



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **37684** (13) **U**  
(51) **МПК (2006)**  
**A61K 35/14**  
**A61K 35/24**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І ІІ ТИПІВ ЗА ДОПОМОГОЮ КЛІТИННИХ ТРАНСПЛАНТАТІВ РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ**

1

(21) u200806787

(22) 19.05.2008

(24) 10.12.2008

(46) 10.12.2008, Бюл.№ 23, 2008 р.

(72) БОЙКО ВАЛЕРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA,  
КЛІМОВА ОЛЕНА МИХАЙЛІВНА, UA, ВОТЯКОВА  
ІРИНА АНДРІЙВНА, UA, ІВАНОВ ВОЛОДИМИР  
МИКОЛАЙОВИЧ, UA, ДРОЗДОВА ЛАРИСА АНА-  
ТОЛІЙВНА, UA

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ЗАГАЛЬНОЇ  
ТА НЕВІДКЛАДНОЇ ХІРУРГІЇ АКАДЕМІЇ МЕ-  
ДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ", UA

(57) Спосіб лікування цукрового діабету І і ІІ типів  
за допомогою клітинних трансплантатів різного  
походження, що включає приготування і введення  
біологічного матеріалу імунорегуючої дії, який  
**відрізняється** тим, що додатково проводять інди-  
відуальний підбір клітинних препаратів, що коре-  
гують метаболічні, ендокринні та автоімунні роз-  
лади, залежно від типу цукрового діабету,  
наявності його ускладнень та типу імуніологіч-  
них порушень; зазначені клітинні препарати вво-  
дять після введення антигістамінного препарату -  
тавегілу, при ЦД І типу використовують кріоконсе-

2

рвовані препарати гемопоетичних стовбурових  
клітин, виготовлені із печінки ембріонів строком 11  
тижн. гестації, що складається з колонієутворюва-  
льних одиниць ГМ в кількості від 30 до  $80 \cdot 10^6$ /мл, і  
вводять в дозі 0,5-2 мл, при ЦД ІІ типу використо-  
вують кріоконсервовані препарати, виготовлені з  
кордової крові, що містить колонієутворювальні  
одиниці ГМ в кількості від 1 до  $15 \cdot 10^6$ /мл, препарат  
вводять в дозі 20-40 мл, ефект лікування оцінюють  
по зменшенню дози інсуліну, що вводиться, виник-  
ненню гіпоглікемічних станів, рівню зниження глі-  
кемії, позитивній зміні показників імунного статусу  
та біохімічних показників: рівень субпопуляції іму-  
нокомпетентних клітин, шляхом визначення експресії  
диференціальних рецепторів CD3, CD4,  
CD8, CD11a, CD16, CD19, CD20, CD25, CD34,  
CD38, CD95, CD162, концентрація імунoglobulinів,  
рівень експресії HLA-DR<sup>+</sup>, глікозильованого гемо-  
глобіну, вмісту мікроелементів ( $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  
хлориди), ферментів, продуктів перекисного окис-  
лення ліпідів (дієнові кон'югати, оксидієнові кон'ю-  
гати, триєнові кон'югати, тетрадієнові кон'югати) та  
природних проантиоксидантів ( $\alpha$ -токоферол,  $\beta$ -  
каротин), С-пептиду та S-пептиду.

Корисна модель відноситься до медицини, і  
може бути використана для лікування захворю-  
вань, що зумовлюються метаболічними, ендокринними та автоімунними порушеннями (зокрема порушення глюконеогенезу), наприклад, цукрового діабету.

Цукровий діабет І типу (ЦД І типу) є мультифакторіальним захворюванням, що асоційоване з фенотипом лейкоцитарних антигенів першого та другого класів. Існує генетична схильність до розвитку по фенотипу лейкоцитарних рецепторів HLA та пенетрантності даного показника, який характеризується експресією рецепторів антигенів першого і другого класу. Формування ЦД І типу пов'язано перш за все з порушення синтезу та обміну інсуліну. Цукровий діабет (ЦД І типу) часто асоційований з іншими автоімунними захворюваннями,

такими як автоімунний тиреоїдит, дифузний токсичний зоб, перніціозна анемія, ангіопатії, що зв'язані з сполучно-тканинними дисплазіями. У цих пацієнтів також є великий ризик розвитку інсультів. Гіперсенситибілізація в гуморальній ланці імунітету, висока щільність експресії диференціальних маркерів CD на клітинах острівців Лангерганса. У деяких хворих нейропатія і ангіопатія супроводжуються гіпергаммаглобулінемією. У цих хворих також часто діагностується панкреатит, в ранньому періоді панкреатит може розглядатись як переддіабет.

