ІР викликає компенсаторну гіперпродукцію інсуліну β-клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози з формуванням довготривалої та стійкої гіперінсулінемії. Експериментальними роботами доказано, що інсулін має пряму атерогенну дію на стінки судин, стимулюючи проліферацію та міграцію непосмугованих м'язових клітин, проліферацію фібробластів, активацію системи згортання крові, зниження активності фібрinolізу. Таким чином гіперінсулінемія вносить свій вклад в розвиток та прогресування атеросклерозу у хворих на ЦД.

Гіперінсулінемія вважається маркером ІР і зазвичай виявляється в дебюті ЦД 2 типу. З плином часу при збільшенні ступеня ІР виснажується інсулінпродукуюча здатність β-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози. В першу чергу страждає функція швидкої секреції інсуліну у відповідь на навантаження їжею (1 фаза секреції інсуліну), а 2 фаза (фаза базальної секреції інсуліну) залишається надлишковою. Сама по собі гіперглікемія підсилює ІР периферичних тканин та знижує інсулінсекреторну функцію β-клітин, тобто проявляє глюкозотоксичність. В середньому через 10–15 років після встановлення діагнозу у хворих можлива поява стійкої гіпоінсулінемії, що потребує призначення замісної інсулінотерапії [1].

З огляду на розкриті механізми розвитку ЦД 2 типу в світовій діабетології змінюються погляди стосовно підходів до лікування хворих. Головною метою є зниження ризику судинних ускладнень з ймовірним подовженням тривалості життя. Згідно з рекомендаціями IDF щодо ЦД 2 типу (2005 р.) таблетовані цукрознижуючі препарати доцільно призначати лише при неефективності дієтотерапії, тобто уникати безпідставного призначення, оскільки стимулюється

гіперінсулінемія. За умов необхідності вибору перорального цукрознижуючого препарату з метою досягнення компенсації захворювання перевагу надають препаратам, які не тільки мають гіпоглікемічну дію, але й не викликають вираженої гіперінсулінемії (препарати сульфонілсечовини III покоління), або призводять до деякого зниження рівня інсулінемії, тобто зменшують ступінь ІР (бігуаніди — метформін та тiazолідініони — розіглітазон). При веденні хворих обов'язковий контроль ліпідного профілю з немедикаментозною та тривалою медикаментозною корекцією гіперліпідемії [1].

В останні роки в діабетології вже впевнено впроваджується спосіб лікування хворих на ЦД з використанням ембріональних клітинних суспензій (ЕКС), що містять стовбурові клітини. Серед різноманітних позитивних ефектів ембріональних стовбурових клітин (ЕСК) особливо виділяється гіпоглікемічна дія. У 2002 році в експерименті дослідженнями Shigoі A., Yoshikawa M. (Японія) показано, що ЕСК миші на етапах розвитку ембріона синтезують інсулін та інсуліноподібні речовини і мають прямий гіпоглікемізуючий ефект. Крім того, ці клітини здатні трансформуватись в β-клітини острівців Лангерганса підшлункової залози, володіючи не поліпотентною, а плюріпотентною дією [2]. Починаючи з 1991 року нами розробляються методи лікування різних форм ЦД з використанням ЕСК, розроблені показання та протипоказання до застосування ЕСК. Показана висока ефективність при лікуванні ЦД 1 типу [3], ЦД 2 типу на різних стадіях захворювання [4]. В останній час ми також спостерігали ефективну дію клітин при метаболічному синдромі [5].

Метою даної роботи є визначення ефективності лікування хворих на ЦД 2 типу в дебюті захворювання з використанням трансплантацій ЕКС, узагальнення особливостей післятрансплан-

таційного перебігу, оцінка можливості повторних трансплантацій.

Матеріали і методи. Проаналізовано групу хворих на ЦД 2 типу в дебюті захворювання з гіперінсулінізмом та метаболічними розладами у вигляді дисліпідемії, яким проведені трансплантації ЕКС. Загальна кількість становила 25 хворих (11 жінок та 14 чоловіків), термін спостереження — від 1 до 5 років. Проводились клінічні та лабораторні дослідження хворих в повному обсязі. Вивчались показники вуглеводного обміну з визначенням глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), пре- та постпрандіальної глікемії, жирового обміну з визначенням вмісту холестерину (ХС), тригліцеридів (ТГ), ЛПВЩ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ. Інсулінпродукуючу функцію β-клітин підшлункової залози оцінювали за рівнем С-пептиду сироватки крові (див. табл. 1).

