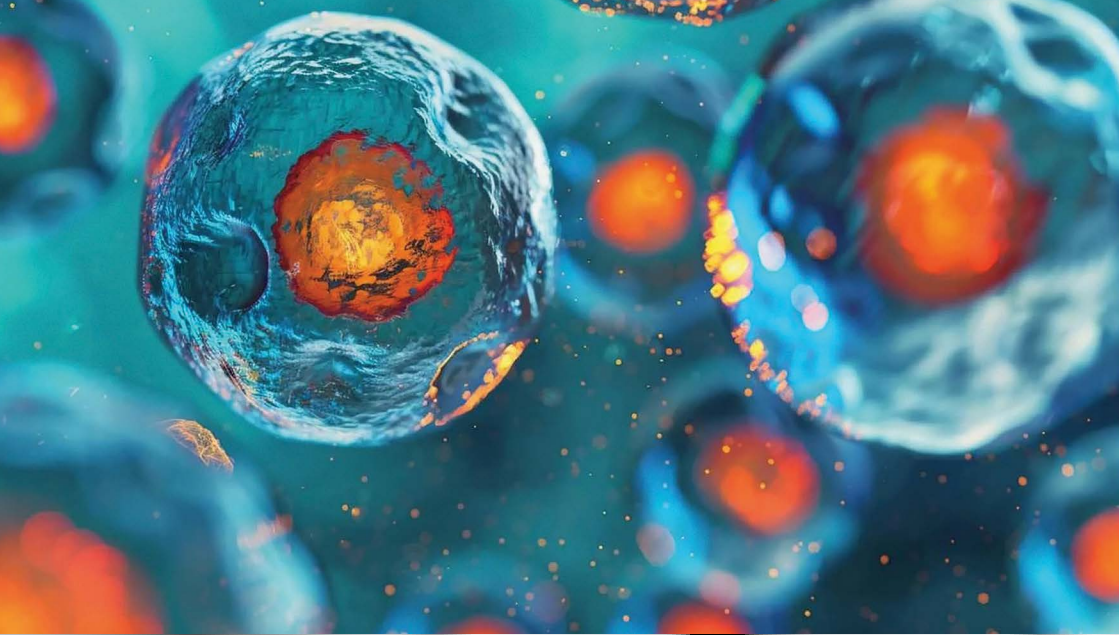




**Використання алогенних мезенхімальних
стовбурових клітин при ЦД 2 типу,
ускладненому діабетичною ангіопатією
нижніх кінцівок з/без наявності
трофічних виразок**

Методичні рекомендації

Київ 2025

Використання алогенних мезенхімальних стовбурових клітин при ЦД 2 типу, ускладненому діабетичною ангіопатією нижніх кінцівок з/без наявності трофічних виразок

Укладачі: д.м.н., проф. Тронько М.Д., д.м.н. Орленко В.Л.,
к.м.н. Добровинська О.В., к.м.н. Тарашенко Ю.М.,
к.м.н. Іваськіва К.Ю., к.м.н. Тронько К.М.

Установа-розробник: ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В.П. Комісаренка НАМНУ»

Рецензенти: Кондратюк В.Є., д.м.н., проф., завідувач
кафедри пропедевтики внутрішньої медицини №2
НМУ ім. О.О. Богомольця
Шатило В.Б., д.м.н., проф., завідувач відділу клінічної
фізіології та патології внутрішніх органів ДУ «Інститут
геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМНУ»

ЗМІСТ

Перелік скорочень.....	3
Вступ.....	5
Розділ 1. Молекулярні механізми ураження судин при цукровому діабеті: роль хронічного запалення та ангіогенної недостатності	7
Розділ 2. Клітинна терапія при синдромі діабетичної стопи: нові горизонти регенеративної медицини.....	8
Розділ 3. Терапевтичний ангіогенез при критичній ішемії кінцівок: роль мезенхімальних стовбурових клітин у відновленні кровотоку та тканин.....	11
Розділ 4. Нові стратегії стимуляції регенерації шкіри. Роль аlogenних похідних мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з кісткового мозку	13
Розділ 5. Клітинні технології у лікуванні діабетичних ускладнень: огляд клінічних досліджень і перспективи.....	20
Розділ 6. Результати випробування «Відкрите порівняльне одноцентрове рандомізоване плацебо-контрольоване проспективне дослідження з оцінки ефективності, переносимості та безпеки препарату суспензії аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин пупкового канатика при ЦД 2 типу, ускладненого діабетичною ангіопатією нижніх кінцівок з/без наявності трофічних виразок»	25
Висновки та рекомендації.....	43
Список літературних джерел.....	44
Додаток	48

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

HbA1c	— глікований гемоглобін
АТ	— артеріальний тиск
АЛТ	— аланінамінотрансфераза
АСТ	— аспартатамінотрансфераза
АЧТЧ	— активований частковий тромбопластиновий час
ВАШ	— візуальна аналогова шкала
ВДС	— виразка діабетичної стопи
ВШ	— відношення шансів
ВР	— відношення ризиків
ГГТ	— гамма-глутамілтрансфераза
ДІ	— довірчий інтервал
ДНК	— дезоксирибонуклеїнова кислота
ЗПА	— захворювання периферичних артерій
ІМТ	— індекс маси тіла
КБІ	— кістково-брахіальний індекс
КІМ	— комплекс інтіма-медіа
КІНК	— критична ішемія нижніх кінцівок
ЛЗ	— лікарський засіб
МНВ	— міжнародне нормалізоване відношення
МРНК	— матрична рибонуклеїнова кислота
РР	— різниця ризиків
СРС	— стандартизована різниця середніх
УЗД	— ультразвукове дослідження
ЦД	— цукровий діабет
ЧД	— частота дихання
ЧСС	— частота серцевих скорочень
ШК	— швидкість кровотоку
ШКТ	— шлунково-кишковий тракт
AD-MSCs	— мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з жирової тканини
allo-hBM-MSCDs	— похідні алогенних мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з кісткового мозку людини

allo-hBM-MSCs	— алогенні мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з кісткового мозку людини
BM-MSCs	— мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з кісткового мозку
CRP	— С-реактивний білок
ELISA	— твердофазний імуноферментний аналіз
hUC-MSCs	— мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з пуповини людини
IFN-γ	— інтерферон альфа
IL	— інтерлейкін
MSC-CM	— кондиціоноване середовище мезенхімальних стовбурових клітин
MSCs	— мезенхімальні стовбурові клітини
n	— кількість пацієнтів у групі
PMSCs	— мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з плаценти
TNF-α	— фактор некрозу пухлин альфа
V	— візит

ВСТУП

Довготривалий цукровий діабет (ЦД) призводить до структурних і функціональних змін як мікро-, так і макросудинної системи. Розробка терапії для усунення цих аномалій є унікальною та складною проблемою. Клітини ендотелію судин є первинними клітинами, пошкодженими несприятливими ефектами, що спричинені гіперглікемією. Мезенхімальні стовбурові клітини (mesenchymal stem cells, MSCs) є перспективним інструментом у відновленні судинного русла у пацієнтів із ЦД завдяки ангіогенному та протизапальному ефекту.

Метою є висвітлення можливостей клітинної терапії судинних ускладнень ЦД на основі MSCs, які вже демонструють клінічну ефективність і активно впроваджуються в терапевтичну практику.