Всі процеси активації і супресії клітинної активності при реалізації генетичної програми на всіх етапах онтогенезу організму, короткострокові і зворотні.

Цукровий діабет другого типу (ЦД ІІ типу) характеризується двома механізмами: зменшенням

(13) **U**

(11) **37684**

(19) **UA**

кількості рецепторів до інсуліну на клітинах та зміною спорідненості до цього гормону, що призводить до активізації тромбоутворення і порушення фібринолізу.

Патогенез діабету другого типу (ЦД II типу) часто характеризується підвищенням концентрації гліколізованого гемоглобіну (Hb A<sub>1c</sub>). Індуковане зниження цього показника зменшує ризик ускладнень цукрового діабету. Стандартна гіпоглікемічна терапія спрямована на зниження Hb A<sub>1c</sub>, що зменшує ризик розвитку серцево-судинних захворювань. У хворих з цукровим діабетом часто розвивається коронарний атеросклероз, і основна стратегія лікування полягає в кардіоваскулярному захисті. Частим ускладненням цукрового діабету II типу є діабетичні нейропатії. Автоімунна агресія з розвитком неспецифічної запальної реакції може визивати діабетичний інфаркт міокардію, який частіше відбувається у пацієнтів з дефіцитом кортизолу. Дефіцит кортизолу розвивається при вираженій дисфункції надниркової залози. Автоімунний компонент часто асоційований з хронічним ацидозом, що знижує адаптаційні можливості організму в цілому. Велика роль деяких мікроелементів в індукції ускладнень цукрового діабету, наприклад, порушення синтезу катехоламінів. Хронічний прогресуючий ацидоз сприяє розвитку порушення співвідношення мікроелементного складу, при якому відбувається виборче усмоктування катіонів важких металів, нестача магнію, що негативно відображається на виробітку інсуліну і прискорює гибель В-клітин. Дефіцит магнію викликає необоротні порушення імунної і ендокринної систем, а також надлишкове насичення організму фосфатами, що викликає формування дисліпидопрофілемій і сприяє ожирінню.

Лікування цукрового діабету повинно бути спрямоване на два патогенетичні механізми: регенерацію β-клітин підшлункової залози і секрецію інсуліну, та покращення резистентності до інсуліну. Комплексне лікування повинно бути спрямовано також на отримання позитивного кардіоваскулярного ефекту, зниження адгезивності тромбоцитів та інших клітин крові, нормалізацію концентрації простагландину Е, нормалізацію гемореології, зокрема, фібринолізу, стимуляцію природних антиоксидантів, усунення автоімунного компоненту.

На сьогоднішній час для лікування захворювань, що супроводжуються метаболічними та ендокринними розладами використовують клітинні препарати, але повністю не визначені механізми дії стовбурових клітин, необхідна кількість клітинного матеріалу, що вводиться, найбільш адекватний спосіб введення стовбурових клітин, методи діагностики клінічної ефективності клітинної терапії [Рахмат-Заде Т.М., Скридлевская Е.А., Акчурин Р.С. Костномозговые стволовые клетки в лечении ишемической болезни сердца //Кардиология. - 2007. - №1. - С.47-51].

Відомий спосіб лікування ендокринних та автоімунних захворювань [патент UA №19976, 1997р. Спосіб трансплантації культури клішн. Алексієнко О.О., Слюсарев О.А.], включає лапаротомію, формування із великого сальника капсули, в порожни-

ну якої вводять дренаж, а через нього - культуру клітин. Перед введенням культури в порожнину капсули протягом двох - п'яти діб щодобово вводять димексид, а після введення культури клітин - живильне середовище протягом 5-7 днів, причому капсулу розміщують в підкожно-жировій клітчатці.

