

УДК 616.379-008

*В.И. Шепитько, Л.Е. Бобырева, И.Л. Дворник,
А.А. Капустянская, К.В. Шепитько, А.Л. Челишвили*

ВГУУУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

НОВЫЕ BIOTEХНОЛОГИИ В ДИАБЕТОЛОГИИ

Работа посвящена разработке новых биотехнологий лечения СД с использованием комплексной терапии СД гетеротопической трансплантации криоконсервированной фетоплацентарной ткани. Установлена ее способность нормализовать показатели углеводного обмена (снижается уровень глюкозы и гликозилированного гемоглобина), тормозить нарастание уровня липидов (снижается уровень общего холестерина, β - и пре- β -липопротеидов) и свободнорадикального перекисного окисления липидов (снижается уровень ТБК-реактантов, диеновых конъюгат).

Ключевые слова: сахарный диабет, криоконсервированная фетоплацентарная ткань, углеводный обмен, свободнорадикальное перекисное окисление липидов, качество жизни.

В настоящее время во всем мире сахарным диабетом (СД) страдает около 300 млн. человек. СД является одной из самых важных медико-социальных проблем здравоохранения практически всех стран мира. Распространенность СД в промышленно развитых странах составляет 5–6 % и имеет тенденцию к увеличению. Так, каждые 10–15 лет количество больных СД увеличивается примерно в 2 раза. Это происходит в основном за счет прироста больных СД 2-го типа, т. е. инсулиннезависимого (ИНСД). Расчеты показали, что в случае увеличения средней продолжительности жизни до 80 лет количество больных ИНСД будет превышать 17 % всего населения. ВОЗ оценила современное состояние роста заболеваемости СД как глобальную эпидемию, требующую решения не только медицинских, но и социальных проблем. Следует подчеркнуть, что важная социальная значимость СД состоит в том, что он приводит к ранней инвалидизации и летальности, которая связана с развитием поздних сосудистых осложнений, их частота составляет от 64 до 98 % случаев. По смертности СД вышел на третье место после сердечно-сосудистой патологии и злокачественных новообразований.

СД представляет собой заболевание, которое всегда обусловлено дефицитом инсулина, абсолютном при СД 1-го типа (ИЗСД) или относительном при СД 2-го типа (ИНСД)

вариантах. Нарушение утилизации глюкозы и, как следствие, появление гипергликемии и глюкозурии является первым витком в сложнейшем патогенезе сахарного диабета. За ним или одновременно следуют нарушения водно-электролитного, жирового, белкового обменов, нарушения циркадианного ритма регуляторных и контринсулярных гормонов. Со временем на вершину этой пирамиды гормонально-метаболических изменений выносятся органные и системные изменения, так называемые поздние диабетические осложнения, затрагивающие практически все функциональные системы организма человека.

Исходя из патогенеза СД, его терапия базируется на трех основных принципах: компенсации дефицита инсулина (диета, дозированные физические нагрузки, сахароснижающие средства, введение инсулина); коррекции гормонально-метаболических нарушений; лечения и профилактики диабетических осложнений.

И хотя в арсенал средств лечения больных с данной патологией в последние годы вошли человеческие инсулины, «искусственная поджелудочная железа», индивидуальные глюкометры, организованы система обучения принципам самоконтроля в «школах сахарного диабета» и подологическая служба, СД продолжает представлять собой серьезную медико-социальную проблему

© В.И. Шепитько, Л.Е. Бобырева, И.Л. Дворник и др., 2011

для большинства стран мира, так как сочетание неуклонного роста заболеваемости с отсутствием реальных профилактических мероприятий создает весьма пессимистический прогноз относительно будущего состояния здоровья населения планеты. Иллюстрацией к сказанному служат данные по распространенности СД и летальности за 1986–2000 гг. в Полтавской области и по Украине в целом. По данным анализа распространенности СД, его осложнений и летальности по Полтавской области и по Украине в целом 1986–2000 гг. (данные ежегодных обзоров МЗ Украины и Института эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины) установлено, что распространенность СД по Полтавской области увеличилась в 1,8 раза, по Украине в целом — в 1,7 раза, в то же время летальность в первом случае увеличилась в 1,8 раза, во втором — в 1,6 раза, что свидетельствует о необходимости разработок принципиально новых методов терапии СД.