ЦД є тяжким хронічним і невинно прогресуючим метаболічним захворюванням, яке характеризується відносним або абсолютним дефіцитом інсуліну в організмі. Це призводить до підвищеного вироблення кінцевих продуктів глікозилювання, що додатково посилює оксидативний та нітрозативний стрес, знижує якість і тривалість життя й часто викликає множинні макросудинні (серцево-судинні захворювання, порушення мозкового кровообігу та захворювання периферичних судин) і мікросудинні (діабетична нефропатія, діабетична ретинопатія, діабетична нейропатія, діабетична стопа) ускладнення. Саме ускладнення цукрового діабету призводить до летальних наслідків і є дев'ятою основною причиною смерті у всьому світі [1]. Існують також вторинні ускладнення ЦД (кардіоміопатія, еректильна дисфункція або діабетична виразка стопи). За оцінками багатьох досліджень, у 2021 році ЦД мали приблизно 537 млн дорослих у всьому світі у віці від 20 до 79 років (10,5 % усіх дорослих у цьому віковому діапазоні). За прогнозами, до 2030 року 643 млн людей у всьому світі хворітимуть на ЦД, а до 2045 року їхня кількість зросте до 783 млн. Поширеність ЦД у 2021 році була однаковою серед чоловіків та жінок і найвищою була серед людей віком 75-79 років. Більша поширеність спостерігалась у містах (12,1 %), ніж у сільській місцевості (8,3 %), а також у країнах з високим рівнем доходу (11,1 %) порівняно з країнами з низьким рівнем доходу (5,5 %). Очікується, що найбільше відносне зростання поширеності ЦД між 2021 і 2045 роками відбудеться в країнах із середнім рівнем доходу (21,1 %) порівняно з країнами з високим (12,2 %) і низьким доходом (11,9 %). У 2021 році глобальні витрати на охорону здоров'я, пов'язані з ЦД, оцінювали в 966 млрд доларів США, а до 2045 року, за прогнозами, вони досягнуть 1054 млрд. Трохи більше ніж пів мільярда людей у всьому світі живуть із ЦД, що означає, що понад 10,5 % дорослого населення планети зараз має цю патологію [2].

Незважаючи на те, що ЦД 1 типу та ЦД 2 типу мають різні патофізіологічні механізми — імунозапальну деструкцію В-клітин при ЦД 1 типу та інсулінорезистентність одночасно з дисфункцією В-клітин при ЦД 2 типу, — обидва типи викликають гіперглікемію та хронічні мультисистемні ускладнення.

За тривалої гіперглікемії відбувається пошкодження тканин та органів, які знижують якість життя і виживаність пацієнтів [3].

Отже, ЦД є серйозною проблемою для охорони здоров'я, а все вищевикладене підкреслює нагальну потребу покращити його діагностику в людей, багато з яких навіть не знають, що мають цю патологію, і якомога раніше надати належну та своєчасну допомогу всім хворим на цю патологію для запобігання ускладнень.

РОЗДІЛ 1

Молекулярні механізми ураження судин при цукровому діабеті: роль хронічного запалення та ангіогенної недостатності

Судинні ускладнення при ЦД залишаються основною причиною інвалідизації та передчасної смерті. Їхній розвиток значною мірою зумовлений хронічним запаленням, оксидативним стресом та пригніченням ангіогенезу. Хронічне запалення, викликане персистуючою гіперглікемією, сприяє підвищеному вивільненню прозапальних цитокінів, таких як TNF- α , IL-6 та IL-1 β . Ці медіатори викликають пошкодження ендотелію, підвищують проникність судинної стінки та стимулюють накопичення реактивних форм кисню, що посилює оксидативний стрес. У свою чергу, оксидативний стрес сприяє утворенню атеросклеротичних бляшок, порушує еластичність судин і погіршує їхню здатність адаптуватися до змін кровотоку, погіршуючи перебіг мікро- та макроангіопатій.

Ангіогенна недостатність відіграє ключову роль у прогресуванні судинних уражень, особливо в умовах хронічного запалення. Тривалий вплив гіперглікемії пригнічує експресію ангіогенних факторів, зокрема судинного ендотеліального фактора росту, який є критично важливим для стимуляції проліферації ендотеліальних клітин і формування нових судин. Крім того, дисбаланс між проліферацією та апоптозом ендотеліальних клітин, спричинений хронічним запаленням, суттєво знижує регенеративний потенціал судин. Це призводить до погіршення мікроциркуляції, особливо в ішемізованих тканинах, таких як нижні кінцівки, де ангіогенна недостатність посилює ризик виразок і некрозу.

Алогенні MSCs, отримані з таких джерел, як пуповинна кров, жирова тканина чи кістковий мозок, розглядаються як перспективний підхід для подолання цих патологічних механізмів. Ці клітини діють через паракринні механізми, секретуючи протизапальні цитокіни та фактори росту (судинний ендотеліальний фактор росту, фактор росту гепатоцитів), що сприяють модуляції хронічного запалення. Їхня здатність стимулювати ангіогенез і підтримувати регенерацію тканин компенсує недостатність природного відновлення судин, створюючи сприятливе середовище для відновлення кровопостачання та загоєння тканин.

РОЗДІЛ 2

Клітинна терапія при синдромі діабетичної стопи: нові горизонти регенеративної медицини

Здатність шкіри до загоєння у пацієнтів із ЦД помітно знижується, що призводить до високого ризику хронічних ран [3]. Терапія на основі алогенних MSCs має потенціал для покращення регенерації шкіри в основному за рахунок трофічної та паракринної активності. Незважаючи на сучасні методи лікування, незагойні виразки діабетичної стопи (ВДС) часто призводять до ампутації кінцівок та психологічного стресу для пацієнтів [4]. У моделях тварин із ЦД і виразками на лапах (миші, кролики) спостерігається підвищення рівнів запальних цитокінів, таких як CRP, IL-8 і TNF- α , що корелює з поганим і неповним загоєнням ран [5].

Дослідження продемонстрували, що MSCs можуть покращувати загоєння ран, оскільки вони сприяють міграції клітин і неоваскуляризації через паракринну передачу сигналів [6]. Вони також зменшують запалення та рубці [7]. Ці ефекти також мають значення при інших типах хронічних ран, включно з віковими та метаболічними [8].

Діабетична стопа / хвороба діабетичної стопи / синдром діабетичної стопи — одне з ускладнень ЦД, що створює значний психологічний та економічний тиск на пацієнтів, впливаючи на якість життя [9].

Лікування ран діабетичної стопи є складним питанням у клінічній практиці. Через вплив багатьох чинників (пошкодження та недостатність регенерації місцевої тканини, шляхів загоєння ран, кровоносних судин і живлення нервів) традиційними методами лікування часто важко досягти хороших терапевтичних ефектів. Сучасні підходи до лікування діабетичної стопи можуть лише полегшити симптоми або затримати прогресування, але не впливають на ангіогенез або регенерацію тканин. Усе більше досліджень показують, що MSCs як найбільш вивчений і клінічно застосований тип стовбурових клітин можуть сприяти ангіогенезу та повторній епітелізації, брати участь у регуляції імунітету, зменшувати запалення та, нарешті, відновлювати тканини в ділянці ВДС завдяки паракринній функції, що робить їх ефективним засобом лікування. MSCs — це тип клітин із потенціалом різноспрямованої диференціації для полегшення комплексного відновлення ран, тому вони мають багатообіцяючу перспективу застосування у лікуванні ран діабетичної стопи. Оптимізація підбору джерела та шляху введення — ключ до кращого терапевтичного ефекту [10]. Поширеність діабетичної стопи, що часто означає наявність виразки стопи та інфекції, становить у світі 6,3 % (95 % ДІ від 5,4 до 7,3 %) [11].