Недоліком відомого способу є те, що він технічно трудомісткий. Крім того автори використовували для трансплантації культуру клітин, а за даними багатьох авторів існує небезпека онкогенної трансформації при тривалому культивуванні клітин в живильному середовищі *in vitro* [Tolar J., Nauta A.J., Osborn M.J. et al. Sarcoma derived from cultured mesenchymal stem cells //Stem Cells. - 2007. - V.25, №2. - P.371-379.; Miura M, Miura Y., Padilla-Nach H.M. et al. Accumulated chromosomal instability in murine bone marrow mesenchymal stemcells leads to malignant transformation //Stem Cells. - 2006. - V.24, №4. - P.1095-1103.] Також при даному методі введення культури клітин існує висока ймовірність розвитку гнійно-запальних ускладнень.

Найбільш близьким до запропонованого процесу є спосіб лікування цукрового діабету з використанням лікарського препарату імунокорегуючої дії на основі клітинної суспензії [патент UA №27048, 2000р. Лікарський препарат імунокорегуючої дії на основі клітинної суспензії. Спосіб лікування цукрового діабету з використанням цього препарату. Смикодуб О.І., Єфімов АС, Новицька А.В.]. Він включає приготування і введення біологічного матеріалу імунокорегуючої дії, який одержують використовуючи ембріони строком 5-8 нед. гестації, що складається з ядровміщуючих клітин в кількості від 5 до 90·10<sup>6</sup>/мл, кількість колонієутворюючих одиниць грануцитарного ряду становить від 20 до 80·10<sup>3</sup>/мл, кількість колонієутворюючих одиниць бластів - від 0,5 до 9·10<sup>3</sup>/мл, кількість ранніх попередників гемостазу - від 1 до 9·10<sup>6</sup>/мл. Препарат додатково містить диметилсульфоксид в кількості від 3 до 1%. Препарат вводиться в дозі 0,5-5мл. шляхом введення частини нативних гемопоетичних клітин, а в подальшому повторного введення криоконсервованих клітин, що зберігаються в банкі; шляхом введення всього нативного зразка; шляхом введення частини або всього криоконсервованого матеріалу даного зразку. Зазначений препарат вводять до або після терапії цитостатичними препаратами. Ефект лікування оцінюється по рівню зниження глікемії, зменшенню дози інсуліну, що вводиться, виникненню гіпоглікемічних станів, кількості еритроцитів периферичної крові, що вміщують фетальний гемоглобін, наявності клітин, що мають Y-хромосому, зміні показників імунного статусу (вміст в крові Т- і В-лімфоцитів, імуноглобулінів).

Недоліками відомого способу є те, що використовуються клітини дуже ранніх строків гестації. На теперішній час існує велика кількість робіт, в яких представлені результати досліджень по детальному вивченню спонтанного канцерогенезу після використання ембріональних стовбурових клітин ранніх строків гестації і мезенхімальних клітин на експериментальних тваринних моделях, в культурі *in vivo* і у людини. Також, клітинна суспензія виго-

товлена із ембріонів строком 5-8 нед. гестації містить дуже малу кількість ядровміщуючих клітин, що здатні до експансії. Крім того, використання цитостатиків до або після застосування препарату на основі суспензії клітин, на нашу думку, може суттєво негативно вплинути на спектр факторів клітинного мікрооточення реципієнта і змінити вектор транскрипційної регуляції клітин. Неможливим, на нашу думку, також є використання нативних препаратів, оскільки це не може бути сумісним з повним обстеженням препарату на бактеріальну контамінацію та наявність вірусів. Ідентифікація мозаїчних клітинних клонів, що несуть Y-хромосому є необґрунтованою через низький процент вмісту цих клітин серед клітинних популяцій організму реципієнта.