В клінічній групі тривалість виявленого захворювання становила від 6 місяців до 2 років (в середньому 1,1±0,6 років). У всіх пацієнтів відмічено збільшення маси тіла. Індекс маси тіла (ІМТ) коливався від 25,3 до 34,3 кг/м<sup>2</sup>, середня величина склала 30,1±1,7 кг/м<sup>2</sup>. 40% хворих до часу проведення трансплантації знаходились лише на дієтотерапії, останні отримували монотерапію у вигляді препаратів сульфонілсечовини в мінімальних дозах (7 хворих приймали глібенкламід у дозі до 5 мг на добу, 2 хворих — гліклазид у добовій дозі 80 мг) та 3 хворих — метформін (500–1000 мг на добу). У всіх пацієнтів відзначена стійка ранкова гіперглікемія (від 8,0 до 10,2 ммоль/л, в середньому 9,7±1,3 ммоль/л) при задовільному рівні постпрандіальної глікемії — від 7,7 до 9,8 ммоль/л, в середньому 8,75±0,36 ммоль/л, відсутність глюкозурії. Рівень HbA1c становив в середньому 7,9±1,3 %. У всіх пацієнтів відмічені зміни ліпідного профілю крові

Таблиця 1

Клінічна характеристика хворих

Показник		Референтні значення
Кількість хворих, стать (ч/ж)	25 (14\11)	
Вік, роки	42,4±6,5	
Тривалість виявленого захворювання, роки	1,1±0,6	
Індекс маси тіла, кг/м <sup>2</sup>	30,1±2,4	20-25
Глікемія натщесердце, ммоль/л	9,7±1,3	3,3-5,5
HbA1c, %	7,9±1,3	4,3-6,2
С-пептид, нг/мл	6,2±0,8	0,5-3,2
Холестерин, ммоль/л	7,04±0,47	<5,2
Тригліцериди, ммоль/л	2,06±0,41	1,02-2,04
ЛПВЩ, ммоль/л	0,84±0,12	> 1,42
ЛПНЩ, ммоль/л	5,07±0,61	< 3,9
ЛПДНЩ, ммоль/л	1,06±0,18	0,26-1,04
Артеріальна гіпертензія, кількість хворих	17	
Вид лікування, число хворих:		
1) дієтотерапія;	10	
2) дієтотерапія+пероральний цукрознижуючий препарат (монотерапія)	15	

з підвищенням рівня ХС в середньому на 35%, зростанням концентрації ЛПНЩ та ЛПДНЩ в середньому на 30%. Рівень ЛПВЩ знижений до 40%. У всіх пацієнтів був підвищеним рівень С-пептиду в крові і складав в середньому  $6,2 \pm 0,8$  нг/мл. Клінічні прояви захворювання були незначними у вигляді функціональних розладів та психофізіологічних реакцій. У 17 хворих (68%) наявна гіпертонічна хвороба I–II ст.

Хворим проводились одноразово трансплантації криоконсервованих ЕКС, що містять стовбурові клітини, отриманих з трупів ембріонів людини 4–8 тижнів 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  $100 \times 10^6$ , вмістом прогеніторних клітин CD34 — від 1 до  $20 \times 10^6$ /мл.

Отримані дані комплексного обстеження оброблені методом варіаційної статистики. Для оцінювання статистичної вірогідності відмінностей використаний t-критерій Ст'юдента. Відмінності вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

Результати та їх обговорення. Трансплантацію всі хворі перенесли задовільно, в жодному випадку не відмічено появи ускладнень. У 21 хворого (84% випадків) спостерігали прояви синдрому раннього післятрансплантаційного поліпшення загального стану: зменшення слабкості, збільшення фізичної та розумової працездатності, нормалізація формули сну, покращання настрою, зменшення явищ депресії. Реакція була більш вираженою на протязі перших 2–4 тижнів, потім незначно зменшувалась та тривала протягом 2–4 місяців. На протязі першого тижня після введення ЕКС у 10 хворих (40%) відмітили підвищення рівня глікемії на 14–31%. Гіперглікемія зменшувалась без додаткової гіпоглікемічної терапії. В подальшому показники глікемії у хворих поступово знижувались (див. табл. 2), що вимагало зменшення дози або відмови від таблетованих цукрознижуючих препаратів.