Усе більше і більше передклінічних і клінічних досліджень свідчать про потенційний метод лікування діабетичної стопи за допомогою мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з пуповини людини (human umbilical cord-derived MSCs, hUC-MSCs), які мають високу ефективність і безпеку та функціонують, головним чином, зменшуючи запалення, регулюючи імунітет, сприяючи росту факторів і посилюючи функції ендотеліальних клітин судин, фібробластів і

кератиноцитів [12]. MSCs, які використовують для лікування діабетичної стопи, діляться на дві категорії: аутологічні та алогенні. Так, у метааналізі з оцінки ефективності введення аутологічних MSCs для лікування діабетичної стопи підтверджено меншу частоту ампутацій (ВШ 0,25; 95 % ДІ від 0,11 до 0,54; $I^2 = 0$) і більшу швидкість загоєння ран (ВШ 2,05; 95 % ДІ від 1,67 до 2,51; $I^2 = 4$) у групі клітинної терапії порівняно з контролем [13]. В іншому метааналізі показано, що терапія MSCs була ефективнішою, ніж класичне лікування, щодо швидкості загоєння виразки або рани [ВШ 8,20 (5,33; 12,62)], зменшення ішемії нижніх кінцівок (нових судин) [ВШ 16,48 (2,88; 94,18)], кістково-брахіального індексу (КБІ) [CPC 0,13 (0,04; 0,08)], черезшкірного тиску кисню [CPC 4,23 (1,82; 6,65)], дистанції безболісної ходьби [CPC 220,79 (82,10; 359,48)] та оцінки болю у спокої [CPC -1,94 (-2,50; -1,39)], вірогідного зменшення частоти ампутацій [ВШ 0,19 (0,10; 0,36)] [14]. Результати ще одного ідентичного метааналізу також продемонстрували, що терапія MSCs ефективніша порівняно зі звичайними методами лікування з точки зору швидкості загоєння виразки або рани [PP 0,36 (0,28; 0,43)], відстані без болю [CPC 1,27 (0,89; 1,65)], КБІ [CPC 0,61 (0,33; 0,88)] та розвитку нових судин [PP 0,48 (0,23; 0,78)] і значущого зменшення частоти ампутацій [PP -0,19 (-0,25; -0,12)]. Статистично значущої різниці між побічними ефектами не спостерігали [PP -0,07 (-0,16; 0,02)] [15]. У наступному метааналізі наголошують, що група MSCs мала вищу швидкість загоєння виразки порівняно з контрольною (ВШ 5,16; 95 % ДІ від 3,60 до 7,40; $P < 0,00001$); групи MSCs і моноклеарних клітин мали вищі показники загоєння виразки (ВШ 3,98; 95 % ДІ від 2,05 до 7,73; $P < 0,0001$; і ВШ 12,85; 95 % ДІ від 4,36 до 37,82; $P < 0,0001$ відповідно). У семи статтях повідомлялося про нижчу частоту ампутацій у групі MSCs, ніж у контрольній (ВШ 0,18; 95 % ДІ від 0,08 до 0,41; $P < 0,0001$). Відстань безболісної ходьби більше збільшилася після лікування в групі MSCs (CPC 1,27; 95 % ДІ від 0,89 до 1,65; $P < 0,00001$). Хоча в 14 статтях повідомлялося про 92 побічні явища, зв'язку між введенням MSCs і побічними явищами не було відзначено [16]. Терапія MSCs з різних джерел, а саме hUC-MSCs, призводила до помітного підвищення КБІ у пацієнтів із ВДС порівняно зі стандартним лікуванням (CPC 0,2; 95 % ДІ від 0,01 до 0,36). hUC-MSCs є оптимальним терапевтичним підходом для підвищення КБІ (SUCRA = 82,7 %). Дослідження відсотка закриття рани показало, що порівняно з плазмою, збагаченою тромбоцитами, комплексне лікування hUC-MSCs і мезенхімальними стовбуровими клітинами, отриманими з плаценти (PMSCs), з кісткового мозку (BM-MSCs) та з жирової тканини (AD-MSCs) збільшило відсоток закриття рани ($P < 0,05$) [17].

Діабетична стопа стала основною причиною нетравматичної ампутації, тому терапія MSCs має великі перспективи для лікування діабетичної стопи з ішемічним захворюванням артерій кінцівок. До пілотного дослідження з оцінки безпеки та ефективності PMSCs при лікуванні хворих на ЦД з критичною ішемією нижніх кінцівок (KINK) було залучено чотири відповідні пацієнти. На основі стандартного лікування пацієнтам вводили внутрішньом'язово PMSCs 3 рази з інтервалом

у 4 тижні. У результаті лікування жодних серйозних побічних ефектів під час ін'єкцій PMSCs та 24-тижневого періоду спостереження не спостерігали. Клінічні ішемічні ознаки у пацієнтів покращилися через 24 тижні після лікування. Показники болю в стані спокою та похолодання кінцівок значно зменшилися, а відстань безболісної ходьби значно збільшилася порівняно з початковим рівнем до 24 тижнів після терапії. Було відзначено позитивну динаміку КБІ. Результати магнітно-резонансної ангіографії показали збільшення утворення колатеральних судин в одного пацієнта, але в інших пацієнтів значущих змін не спостерігали. Дані дослідження показали, що багаторазові внутрішньом'язові ін'єкції PMSCs можуть бути безпечною та ефективною альтернативною терапією для хворих на ЦД з КІНК [18].

Ішемія та ВДС залишаються серйозними ускладненнями ЦД, незважаючи на покращення розуміння патофізіології, клітинних і молекулярних реакцій. Цій песимістичній ситуації сприяє відсутність ефективних методів лікування, що повільно загоюють глибокі хронічні рани та поліпшують мікросудинну обструкцію. MSCs були протестовані як багатообіцяюча клітинна терапія ЦД *in vitro* та *in vivo*, що здатна прискорити закриття ран із посиленням епітелізації, утворенням грануляційної тканини та ангіогенезом через диференціювання в клітини шкіри та паракринні шляхи відновлення пошкоджених клітин. Секретами MSCs, включаючи цитокіни, фактори росту, хемокіни та позаклітинні везикули, що містять мРНК, білки, мають імуномодуючу та регенеративну дію. Підкреслюють також терапевтичний потенціал позаклітинних везикул, отриманих з MSCs, для лікування ішемії та виразок нижніх кінцівок, спричинених ЦД. Ідентифікація базових механізмів регуляції позаклітинних везикул, отриманих з MSCs, при загоєнні ран за ЦД може дати новий напрямок для MSC-центрованого лікування діабетичної ішемії нижніх кінцівок і виразок, враховуючи імуномодуючі та ангіогенні ефекти клітин на ВДС [19].

РОЗДІЛ 3

Терапевтичний ангиогенез при критичній ішемії кінцівок: роль мезенхімальних стовбурових клітин у відновленні кровотоку та тканин

КІНК, термінальна стадія захворювання периферичних артерій, характеризується надзвичайно високим ризиком ампутації та судинних проблем, що призводить до серйозної захворюваності й смертності. У пацієнтів із тяжкою ішемією кінцівок без альтернативних варіантів терапії терапевтичний ангиогенез із застосуванням клітинної терапії є життєво важливим для збільшення кровотоку в ішемізованих ділянках. MSCs вважають одними з найобнадійливіших клітин для використання як регенеративної альтернативи хірургічному лікуванню КІНК, включаючи відновлення функції ішемізованої тканини за допомогою імунomodulaції та ангиогенезу. Регенеративні методи лікування ішемії кінцівок на основі терапії MSCs дотепер вважають експериментальними, тому, незважаючи на останні досягнення в передклінічних і клінічних дослідженнях, їх не рекомендують для регулярного клінічного використання [20]. Терапевтичний ангиогенез з використанням клітинних методів лікування, зокрема MSCs, є важливим для посилення кровотоку до ішемізованих ділянок у пацієнтів, які страждають на КІНК. При оцінці доцільності використання PMSCs у дев'яти пацієнтів із КІНК, які були включені в кожну з двох груп дозування 20×10^6 клітин і 60×10^6 клітин, які вводили внутрішньом'язово двічі з двомісячним інтервалом, виявили зниження рівня запальних цитокінів (IL-1 та IFN- γ) у сироватці, покращення КБІ, максимальної дистанції ходьби, судинної колатералізації, полегшення болю під час спокою, загоєння виразки та уникнення великої ампутації цільової ноги. Пацієнтам із КІНК виконували малі ампутації. Всі дози PMSCs, включаючи найвищу протестовану 60×10^6 клітин, пацієнти добре переносили. Профіль лімфоцитів крові у пацієнтів із КІНК істотно не відрізнявся, що свідчить про те, що ін'єкція алогенних стовбурових клітин не викликала проліферації Т-клітин *in vivo*. Ангіографія не змогла істотно продемонструвати утворення нових дрібних судин. Результати цього клінічного дослідження показують, що внутрішньом'язове введення PMSCs безпечне, добре переноситься пацієнтами і може значно покращувати фізичну працездатність та мінімізувати запальні стани у пацієнтів із КІНК [21].

