

УДК 616.379-008

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

ВГУУУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В ДИАБЕТОЛОГИИ

Работа посвящена разработке новых биотехнологий лечения СД с использованием в 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 гипогликемизаторы, 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. Bobyreva, 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 cholesterolin 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.