Важливим в клінічному плані є виявлення поступового зниження вмісту С-пептиду в сироватці хворих даної групи до межі норми (див. табл. 2). Зниження рівня підвищеної інсулінової

секреції одночасно зі стійким зниженням глікемії може свідчити про зменшення ступеня інсуліно-резистентності тканин. Також спостерігали поступове зниження ліпідемії з нормалізацією ліпідного профілю: зниження рівня ХС, ТГ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, підвищення рівня ЛПВЩ (див. табл. 2). Протягом 1–2 місяця після введення ЕКС у 14 хворих з супутньою артеріальною гіпертензією (82%) відмічено зниження рівня артеріального тиску та наступну стабілізацію через 2–3 місяці на рівні 135–140/75–85 мм рт.ст. з одночасним зниженням в 1,5–2 рази об'єму гіпотензивних засобів.

5 хворим у строки від 2 до 3 років після трансплантації провели повторну трансплантацію у зв'язку з погіршенням показників вуглеводного та ліпідного обміну на фоні тенденції до зростання рівня інсулінемії.

В якості приклада наводимо клінічний випадок.

Хворий Д., 37 років, звернувся в клініку в липні 2003 р. з приводу цукрового діабету. Захворювання виявлено в листопаді 2002 року, коли почав відмічати наявність спраги, сухості у роті, збільшення частоти сечовипускання, зниження працездатності, підвищену втомлюваність, дратівливість. На момент виявлення глікемія натщесерце — 11,5 ммоль/л, глюкозурія — 30 г/добу, відсутність ацетонуриї. Встановлений діагноз: ЦД 2 типу, вперше виявлений. Ожиріння I ст. (ІМТ=30,7 кг/м<sup>2</sup>). Сімейний анамнез обтяжений — є випадки ЦД 2 типу у родичів по материнській лінії. З анамнезу життя — поодинокі випадки ГРЗ, пневмонія, апендектомія. Після встановлення діагнозу дотримувався дієти, збільшив об'єм фізичних навантажень, проходив курси фітотерапії. За декілька місяців цілеспрямовано схуд на 9 кг, покращились показники глікемії на протязі дня, однак залишалась ранкова гіперглікемія, помірна глюкозурія. На початку літа призначений гліметірид 1 мг на добу.

При обстеженні в липні 2003 року — загальний стан задовільний, помірна надлишкова вага тіла (ІМТ=25,7 кг/м<sup>2</sup>), шкіряні покриви та видимі слизо-

Таблиця 2

Динамика показників вуглеводного та ліпідного обміну, С-пептиду у хворих на ЦД 2 типу

Показник	До трансплантації	Термін після трансплантації, міс		
		2–3	5–7	10–12
Глікемія натще, ммоль/л	9,7±1,3	8,37±0,64	5,93±1,27*	5,7±0,46*
Глікемія постпрандіальна, ммоль/л	8,75±0,36	8,48±0,42	8,25±0,74	8,19±0,27
HbA1c, %	7,9±1,3	7,75±0,54	7,04±0,26*	6,44±0,52*
Холестерин, ммоль/л	7,04±0,47	6,81±0,17	5,43±0,37*	5,16±0,34*
Тригліцериди, ммоль/л	2,06±0,41	1,95±0,31	1,86±0,19	1,74±0,27*
ЛПВЩ, ммоль/л	0,84±0,12	0,99±0,14	1,15±0,21*	1,38±0,15*
ЛПНЩ, ммоль/л	5,07±0,61	4,51±0,38	4,10±0,18*	3,88±0,26*
ЛПДНЩ, ммоль/л	1,06±0,18	0,95±0,14	0,78±0,13*	0,69±0,27*
С-пептид, нг/мл	6,2±0,8	3,24±0,76	2,91±0,47*	2,23±0,41*

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

ві оболонки чисті, звичайного кольору. Пульс — 78 уд на хвилину, ритмічний. АТ — 120/75 мм рт.ст. Мелодія серцевої діяльності правильна. Тони серця звучні. В легенях вислуховується везикулярне дихання. Живіт при пальпації м'який, безболісний. Печінка по краю реберної дуги, селезінка не збільшена. Відрізки товстої кишки звичайних властивостей. Фізіологічні відправлення не змінені. При лабораторному обстеженні виявлені порушення вуглеводного та ліпідного обміну. Глікемічний профіль — 10,8–11,7–9,0–6,7–7,0; HbA1c — 8,2%, С-пептид — 3,81 нг/мл, ХС — 7,59 ммоль/л, ТГ — 2,02 ммоль/л, ЛПВЩ — 0,72 ммоль/л, ЛПНЩ — 5,68 ммоль/л, ЛПДНЩ — 0,91 ммоль/л. Супутня патологія: Нейро-циркуляторна дистонія за змішаним типом, хронічний гастрит зі збереженою кислотоутворюючою функцією шлунка, дуоденіт в фазі ремісії, дискінезія жовчовивідних шляхів за змішаним типом.