КІНК характеризується ішемічним болем у спокої та незагойними виразками. Стандартною терапією КІНК є хірургічна реконструкція та ендovasкулярна терапія або ампутація кінцівки пацієнтів, які не мають можливості лікування. Неovasкулогенез, індукований терапією MSCs, є багатообіцяючим підходом до покращення КІНК. Завдяки ангиогенному та імунomodulatory потенціалу MSCs є ідеальними кандидатами для лікування КІНК. Для визначення та порівняння *in vitro* та *in vivo* ефектів алогенних BM-MSCs і AD-MSCs при лікуванні КІНК було проведено клітинні й функціональні тести. Вони показали, що протягом 28 днів після трансплантації BM-MSCs мали великий вплив на міграцію ендотеліальних клітин, реструктуризацію м'язів, функціональні покращення та неovasкуляризацію в ішемізованих тканинах

порівняно з AD-MSCs та контролюми. Отже, введення алогенних BM-MSCs призводить до ефективнішого відновлення КІНК, ніж трансплантація AD-MSCs. Насправді трансплантацію BM-MSCs можна розглядати як перспективну терапію захворювань із недостатнім ангіогенезом, включаючи КІНК [22].

Захворювання периферичних артерій (ЗПА) — це атеросклеротичне оклюзійне захворювання артерій нижніх кінцівок, яке вражає сотні мільйонів людей у всьому світі. Його найважчим проявом є хронічна ішемія, що загрожує кінцівкам, яка асоціюється з сильним болем у кінцівках у спокої, прогресує до некрозу, ампутації кінцівок та/або смерті пацієнта. Догляд за цими пацієнтами вважають фінансовим тягарем як для пацієнтів, так і для систем охорони здоров'я. Тому потрібні міждисциплінарні зусилля для вирішення проблеми цієї рефрактерної хвороби та пошуку остаточних рішень, які призведуть до покращення умов життя пацієнтів. Терапія MSCs стає ключовим підходом для уникнення ампутацій. Приблизно одна третина цих пацієнтів не є кандидатами на традиційне лікування, однак це призводить до вищих показників ампутацій (наближається до 20-25 % через рік) із високою захворюваністю та нижчою якістю життя. Досягнення регенеративної медицини дозволили розробити клітинну терапію, яка сприяє утворенню нових кровоносних судин. Зокрема, MSCs стали привабливим терапевтичним засобом при різних захворюваннях, включаючи КІНК, завдяки ролі в регенерації тканин та імуномодуляції [23]. Отже, клітинна терапія стає привабливою альтернативою для лікування пацієнтів з безальтернативною КІНК. Основними перевагами клітинної терапії є індукція терапевтичного ангіогенезу та неоваскуляризації, які призводять до збільшення кровотоку в ішемізованій кінцівці та регенерації тканин при незагойних трофічних ураженнях шкіри. Для прискорення загоєння ран у пацієнтів із ЦД представлено нову концепцію клітинної терапії як допоміжну [24].

РОЗДІЛ 4

Нові стратегії стимуляції регенерації шкіри. Роль алогенних похідних мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з кісткового мозку

Нові стратегії стимуляції регенерації шкіри можуть забезпечити новий терапевтичний підхід до зменшення незагойної виразкової хвороби. Нещодавно підтверджено концепцію, що введення похідних алогенних мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з кісткового мозку людини (allo-hBM-MSCDs), має порівнянну ефективність із застосуванням мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з кісткового мозку людини (allo-hBM-MSCs) при ВДС 2-го ступеня. Для оцінки профілю безпеки та ефективності allo-hBM-MSCDs порівняно зі звичайним підходом (пов'язка PolyMen®) пацієнтам із ВДС 1-го та 2-го ступеня ввели внутрішньошкірно 2 дози allo-hBM-MSCDs (1 мл) або 1 дозу allo-hBM-MSCs (1×10^6 клітин) навколо ран і оцінювали безпеку та ефективність відносно класичного лікування. Allo-hBM-MSCDs та allo-hBM-MSCs були виготовлені в сертифікованій лабораторії. Пацієнти з ВДС 1-го та 2-го ступеня були рандомізовані для отримання allo-hBM-MSCDs ($n = 12$), allo-hBM-MSCs ($n = 6$) або класичного лікування ($n = 10$). Процес загоєння рани до повного закриття виразок оцінювали макроскопічно. За результатами досліджень, повідомлень про побічні ефекти не надходило. Пацієнти з ВДС 1-го та 2-го ступеня, які отримували allo-hBM-MSCDs або allo-hBM-MSCs, досягли більшого відсотка закриття рани, посилення регенерації шкіри за коротші терміни та більшого виживання без виразки порівняно з пацієнтами, які отримували звичайне лікування. Нарешті, за допомогою протеомного аналізу з'ясували білки та фактори росту, які секретуються allo-hBM-MSCs і мають відношення до процесу загоєння ран. У цьому дослідженні кумулятивні результати свідчать про те, що 2 дози allo-hBM-MSCDs у поєднанні з рановою пов'язкою є безпечним та ефективним засобом для лікування ВДС 1-го та 2-го ступеня [25].

Хронічні рани нижніх кінцівок зазвичай виникають у пацієнтів із ЦД і ЗПА. Терапія аутологічними MSCs стала багатообіцяючим альтернативним методом лікування для тих, хто страждає від хронічних ран нижніх кінцівок. При оцінці впливу аутологічних MSCs на такі рани було проаналізовано підгрупи відповідно до етіології, терміну спостереження та клітинних маркерів. У результаті виконаного дослідження виявлено, що пацієнти, які отримували аутологічні MSCs, мали значно вищі показники повного загоєння (BP 1,67; 95 % ДІ від 1,28 до 2,19) порівняно з пацієнтами, які не отримували цих клітин. У підгрупі CD34+ аутологічні MSCs суттєво підвищили рівень повного загоєння (BP 2,70; 95 % ДІ від 1,50 до 4,86), але істотної різниці в підгрупі CD34- не було. Внутрішньом'язова ін'єкція аутологічних MSCs значно покращувала загоєння ран у пацієнтів із хронічними ранами нижніх кінцівок, спричинених або ЦД, або критичною ішемією нижніх кінцівок. Нарешті, CD34+ є важливим клітинним маркером потенційного загоєння ран. Однак для більш детального вивчення аутологічних MSCs і загоєння хронічних ран необхідні масштабніші та добре сплановані дослідження [26].

Загоєння ран — це складний процес, що включає скоординовану взаємодію між клітинами запалення, фібробластами шкіри, кератиноцитами та ендотеліальними клітинами. Успішне відновлення тканин залежить від контрольованого запалення, ангіогенезу та ремоделювання, що сприяє обміну цитокінів і факторів росту. Супутні захворювання можуть порушити цей процес, що призведе до захворюваності та смертності. Терапія MSCs стала багатообіцяючою стратегією для покращення загоєння ран, використовуючи клітини з різних джерел, таких як кістковий мозок, жирова тканина. AD-MSCs продемонстрували ефективність при різних станах, включаючи ЗПА, діабетичні рани, гіпертонічні та венозні виразки тощо. Інтеграція з місцевими методами лікування ран призвела до зменшення болю, скорочення терміну загоєння та покращення зовнішнього вигляду. Введення MSCs є потенційним терапевтичним напрямком, оскільки введені клітини не тільки диференціюються в різні типи клітин шкіри, але й вивільняють важливі цитокіни та фактори росту, сприяючи посиленню ангіогенезу. Потенційне зниження витрат на охорону здоров'я та покращення якості життя пацієнтів ще більше підкреслюють привабливість застосування MSCs при лікуванні ран [27, 28].