В 1998 году американским ученым Джеймсу Томпсону и Джону Беккеру удалось выделить человеческие эмбриональные стволовые клетки (ЭСК). Опубликованные в 1999 году в журнале «Science» результаты экспериментов были признаны третьим по важности событием в биологической науке XX века после открытия двойной спирали ДНК и расшифровки генома человека. Уникальное свойство ЭСК — плюрипотентность, т. е. способность дать начало по меньшей мере 350 различным типам клеток, послужила толчком к бурной исследовательской деятельности по изучению ЭСК и открыла широкие перспективы их практического использования в биологии и медицине, в первую очередь в трансплантологии.

Миллиарды клеток растущего организма (человека или животного) происходят всего-навсего из одной клетки (зиготы), которая образуется в результате слияния мужской и женской гамет. Эта единственная клетка содержит не только информацию об организме, но и схему ее последовательного развертывания. Так развивается человеческий организм, состоящий из 10¹⁴ клеток. В ходе эмбриогенеза оплодотворенная яйцеклетка делится и дает начало клеткам, не имеющим других функций, кроме передачи генетического материала в следующие клеточные поколения. Это и есть ЭСК, геном которых находится в «нулевой точке» — механизмы, определяющие специализацию, еще не включены, из них потенциаль-

но могут развиваться любые клетки. Считывание генетического кода идет поэтапно. С момента дифференцировки на эмбриональные листки: экто-, энто- и мезодерму, появляются регионарные стволовые клетки (РСК) первого, второго и т. д. порядка до тканевых производных, т. е. потентность этих клеток определена эмбриональным листком. Делятся они таким же образом, как и ЭСК: одна РСК запускает программу развития, другая — отправляется в депо. Потомки этих стволовых клеток, размножаясь, следуют по уже определенному пути специализации — процесс получил название коммитирование. Во взрослом организме имеются стволовые клетки тканей, благодаря делению этих клеток обновляются структуры тканей.

С момента появления тканевых зачатков в процесс развития включается плацента, которая не только ведает жизнеобеспечением плода, но и регулирует его нормальное созревание и развитие. В плаценте выявлены пептиды, гомологичные гонадотропинам и лактогенам, которые выполняют роль соматотропного гормона (СТГ) во время внутриутробного развития плода. Также в ней синтезируются инсулиноподобные факторы роста 1 и 2, относящиеся к соматомединам и опосредующие действие СТГ. Из плаценты выделены и охарактеризованы факторы роста нервов и фибробластов, а также фактор, стимулирующий рост эндотелия сосудов; в ней выявляются все компоненты ренин-ангиотензиновой системы.

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение терапевтического эффекта гетеротопической трансплантации криоконсервированной фетоплацентарной ткани в комплексной терапии больных СД.

Материал и методы. Обследовано 27 практически здоровых лиц, для чистоты исследования и достоверности сравнения, они были разделены на две возрастные группы: до и после 40 лет; 81 больной СД 1-го типа (39 — контрольная, 42 — исследуемая группа), 48 больных СД 2-го типа (27 — контрольная, 21 — исследуемая группа) и 49 больных СД 2-го типа, требующих для своего лечения инсулин, вторично инсулин-зависимые (24 — контрольная, 25 — исследуемая группа). Длительность заболевания составила 8,3 года, (период наблюдения — от 3 мес до 1 года. Больные контрольной группы получали традиционную терапию (диета, инсулин, сахароснижающие пероральные препараты, ангиопротекторы, витами-

ны), больным исследуемой группы на фоне традиционной терапии была произведена гетеротопическая трансплантация криоконсервированной плацентарной ткани. Забор тканей, их криоконсервация, проверка на стерильность, стандартизация, сертификация и подготовка их к клиническому использованию осуществлялась сотрудниками Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков). Обследование проводилось до лечения, через 3 месяца и 1 год после трансплантации. Для оценки качества жизни мы использовали методику диагностики оперативной диагностики самочувствия, активности и настроения с помощью анкетирования по Д.Я. Райгородскому (1999), табл. 1.