8 серпня 2003 р. проведена трансплантація ЕКС внутрішньовенно крапельно в об'ємі 2,0 мл (характеристика суспензії — 7,5 тижнів гестації, кількість клітин в 1 мл —  $84,0 \times 10^6$ , CD34 —  $2,3 \times 10^5$ /мл). Трансфузію клітин переніс задовільно, без ускладнень. Починаючи з першої доби спостереження відмічені прояви синдрому раннього післятрансплантаційного поліпшення стану у вигляді зменшення загальної слабкості, появи бадьорості, поліпшення розумової працездатності, здатності концентрувати увагу, покращився сон. Ці прояви були вираженими протягом 2–3 місяців. В подальшому на протязі всього терміну спостереження хворий звернув увагу, що зникли звичайні для нього короточасні приступи серцебиття, тахікардії з відчуттям оніміння в ділянці серця, а також здуття, урчання животу, пов'язані з емоційною напругою, тобто значно зменшились прояви функціональних розладів.

Відмічено покращання показників глікемії на протязі дня через 2 тижні, зберігався стан гіперглікемії натщесерце вранці. Через місяць хворий почав відмічати м'які гіпоглікемічні стани, знизилась ранкова гіперглікемія, у зв'язку з чим відмінений амаріл. Через місяць після ТЕСК зафіксовано зниження рівня С-пептиду з нормалізацією через 6 місяців. На протязі всього терміну спостереження (4 роки) залишається нормоінсулінемія (див. рис. 1). Через 3–4 тижні досягнута компенсація вуглеводного обміну з позитивною динамікою (див. рис. 1). Тенденція до нормалізації показників ліпідного обміну зафіксована через 6 місяців після ТЕСК (див. табл. 3)

Через 2 роки після ТЕСК відмічено погіршення стану компенсації захворювання: поступове зростання рівню глікемії натщесерце при нормальних показниках глікемії протягом дня, відмічена тенденція до зростання рівня С-пептиду сироватки крові та HbA1c, погіршення показників ліпідограми. В зв'язку з цим через 2 роки та 3 місяці після ТЕСК проведена повторна трансплантація внутрішньовенно крапельно в об'ємі 1,6 мл (характеристика суспензії — 7 тижнів гестації, кількість клітин в 1 мл —  $98,0 \times 10^6$ , CD34 —  $1,9 \times 10^5$ /мл). Введення суспензії переніс задовільно, без ускладнень. Повторна трансплантація дозволила поступово знову досягти компенсації захворювання (див. рис. 1, табл. 3). Таким чином, можна відмітити основні результати лікування даного хворого: досягнення компенсації ЦД 2 типу, підтримка компенсації протягом 4 років спостереження на фоні відміни перорального цукрознижуючого препарату, зниження гіперінсулінемії та підтримка нормоглікемії протягом всього терміну спостереження, відсутність збільшення ваги тіла (ІМТ залишається на рівні 24,6–25,0 кг/м<sup>2</sup>).

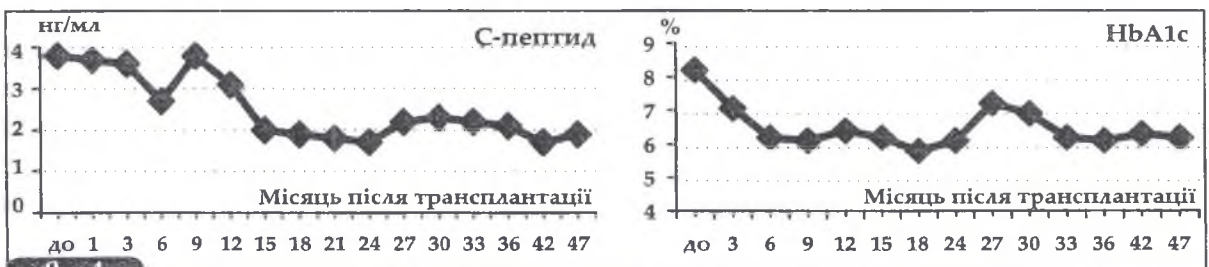


Рис. 1 Динаміка рівней С-пептиду та HbA1c сироватки крові пацієнта Д. до та після ТЕСК.