Уповільнене загоєння діабетичних ран не тільки уражає пацієнтів, але й призводить до ампутацій та навіть смерті у тяжких випадках, що створює багато негативних наслідків для суспільства та країни. MSCs привертають велику увагу застосуванням при загоєнні хронічних ран через чудову здатність до секреції цитокінів і регуляцію запалення. Клітини можна використовувати окремо або з носієм / матрицею та застосовувати для покращення загоєння в ділянці рани. Також автори дослідили етіологію повільного загоєння ран та механізм, за допомогою якого MSCs сприяють загоєнню, і вказали на проблеми та стратегії вдосконалення клітинної терапії, що застосовуються при загоєнні ран [28].

У пацієнтів, які страждають на ЦД, процес загоєння ран порушується через різні фактори, такі як ендотеліальна дисфункція та синтез кінцевих продуктів глікації, тому звичайні терапевтичні втручання можуть бути неефективними. Зі збільшенням застосування MSCs в останні роки їхній потенціал як методу покращення процесу загоєння ран привертає значну увагу. У цій галузі MSCs чинять сприятливу дію через імунomodуляцію, підтримку регенерації тканин, сприяння ангіогенезу тощо [29].

Хронічні рани не загоюються через три нормальні стадії загоєння (запальну, проліферативну та ремоделювання), що призводить до хронічного пошкодження тканини, яке не відновлюється протягом середнього терміну. Пацієнти, які страждають на ЦД 1 типу і ЦД 2 типу, схильні до розвитку ВДС, які зазвичай переростають у хронічні рани, що не піддаються лікуванню звичайними методами. ВДС розвивається внаслідок різних факторів ризику, таких як периферична нейропатія, захворювання периферичних судин, артеріальна недостатність, деформація стопи, травма та порушення стійкості до інфекції. ВДС поступово стають основною проблемою в системі охорони здоров'я в усьому світі. Виходячи з опублікованих результатів, введення BM-MSCs може сприяти загоєнню ран через секрецію фактора росту, протизапальну дію, диференціацію в тканиноспецифічні клітини, неоваскуляризацію, повторну епітелізацію та ангіогенез

при ВДС. Крім того, клінічні випробування показали, що лікування BM-MSCs у пацієнтів з діабетичними виразками покращило загоєння виразки та КБІ, зменшило показники болю та збільшило дистанцію ходьби з кульгавістю без жодних повідомлень про ускладнення. Підсумовуючи, можна сказати, що, хоча введення BM-MSCs має багатообіцяючий терапевтичний потенціал при лікуванні ВДС, варто виконати додаткові дослідження для підтвердження ефективності та довгострокової безпеки у пацієнтів із ВДС [30].

Наслідки ВДС охоплюють інфекції, погіршення функції кінцівок, госпіталізацію, ампутацію, а у тяжких випадках – смерть. Імунні клітини, включаючи макрофаги, регуляторні Т-клітини, фібробласти та інші клітини, що відновлюють пошкодження, працюють узгоджено для ефективного загоєння та створення здорового шкірного бар'єру після травми. Порушення імунної регуляції під час загоєння ран може призвести до хронізації рани. Гіперглікемічні стани у хворих на ЦД впливають на патофізіологію ран, порушуючи роботу імунної системи, а також сприяючи невротатії та ішемічним станам, ускладнюючи загоєння. Мікрооточення хронічної рани характеризується підвищеною експресією матриксних металопротеїназ, активних форм кисню, а також прозапальних цитокінів, що призводить до стійкого запалення та уповільненого загоєння. Нові способи лікування значно підвищили ефективність лікування, демонструючи гідну оцінку ефективності у клінічній практиці. Досягнення місцевих методів лікування, а також інвазивних методологій, як-от пов'язки на рани, застосування MSCs та імуномодуюча терапія, успішно впливають на складну патофізіологію хронічних ран [31]. Інфіковані ВДС викликають велике занепокоєння, оскільки вони, як правило, погано заживають і є передвісником ампутації стопи, пов'язаної з ЦД, та навіть смерті. Науковці випробували різні методи, намагаючись визначити найкраще лікування ВДС, однак результати залишаються непереконливими. Деякі дослідження на людях підтвердили, що терапія MSCs є перспективним методом лікування діабетичних ран і виразок [32].

Наразі звичайна обробка ран зі зміною пов'язки, гіпербаричним киснем і дренажем з вакуумним ущільненням є основними консервативними методами лікування в клінічній практиці, а великі рани часто вимагають додаткових підходів. Однак ефект лікування не є ідеальним, крім того, існує багато ускладнень. Через складний патогенез, тривале лікування, значні супутні труднощі та високу інвалідність, ВДС є важким тягарем для пацієнтів, суспільства та системи охорони здоров'я. Як відомо, фармакологічні ефекти hUC-MSCs включають неспецифічну імунну регуляцію, підвищену секрецію факторів росту, вазоактивні й протизапальні фактори; усунення запалення, та сприяння ангіогенезу та загоєнню виразок. Ці ефекти свідчать про те, що MSCs можуть бути корисними як аутологічний або алогенний засіб лікування рефрактерних ран [33].

Мезенхімальні стромальні / стовбурові клітини відіграють вирішальну роль у загоєнні ран. Corlicyte® – це продукт MSCs, отриманий з алогенної тканини пуповини, переданої відповідно до протоколу, схваленого експертною радою організації, й обробленого відповідно до розділу 501(a)(2)(B) Федерального закону про харчові

продукти, ліки та косметику США. У межах дослідницької програми Управління з контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів США виконано відкрите випробування для встановлення безпеки та переносимості Corlicyte® пацієнтами з ЦД і хронічною ВДС. Зростаючі дози Corlicyte® застосовували місцево двічі на тиждень протягом 8 тижнів після обробки виразки, фотографуючи та вимірюючи рани. За пацієнтами спостерігали протягом 4 тижнів після лікування. Побічні ефекти оцінювали під час кожного візиту. В результаті дослідження завершили дев'ять пацієнтів у 2 когортах дозування. Жоден пацієнт не зазнав серйозної побічної реакції від Corlicyte® або розвитку HLA-антитіл. У 60 % пацієнтів у групі з нижчою дозою спостерігали закриття виразки до 70-го дня спостереження, в інших пацієнтів середній розмір виразки зменшився на 54-67 %. Отже, місцеве застосування Corlicyte®, нової біологічної терапії, що складається з алогенних hUC-MSCs, виявилось безпечним і добре переносимим пацієнтами та призвело до значного зменшення площі виразки, демонструючи свій потенціал як терапії для лікування хронічної ВДС [34].

Порушення загоєння ран і особливо «занадто поширена» поява асоційованих ВДС стають усе актуальнішою проблемою охорони здоров'я, що різко впливає на якість життя та ще більше підвищує ризик інфікування та ампутацій у пацієнтів із ЦД. Серед багатофакторних детермінант загоєння ран глікемічна дисрегуляція визначена як основний випадковий фактор поганого загоєння ран. На жаль, сучасні терапевтичні методи слугують лише для помірного симптоматичного полегшення, але часто не в змозі повністю відновити місце рани до передтравматичного стану та запобігти подальшому рецидиву. Терапевтичні засоби на основі MSCs використовують через багатообіцяючий потенціал для вирішення стрижня проблеми, оскільки вони не лише підтримують регенерацію тканин, але також беруть участь в опосередкуванні факторів росту та цитокінів [35].