В основу запропонованого способу лікування цукрового діабету I і II типів за допомогою клітинних трансплантатів різного походження поставлена задача розробки удосконаленого методу проведення корекції метаболічних, ендокринних та аутоімунних розладів, з індивідуальним оптимальним підбором клітинних препаратів різного походження: гемопоетичних клітин кордової крові і фетальних стовбурових клітин, та їх кількісного клітинного складу.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі лікування цукрового діабету, який включає приготування і введення біологічного матеріалу імунокорегуючої дії згідно з корисною моделлю додатково проводять індивідуальний підбір клітинних препаратів, що корегують метаболічні, ендокринні та аутоімунні розлади, в залежності від типу цукрового діабету, наявності його ускладнень та типу імунофізіологічних порушень; зазначені клітинні препарати вводять після введення антигістамінного препарату - тавегілу, при ЦД I типу використовуючи кріоконсервовані препарати гемопоетичних стовбурових клітин, виготовлених із печінки ембріонів строком 11 нед. гестації, що складається з колонієутворюючих одиниць ГМ в кількості від 30 до  $80 \cdot 10^6$ /мл, і вводять в дозі 0,5-2 мл.; при ЦД II типу використовують кріоконсервовані препарати виготовлені з кордової крові, що містить колонієутворюючих одиниць ГМ в кількості від 1 до  $15 \cdot 10^6$ /мл.; препарат вводять в дозі 20-40 мл.; ефект лікування оцінюють по зменшенню дози інсуліну, що вводиться, виникненню гіпоглікемічних станів, рівню зниження глікемії, позитивній зміні показників імунного статусу та біохімічних показників: рівень субпопуляцій імунокомпетентних клітин, шляхом визначення експресії диференціальних рецепторів CD3, CD4, CD8, CD11a, CD16, CD19, CD20, CD25, CD34, CD38, CD95, CD162, концентрація імуноглобулінів, рівень експресії HLA-DR<sup>+</sup>, глікозильованого гемоглобіну, вмісту мікроелементів ( $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ , хлориди), ферментів, продуктів перекисного окислення ліпідів

(дієнові кон'югати, оксидієнові кон'югати, триєнові кон'югати, тетрадієнові кон'югати) та природних про антиоксидантів ( $\alpha$ -токоферол,  $\beta$ -каротин), С-пептиду та S-пептиду.

Заявнику невідомі приклади лікування цукрового діабету I і II типів з застосуванням методу вибору прогенераторних гемопоетичних клітин різного походження.

Суть корисної моделі ілюструється прикладом її конкретного виконання.

Спосіб реалізується в кілька етапів, наприклад, спочатку проводили індивідуальний підбір клітинного препарату (походження та клітинність), враховуючи тип діабету та важкість

перебігу захворювання, тип імунофізіологічних порушень. Якщо виявляється цукровий діабет 1 типу пацієнту вводять спочатку антигістамінний препарат - тавегіл, після чого вводять кріоконсервований препарат гемопоетичних стовбурових клітин, виготовлений із печінки ембріонів строком 11 нед. гестації, який складається з колонієутворюючих одиниць ГМ в кількості від 30 до  $80 \cdot 10^6$ /мл в дозі 0,5-2 мл.

Якщо виявляли ЦД II типу пацієнтам після введення тавегілу використовували кріоконсервований препарат виготовлений з кордової крові, що містить колонієутворюючих одиниць ГМ в кількості від 1 до  $15 \cdot 10^6$ /мл. Препарат вводили в дозі 20-40 мл.

Потім проводили на 7 та 30 добу після введення препарату визначення зміни показників імунного статусу та біохімічних показників для визначення ефективності проведеного лікування. Позитивним ефект вважали при зниженні рівня глюкози в сироватці крові, нормалізації рівня субпопуляцій імунокомпетентних клітин, шляхом визначення експресії диференціальних рецепторів CD3, CD4, CD8, CD11a, CD16, CD19, CD20, CD25, CD34, CD38, CD95, CD162, нормалізації концентрації імуноглобулінів, рівня експресії HLA-DR<sup>+</sup>, глікозильованого гемоглобіну, вмісту мікроелементів ( $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ , хлориди), ферментів, продуктів перекисного окислення ліпідів (дієнові кон'югати, оксидієнові кон'югати, триєнові кон'югати, тетрадієнові кон'югати) та природних про антиоксидантів ( $\alpha$ -токоферол,  $\beta$ -каротин), С-пептиду та S-пептиду.

Таким чином, індивідуальний підбір клітинних препаратів в залежності від типу цукрового діабету, наявності ускладнень (ангіопатій та нефропатій) і характеру імунофізіологічних порушень, дає змогу проводити спрямовану корекцію метаболічних ендокринних та аутоімунних порушень, при цьому знизити гіперглікемію, зменшити дозу інсуліну, зменшити прояви аутоімунного компоненту, відновити гемопоез, зменшити такі ускладнення цукрового діабету інфекційні, нейропатії, та серцево-судинних захворювання.