Таблиця 3

Динаміка показників ліпідного профілю пацієнта Д. до та після ТЕСК

Показники	Норма	5.08.03 до Тр	14.11.03 +3 міс.	10.02.04 +6 міс	24.05.04 +9 міс.	7.02.05 +1,5 року	27.10.05+2 роки 2 міс	16.02.06+2,5 міс. після 2-ї Тр	24.05.06+5 міс.	14.09.06+9 міс.	15.12.06+ 1 рік
ХС, ммоль/л	<5,2	7,59	6,81	5,65	5,2	5,5	6,27	5,45	5,2	5,09	5,1
ТГ, ммоль/л	1,02-2,04	2,02	1,82	1,63	1,25	1,45	1,82	2,05	0,98	1,16	1,57
ЛПВЩ, ммоль/л	> 1,42	0,72	1,09	0,78	0,85	1,37	0,95	1,17	1,22	1,33	1,2
ЛПНЩ, ммоль/л	< 3,9	5,68	5,0	4,13	4,02	3,5	4,79	3,50	3,9	3,85	3,8
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,26-1,04	0,91	0,82	0,74	0,57	0,66	0,57	0,98	0,45	0,53	0,71

**Висновки**

Трансплантації ембріональних стовбурових клітин у хворих на цукровий діабет 2 типу в дебюті захворювання в комплексному лікуванні приводять до стійкої компенсації захворювання, що проявляється зниженням показників глікемії, глікозильованого гемоглобіну, покращанням показників ліпідного профілю. У 65 % хворих компенсація досягнута на фоні зниження об'єму пероральної цукрознижуючої терапії. Одним з важливих ефектів застосування ембріональних стовбурових клітин є зниження гіперінсулінемії на протязі 1–3 місяців після трансплантації в

1,5–2 рази з підтримкою нормоінсулінемії протягом 1–5 років. Тенденція до нормалізації показників ліпідного обміну відмічена через 5–7 місяців після трансплантації зі стійкою нормалізацією через 10–12 місяців у 73 % хворих. Трансплантації ембріональних стовбурових клітин сприяють пролонгації стану компенсації хворих на цукровий діабет 2 типу, що дає змогу хворим знаходитись тільки на немедикаментозній терапії. Показанням до повторної трансплантації є погіршення компенсації цукрового діабету на фоні зростання рівня С-пептиду сироватки крові.

**Література**

1. IDF. Clinical Guidelines Task Force, Global Guideline for type 2 diabetes, Brussels, 2005. – 79 p.
2. Shiroi A., Yoshikawa M., Yokota H. et al. Identification of insulin-producing cells derived from embryonic stem cells by zinc-chelating dithizone // *Stem Cells*. – 2002. – 20, N 4. – P. 284–292.
3. Smikodub O., Novytska A. Embryonic Cell Suspensions in New-Onset Type 1 Diabetes Mellitus // 19-th World Diabetes Congress, Cape Town, 3-7 December, 2006. *J. of Diabetes UK, Diabetic Medicine*. – 23, N 4. – P 663–664.
4. Smikodub O.I., Novytska A.V. Embryonic Cell Suspensions in Pernicious Decompensated Type 2 Diabetes Mellitus // *Tissue Engineering & Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting, Rotterdam, the Netherlands October 8–11, 2006*. – P. 192.
5. Smikodub O.I., Novytska A.V. Embryonic stem cells in metabolic syndrome // 6th Congress European Federation of Internal Medicine / 13th National Congress of Internal Medicine. Lisbon, Portugal, May 23–26, 2007. – P. 190.

**Резюме**

В статье обобщен опыт лечения больных сахарным диабетом 2 типа с гиперинсулинизмом и метаболическими расстройствами с использованием эмбриональных клеточных суспензий, содержащих стволовые клетки. Обоснованы подходы к лечению, показана эффективность метода, особенности посттрансплантационного периода.

**Summary**

This article presents the summary of the experience of treatment of type 2 diabetes mellitus complicated by hyperinsulinism and metabolic disorders by administration of embryonic stem cell suspensions. Different therapeutic approaches are described, efficacy of the method and peculiarities of post-transplantation period are demonstrated.