уровень общего холестерина («Биотест», Lachema), β - и пре- β -липопротеидов; углеводного обмена — уровень глюкозы ортотолуидиновым методом, содержание гликозилированного гемоглобина (HbA_{1c}); состояние свободнорадикального перекисного окисления липидов — уровень ТБК-реактантов, диеновых конъюгат и активность антиоксидантного фермента — церулоплазмина. Состояние периферической гемодинамики оценивали по показателям доплерометрии, реовазографии и капилляроскопии. Работа проведена на базе Полтавского регионального центра клеточной и тканевой трансплантации и лаборатории криоморфологии Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины

Таблица 1. Показатели качества жизни у больных СД 1-го, 2-го типа и вторично инсулинзависимым по Д.Я. Райгородскому

Группа больных	Срок наблюдения	Самочувствие	Активность	Настроение
СД 1-го типа				
контрольная	До лечения	1,7	1,6	1,6
	Через 3 месяца	2,2	2,4	2,5
	Через 1 год	1,9	2,2	2,3
исследуемая	До лечения	1,4	1,5	1,6
	Через 3 месяца	4,4	4,2	4,5
	Через 1 год	4,1	4,0	3,7
СД 2-го типа				
контрольная	До лечения	2,0	2,2	2,1
	Через 3 месяца	2,4	2,5	2,6
	Через 1 год	2,2	2,3	2,2
исследуемая	До лечения	1,9	2,3	2,2
	Через 3 месяца	4,0	4,0	4,2
	Через 1 год	3,8	3,9	4,0
Вторично инсулинзависимым СД				
контрольная	До лечения	1,8	2,0	2,3
	Через 3 месяца	2,2	2,5	2,7
	Через 1 год	2,1	2,3	2,4
исследуемая	До лечения	1,7	2,1	2,4
	Через 3 месяца	4,3	4,1	4,3
	Через 1 год	4,0	3,8	4,1

Обследование больных включало: общеклинические и функциональные методы обследования (общий анализ крови, мочи, глюкоза крови, ЭКГ, рентгеноскопия органов грудной клетки и др.), а также определение показателей липидного обмена —

(г. Харьков). Полученные результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты. Нами установлено, что использование в комплексной терапии СД криоконсервированной фетоплацентарной

ткани позволило достичь продолжительной стойкой гликемической компенсации (табл. 2, 3).

мой — снизилась на 52,9 %. У больных СД 2-го типа (вторично инсулинзависимых) доза инсулина была увеличена на 6,1 % в

Таблица 2. Биохимические показатели и индекс массы тела у больных СД 1-го типа до и после трансплантации криоконсервированной фетоплацентарной ткани

Показатель	До лечения (n=58)	Через 3 мес после лечения (n=54)	Через 1 год после лечения (n=51)
Глюкоза, ммоль/л	11,80±0,36	6,95±0,11 p<0,001	6,20±0,21 p<0,001
HbA _{1c} , %	9,86±0,22	8,92±0,17 p<0,001	8,64±0,14 p<0,001
Общий холестерин, ммоль/л	4,85±0,07	4,61±0,05 p<0,01	4,54±0,04 p<0,001
β- и пре-β-липопротеиды, г/л	5,20±0,09	4,71±0,21 p<0,05	4,59±0,24 p<0,05
Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	47,88±0,85	39,86±1,35 p<0,001	38,22±1,62 p<0,001
ТБК-реактанты, мкмоль/л	6,77±0,34	3,49±0,32 p<0,001	3,17±0,37 p<0,001
Церулоплазмин, ЕД/мл	274,21±6,46	233,50±7,87 p<0,001	229,41±9,42 p<0,001
ИМТ, кг/м ²	23,15±0,08	23,28±0,05 p>0,1	23,47±0,12 p<0,005

Примечание. Здесь и в табл. 3: p — достоверность по сравнению с показателем до лечения.