ВДС підвищують ризик інфікування та ампутацій кінцівок у хворих на ЦД. Порушення функції та активні форми кисню, індуковані високим вмістом глюкози, ймовірно, посилюють ВДС. У 60 пацієнтів із ЦД оцінювали терапевтичні ефекти екзосом, що виділяють з AD-MSCs. Вплив екзосом і надмірну експресію Nrf2 в AD-MSCs досліджували *in vitro* та *in vivo* на моделі щурів із ЦД. Виявлено, що AD-MSCs, які секретують екзосоми, сприяють проліферації та ангіогенезу у середовищі з високим вмістом глюкози, а надмірна експресія Nrf2 посилює цей захисний ефект. Рани на лапах щурів із ЦД мали значно зменшену виразкову площу при обробці екзосомами AD-MSCs, що надмірно експресують Nrf2. Підвищене утворення грануляційної тканини, ангіогенез і рівні експресії факторів росту, а також знижені рівні білків, пов'язаних із запаленням та окислювальним стресом, були виявлені в ранових ложах. Ці дані свідчать про те, що екзосоми AD-MSCs можуть потенційно сприяти загоєнню ран, особливо при надмірній експресії Nrf2, і тому введення екзосом може бути придатним для клінічного застосування при лікуванні ВДС [36]. Оцінивши використання та прогрес AD-MSCs у передклінічних стратегіях підвищення ефективності клінічного лікування ВДС, підкреслено потенціал AD-MSCs як багатообіцяючого терапевтичного підходу для покращення загоєння ран [37].

Діабетичні рани, як правило, важко загоюються, а рани на стопі, зокрема, часто посилюються інфекцією, травмою, діабетичною нейропатією, захворюванням периферичних судин та іншими чинниками, що призводить до серйозних виразок стопи. Патогенез і клінічні прояви діабетичних ран є складними, дотепер відсутня об'єктивна та поглиблена лабораторна діагностика й стандарти класифікації. Екзосоми – це нанорозмірні везикули, що містять ДНК, мРНК, мікроРНК, циклічну РНК, метаболіти, ліпіди, білки цитоплазми тощо, які беруть участь у міжклітинному спілкуванні та відіграють вирішальну роль у регенерації судин, відновленні тканин і регуляції запалення в процесі загоєння діабетичних ран. Екзосоми різного клітинного походження, такі як фібробласти, пов'язані з діабетичними ранами, MSCs, імунні клітини, тромбоцити, амніотичні епітеліальні клітини людини, епідермальні стовбурові клітини та різні молекулярні компоненти виявляють численні терапевтичні ефекти під час загоєння ран при ЦД, включаючи сприяння проліферації та міграції клітин, пов'язаних із загоєнням ран, регулювання поляризації макрофагів для пригнічення запальних реакцій, відновленню нервів і судин та прискоренню васкуляризації ран. Крім того, екзосоми можуть бути розроблені для доставки різних терапевтичних навантажень і мати здатність доставляти їх до бажаної цілі. Таким чином, екзосоми можуть стати інноваційною мішенню для прецизійної терапії діабетичних ран [38].

Описані різні терапевтичні процедури для лікування ВДС. Клітинна терапія MSCs усе частіше впроваджується в звичайну медичну допомогу для лікування ран шкіри. Застосування цих клітин для регенерації тканин спочатку базувалося на їхній здатності диференціюватися у спеціалізовані клітини в пошкодженій тканині. Механізми паракринної дії та диференціювання сприяли покращенню відновлення тканин за допомогою MSCs. Однак роль диференціювання MSCs менша через низьку виживаність цих клітин у місці пошкодження. У той же час паракринна передача сигналів або секретом є основним механізмом MSCs, що стимулюють неоваскуляризацію, повторну епітелізацію та мобілізацію резидентних стовбурових клітин [39].

MSCs, ідеальне джерело клітин для регенеративної терапії без етичних проблем, відіграють важливу роль при ВДС. Зростає кількість доказів того, що введення MSCs може прискорити закриття рани, покращити клінічні параметри та уникнути ампутації [40].

Захворюваність і смертність від ВДС різко зростає в усьому світі, що посилює необхідність в ефективніших заходах для лікування такого стану. Використовуючи модель миші з ЦД, було продемонстровано, що введення похідних BM-MSCs ефективніше, ніж використання самих BM-MSCs, що також було підтверджено у трьох пацієнтів із ВДС 2-го ступеня оцінкою корисних ефектів порівняно з традиційним підходом. Дві дози клітинних похідних, одну дозу MSCs або одну дозу носія (сольовий розчин з 5 % альбуміну людини) вводили внутрішньошкірно навколо ран. Процес загоєння ран і зміни при повторній епітелізації оцінювали макроскопічно до повного закриття виразок. Усі виразки одночасно лікували звичайним способом (пов'язка PolyMen®). Пацієнти, які отримували або клітинні похідні, або MSCs, досягли вищого

відсотка закриття рани за короткий період порівняно з пацієнтом, який отримував традиційне лікування. Підходи з використанням клітинних похідних і MSCs призвели до повного закриття ран та посилення регенерації шкіри між 35-м і 42-м днем, хоча відмінностей між цими двома методами лікування не спостерігали. Крім того, рани, які лікували звичайним методом, заживали через 161 день. Внутрішньошкірне введення клітинних похідних покращувало загоєння ран такою ж мірою, як і MSCs. Отже, результати свідчать про те, що похідні MSCs можуть слугувати новим і потенційним терапевтичним підходом до лікування ВДС. На моделі миші з ЦД було продемонстровано, що введення похідних MSCs є ефективнішим, ніж BM-MSCs [41].

З метою вивчення впливу кондиціонованого середовища BM-MSCs при лікуванні ВДС застосовували моделі щурів з ЦД 2 типу, індукованим дієтою з високим вмістом жиру та внутрішньоочеревиною ін'єкцією стептозотоцину. Моделі ВДС були створені шляхом операцій на задніх кінцівках у щурів із ЦД. Щурів розділили на чотири групи (n = 6 для кожної групи): нормальна контрольна група, контрольна група з ЦД, група з кондиціонованим середовищем мезенхімальних стовбурових клітин (MSC-CM) та група MSCs. Групу MSC-CM лікували ін'єкцією кондиціонованого середовища, отриманого з прекодиціонованих MSCs кісткового мозку щурів, навколо виразок. Групу MSCs лікували ін'єкцією MSCs кісткового мозку щурів. Дві інші групи лікували ін'єкцією фосфатно-сольового буферного розчину. Після лікування оцінювали закриття рани, реепітелізацію (товщину гранулярного шару шкіри за допомогою фарбування гемоглобіном та еозинофілом), проліферацію клітин (Ki67 за допомогою імуногістохімічного аналізу), ангиогенез (CD31 за допомогою імунофлуоресцентного фарбування), аутофагію (LC3B за допомогою імунофлуоресцентного фарбування та Western Blot; аутолізосоми за допомогою електронної мікроскопії) та піроптоз (IL-18, NLRP3, каспаза-1, GSDMD та GSDMD-N за допомогою Western Blot) у виразках. Після лікування площа (розміри) рани, IL-18 за даними ELISA та IL-18, Caspase-1, GSDMD і GSDMD-N за Western Blot у групі MSC-CM були меншими, ніж у групі з ЦД. Товщина зернистого шару шкіри, індекс проліферації Ki67, середня оптична щільність CD31 і LC3B та IFC і LC3B за Western Blot у групі MSC-CM були більшими, ніж у групі з ЦД. Аналіз продемонстрував, що ін'єкція MSC-CM щурам із ВДС покращила процес загоєння ран завдяки прискоренню закриття ран, сприяння клітинній проліферації та ангиогенезу, посилення клітинної аутофагії та зменшення клітинного піроптозу у виразках. Виконані дослідження показують, що введення MSC-CM може бути новим безклітинним терапевтичним підходом до лікування ВДС, прискорюючи процес загоєння ран та уникаючи ризику терапії живими клітинами [42].

Глобальний тягар діабетичних ран, зокрема ВДС, продовжує мати великий економічний та соціальний вплив у всьому світі. Сучасних стратегій недостатньо для подолання цього тягаря хвороби. Пошук новіших, досконаліших стратегій регенерації клітин і тканин для зниження захворюваності залишається першочерговим. Досягнення в маніпуляції з MSCs демонструють найкращі доступні терапевтичні ресурси для покращення механізмів загоєння ран, таких як ангиогенез, проліферація клітин і синтез колагену [43].