Таблица 3. Биохимические показатели и индекс массы тела у больных СД 2-го типа, получавших пероральные гипогликемизаты, до и после трансплантации криоконсервированной фетоплацентарной ткани

Показатель	До лечения (n=11)	Через 3 мес после лечения (n=9)	Через 1 год после лечения (n=8)
Глюкоза, ммоль/л	9,60±0,10	6,10±0,22 p<0,001	5,90±0,20 p<0,001
HbA _{1c} , %	9,13±0,24	8,06±0,24 p<0,01	8,08±0,25 p<0,01
Общий холестерин, ммоль/л	5,83±0,09	5,56±0,10 p<0,1	5,34±0,08 p<0,01
β- и пре-β-липопротеиды, г/л	8,68±0,33	5,85±1,23 p<0,05	5,61±0,32 p<0,001
Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	40,64±2,41	37,48±2,69 p>0,1	38,61±2,84 p>0,1
ТБК-реактанты, мкмоль/л	7,55±0,31	6,18±1,59 p>0,1	4,70±0,65 p<0,001
Церулоплазмин, ЕД/мл	174,04±5,96	221,33±17,40 p<0,05	220,32±18,28 p<0,05
ИМТ, кг/м ²	31,94±0,18	31,25±0,19 p<0,05	31,33±0,22 p<0,05

Так, благодаря комплексной терапии СД с использованием гетеротопической трансплантации криоконсервированной фетоплацентарной ткани снизился уровень глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови, уровень общего холестерина, β- и пре-β-липопротеидов. В значительной степени снизилась потребность в инсулине и сахароснижающих пероральных препаратах. У у больных СД 1-го типа в контрольной группе доза инсулина благодаря лечению была снижена на 2,1 %, в исследуемой — на 26,9 %. У больных СД 2-го типа доза сахароснижающих препаратов в контрольной группе увеличилась на 2,1 %, а в исследуе-

контрольной группе и снижена на 45,2 % — в исследуемой. Кроме того, нормализовалось перекисное окисление липидов и липидный обмен: снизился уровень ТБК-реактантов, диеновых конъюгатов. Существенно повысилось качество жизни у данной группы больных, причем данные изменения сохраняются практически неизменными в течение года.

Таким образом, использование в комплексной терапии СД криоконсервированной фетоплацентарной ткани способствовало нормализации показателей углеводного обмена, торможению нарастания уровня липидов и свободнорадикального перекисного окисления липидов.

**В.І. Шепітько, Л.Є. Бобирьова, І.Л. Дворник, А.А. Капустянська, К.В. Шепітько, А.Л. Челішвілі
НОВІ БІОТЕХНОЛОГІЇ В ДІАБЕТОЛОГІЇ**

Робота присвячена розробці нових біотехнологій лікування ЦД з використанням в комплексній терапії ЦД гетеротопічної трансплантації кріоконсервованої фетоплацентарної тканини. Встановлена її здатність нормалізувати показники вуглеводного обміну (знижується рівень глюкози і глікозильованого гемоглобіну), тормозити підвищення рівня ліпідів (знижується рівень загального холестерину, β - і пре- β -ліпопротеїдів) і вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (знижується рівень ТБК-реактантів, дієнових кон'югат).

Ключові слова: цукровий діабет, кріоконсервована фетоплацентарна тканина, вуглеводний обмін, вільнорадикальне перекисне окиснення ліпідів, якість життя.

**V.I. Shepitko, L.Ye. Bobyryeva, I.L. Dvornyk, A.A. Kapustyanskaya, K.V. Shepitko, A.L. Chelishvili
NEW BIOTECHNOLOGIES IN DIABETOLOGY**

Work is devoted to development of new biotechnologies of treatment of the diabetes mellitus (DM) with use of a heterotopic transplantation of cryopreserved fetoplacental tissue in complex therapy of DM. Its abilities to normalize parameters of a carbohydrate metabolism (the levels of a glucose and glycated haemoglobin are reduced), to brake increase of a lipids level (the levels of the common cholesterol and β - and pre- β -lipoproteins are reduced) and free radical lipid peroxidation (levels of TBA-reactants and diene conjugates are reduced) was established.

Key words: diabetes, cryopreserved fetoplacental tissue, carbohydrate metabolism, free radical lipid peroxidation, quality of life.