ВДС стали глобальною клінічною медичною проблемою, оскільки традиційні методи лікування недостатньо ефективні, щоб зменшити частоту ампутацій. Тому глибоке вивчення патогенезу та біологічних особливостей діабетичної стопи, пошук нових стратегій лікування та популяризація їхнього застосування має велике суспільне значення. Терапія на основі MSCs має величезні перспективи в галузі регенеративної медицини, механізми якої включають сприяння ангіогенезу, полегшення нейроішемії та запалення, а також сприяння відкладенню колагену. Вивчення специфічних молекулярних механізмів лікування діабетичної стопи стовбуровими клітинами відіграє важливу роль і має практичне клінічне значення для максимізації властивостей відновлення клітин. Крім того, ефективні методи застосування також мають вирішальне значення для покращення виживання та життєздатності MSCs у місці рани [44].

Судинні фактори ризику ВДС, включаючи судинний стеноз або оклюзію, дисліпідемію, порушення нейросенсорної та моторної функцій і шкірну інфекцію, спричинену травмою, підвищують ризик у пацієнтів із ЦД. Тому діабетична стопа не є єдиним патогенезом. Для моделювання клінічних ознак детально висвітлено методи підготовки та критерії оцінки моделей на тваринах з ВДС і три основні патологічні механізми: нейропатія, ангіопатія та інфекція ВДС, а також переваги та недоліки різних моделей на тваринах із ВДС. Однак через складність патологічного механізму ВДС клінічна трансформація моделі все ще стикається з багатьма проблемами [45].

Наразі ВДС є епідемією, що є величезним тягарем як для пацієнтів, так і для суспільства. Із застосуванням сучасних методів лікування ВДС часто погано заживають і рецидивують, тому терміново та важливо знайти нові та передові (прогресивні) способи лікування. Терапія MSCs була доведена великою кількістю передклінічних і клінічних досліджень як потенційний засіб лікування хронічних ран [46].

ВДС часто створює значне фінансове навантаження на пацієнтів і знижує якість їхнього життя. До цього часу не було лікувальної терапії ВДС, лише обмежене полегшення симптомів. Незодавні дослідження зосередили увагу на MSCs, які є інноваційними та потенційними кандидатами для лікування кількох захворювань, оскільки вони можуть диференціюватися в різні типи клітин. В основному вони виділяються з плаценти, жирової тканини, пуповини і кісткового мозку. Незалежно від свого походження, вони демонструють порівнювані характеристики та невеликі відхилення. MSCs з різних джерел мають схожі характеристики та незначні відмінності. З метою дослідження терапевтичних ефектів MSCs, перешкод застосування та стратегій користі для пацієнтів при терапії ВДС в результаті кропіткої роботи було продемонстровано, що MSCs можуть індукувати повторну епітелізацію та ангіогенез, зменшувати запалення, сприяти імунологічній модуляції та загоєнню ВДС, що робить їх перспективним підходом до лікування ВДС. Застосування MSCs при лікуванні ВДС підкреслює їхній потенціал як можливої терапевтичної стратегії. Встановлення всебічного розуміння складного взаємозв'язку між патофізіологією ВДС, терапією MSCs і пов'язаними перешкодами має важливе значення для оптимізації результатів терапії та максимізації переваг для пацієнтів [47].

РОЗДІЛ 5

Клітинні технології у лікуванні діабетичних ускладнень: огляд клінічних досліджень і перспективи

ЦД та його ускладнення посідають 9-е місце серед причин смерті в усьому світі [1, 2]. ЦД може впливати на системи органів і призводити до серйозних ускладнень, в основному класифікованих як макросудинні, мікросудинні ускладнення та діабетичні рани. ВДС є хронічним ускладненням ЦД з поширеністю до 25 %, що не піддається лікуванню, при цьому понад 17 % уражених пацієнтів мають ризик ампутації або навіть смерті. Ускладнення є причиною 85 % нетравматичних ампутацій нижніх кінцівок у хворих на ЦД і викликає серйозне занепокоєння через його зв'язок з високим рівнем інвалідності та смертності. Це не тільки серйозно впливає на якість життя пацієнтів, але й накладає значне навантаження на систему охорони здоров'я. В останні роки з'явилося кілька систем доставки ліків на основі MSCs, що показали підвищення ефективності терапії MSCs, особливо при лікуванні ВДС [48]. Отже, різке зростання захворюваності і смертності від ВДС в усьому світі посилює необхідність пошуку ефективніших заходів для лікування цього стану.

Понад половина хворих на ЦД, у яких виникла одна виразка, згодом розвинеться ще одна виразка, більшість з яких стане хронічною незагоюною виразкою. Одна третина пацієнтів із ВДС прогресує до ампутації нижніх кінцівок. За останнє десятиліття результати для пацієнтів із ВДС не покращилися, незважаючи на прогрес у лікуванні ран. Успішному лікуванню ВДС заважає відсутність таргетної терапії, яка б впливала на процеси загоєння, які не регулюються ЦД. Ствобурові клітини є багатообіцяючим засобом лікування ВДС, оскільки вони здатні націлюватися, а також обходити основні аномальні механізми загоєння та порушену передачу сигналів клітин у діабетичних ранах і сприяти загоєнню [49].

Судинним ускладненням ЦД є виразки стопи, які суттєво знижують якість життя хворих. Через неефективність звичайних методів при лікуванні ВДС констатовано зростання ампутацій кінцівок, захворюваності та смертності, що свідчить про необхідність пошуку додаткових методів лікування. Нині проводять випробування багатьох підходів для лікування цього серйозного ускладнення діабетичної стопи, але, на жаль, з незначним рівнем успіху. На даний момент запропоновані різні терапевтичні методи лікування ВДС, і одним із них є терапія на основі MSCs, терапевтичний ефект якої полягає в стимулюванні ангіогенезу, секреції паракринних факторів, стимуляції диференціації судин, пригніченні запалення, покращенні відкладення колагену та імунomodulації. Терапія на основі MSCs показала великі перспективи для лікування ВДС. Ця стратегія виявилася безпечною та ефективною як у передклінічних, так і в клінічних дослідженнях. ЦД призводить до руйнування ствобурових клітин у хворих пацієнтів, що робить використання аутологічних MSCs не таким ідеальним і вимагає пошуку відповідного донора. Проте спірним є те, який тип і походження ВДС, а також який шлях введення буде найоптимальнішим для терапії. Коротко кажучи, терапія на основі ствобурових клітин є багатообіцяючою

в галузі регенеративної медицини, але потрібні додаткові дослідження, щоб визначити ідеальний тип необхідних для терапії клітин, їхню безпеку, правильне дозування та оптимальний шлях введення [48].

На основі лікування MSCs пацієнтів із ВДС або ЗПА показані переваги при застосуванні клітин, які можуть значно покращити загоєння ран. Однак довгострокова безпека та переваги клітинної терапії невідомі. Для оцінки безпеки та ефективності hUC-MSCs до пілотного дослідження було залучено 14 пацієнтів із ЗПА та незагойною ВДС. Усі пацієнти отримували місцево та внутрішньовенно hUC-MSCs у дозуванні 2×10^5 клітин/кг з верхньою межею 1×10^7 клітин для кожної дози. Побічні явища під час лікування та подальшого спостереження були задокументовані для оцінки безпеки. Терапевтичну ефективність оцінювали за станом загоєння виразки, частотою рецидивів і відсутністю ампутацій протягом 3 років на етапі спостереження. В результаті лікування профілі безпеки були сприятливими. Лише 2 випадки транзиторної лихоманки спостерігали протягом 3 днів після лікування, що, ймовірно, було пов'язано з внутрішньовенним введенням hUC-MSCs. У всіх пацієнтів через 1,5 місяця після лікування було досягнуто розкриття виразки більш ніж на 95 % площі ураження. Симптоми хронічної ішемії нижніх кінцівок зменшились разом зі зниженням балів за шкалою Вагнера, ступенів за класифікацією Резерфорда та балів за візуальною аналоговою шкалою (ВАШ). Тривалість повторної госпіталізації з приводу ВДС становила $2,0 \pm 0,6$ року. Усі пацієнти вижили без ампутації через рецидив ВДС протягом 3 років після лікування. Отже, на основі пілотного дослідження було продемонстровано клінічні переваги hUC-MSCs при загоєнні ВДС, включаючи хорошу переносимість, скорочення термінів загоєння до 1,5 місяця і сприятливу 3-річну виживаність без ампутацій [50].

Серед усіх стовбурових клітин AD-MSCs мають велике значення через їхню велику кількість, неінвазивну ізоляцію та відсутність етичних обмежень. Характеристиками, які роблять AD-MSCs хорошими кандидатами для клітинної терапії, є їхні широкі імуномодулюючі властивості та паракринна активність через секрецію низки факторів росту, хемокинів, цитокінів, ангіогенних факторів та антиапоптичних молекул. Крім того, після введення AD-MSCs демонструють виражену здатність до розширення *ex vivo* та диференціювання до інших типів клітин, включаючи клітини, що продукують інсулін, кардіоміоцити, хондроцити, гепатоцитоподібні клітини, нейрони, ендотеліальні клітини, фоторецепторні клітини або астроцити. Передклінічні дослідження показали, що терапія на основі AD-MSCs ефективно покращує гостроту зору, зменшує поліневропатію та виразку стопи, зупиняє розвиток і прогресування діабетичної хвороби нирок або полегшує спричинену ЦД гіпертрофію кардіоміоцитів. Однак, незважаючи на позитивні результати, отримані на тваринних моделях, все ще є кілька проблем, які необхідно подолати, перш ніж результати передклінічних досліджень можна буде перевести на клінічне застосування. Дослідження на тваринних моделях продемонстрували, що використання AD-MSCs покращує загоєння діабетичних ран, прискорює утворення грануляційної тканини, посилює реепітелізацію та неоваскуляризацію. У клінічному

дослідженні брали участь пацієнти ($n = 25$) із ВДС, у яких застосовували алогенні AD-MSCs безпосередньо на ранове ложе як первинну пов'язку, в групі ($n = 16$) такого лікування виявлено повне закриття ран. Три інші клінічні дослідження показали, що аутологічні AD-MSCs можуть бути безпечною альтернативою для досягнення терапевтичного ангіогенезу у пацієнтів із ЦД і ЗПА. На підставі наявних доказів AD-MSCs вважають перспективними для лікування ВДС. Однак ці докази потребують підтвердження в добре спланованих дослідженнях [51]. Для вивчення наявності доказів застосування AD-MSCs у пацієнтів із ВДС і визначення додаткової користі щодо швидкості та терміну загоєння здійснено систематичний пошук у базах даних відповідних досліджень. Чотири випробування відповідали критеріям дослідження та були включені для остаточного аналізу. 97 із 189 пацієнтів для лікування ВДС отримували AD-MSCs, тоді як решта 92 пацієнти – стандартні заходи (контроль). Середній вік учасників становив 62 роки, переважали чоловіки (72,5 %). Повне загоєння досягнуто у 83,5 % ($n = 81$) пацієнтів у групі AD-MSCs порівняно з 52 % ($n = 48$) пацієнтів контрольної групи через 12 місяців (ВШ 4,8; 95% ДІ від 2,25 до 10,24; $P < 0,0001$). Середній термін загоєння в групі AD-MSCs коливався від 31 до 85 днів, тоді як в контрольній групі був у межах 42-85 днів (середня різниця -10,832856; 95 % ДІ від -22,44 до 0,77; $P = 0,0673$). Значущих ускладнень, пов'язаних із процедурою, не було зареєстровано в жодній групі. Застосування AD-MSCs у пацієнтів із ВДС демонструє кращі показники загоєння. Крім того, процедура збору та введення AD-MSCs безпечна [52]. При вивченні безпеки та ефективності алогенних AD-MSCs при лікуванні ВДС у людей у поєднанні з аналізом рани до дослідження були залучені рівні за кількістю групи з 23 учасників, які отримували фібриновий гель з AD-MSCs або окремо тільки фібриновий гель. Клінічні ефекти оцінювали на 7, 14, 21 і 49-й день. Матеріал, зібраний під час санації в кожній групі, аналізували на наявність донорської ДНК AD-MSCs і протеомних змін. Зменшення розміру рани було більшим під час усіх наступних візитів, значуще на 21-й і 49-й день, а термін зменшення розміру рани до 50 % був значно коротшим у пацієнтів, які отримували AD-MSCs. Повне загоєння було досягнуто наприкінці дослідження у семи пацієнтів, які отримували AD-MSCs проти одного, який не отримував AD-MSCs. Через тиждень після застосування AD-MSCs білки значно диференціювали матеріал з обох груп, сім з яких, тобто GAPDH, CAT, ACTN1, KRT1, KRT9, SCL4A1 і TPI, позитивно корелювали зі швидкістю загоєння. Було виявлено донорську ДНК AD-MSCs через 21 день після введення і підтверджено покращення загоєння ран, пов'язане з AD-MSCs, яке корелювало з молекулярним фоном. Це дає змогу зрозуміти роль цих клітин при загоєнні ран – крок до розробки клітинної терапії [53].

Щоб оцінити потенціал hUC-MSCs, використовували модель щура з ВДС для моделювання патофізіології клінічних пацієнтів і для дослідження локалізації після внутрішньовенної трансплантації клітин та їхньої ролі при загоєнні ВДС. Модель щура з ЦД була створена за допомогою ін'єкції стрептозотоцину, який використовували для створення повної товщини ран на шкірі з дорсального боку стопи для імітації ВДС за допомогою пуансона діаметром 6 мм для біопсії шкіри

та ножиць Весткота. hUC-MSCs трансплантували через стегову вену і оцінювали ситуацію рубцювання виразки та долю клітин. Отримані дані свідчать про те, що внутрішньовенно трансплантовані hUC-MSCs мають здатність мігрувати та локалізуватися в тканині рани і сприяють загоєнню ран у щурів із ВДС, частково через регулювання запалення, транс-диференціацію та забезпечення факторів росту, які викликають ангіогенез, проліферацію клітин і щільність колагену. Трансплантація hUC-MSCs здатна пришвидшити загоєння ВДС у щурів, а трансплантація екзогенних стовбурових клітин може бути потенційною стратегією для клінічного застосування при лікуванні [54].

Введення MSCs є ефективним варіантом лікування ВДС. Однак на сьогоднішній день відсутні дослідження, які б оцінювали віддалені результати та параметри шкіри після клітинної терапії. Наприклад, представлено клінічні результати 3 пацієнтів, яких 3 роки тому лікували з приводу ВДС за допомогою BM-MSCs. За допомогою УЗД оцінювали щільність колагену і товщину епідермісу в ділянках загоєних виразок порівняно з неураженою шкірою, яку використовували як контроль. Для виключення новоутворень, оцінки контрактури рубця та рецидиву рани використовували УЗД та дерматоскопію. У результаті дослідження у всіх пацієнтів не виявлено рецидиву виразки, що було нижчим за очікуваний рівень повторного утворення виразки у пацієнтів із ЦД у 60 % протягом 3-річного періоду (ВШ 0,095; $P = 0,12$). Новоутворень, контрактури гіпертрофічного рубця та прилеглих тканин не зареєстровано. За даними УЗД, щільність колагену знижена на 57 % ($P = 0,053$), а товщина епідермісу збільшена на 72 % ($P = 0,01$) в ділянці загоєних виразок у всіх пацієнтів. Таким чином, MSCs можуть бути важливим допоміжним засобом терапії, однак для досягнення кращих результатів потрібні інші нові підходи [55].

Для дослідження безпеки лікування ВДС за допомогою місцевого введення продукту MSCs було обстежено пацієнтів із ЦД, периферичною нейропатією, артеріальним тиском на пальцях ніг >39 мм рт. ст. та неінфікованими виразками стопи. Алогенний клітинний продукт, що містить збагачені CD362 MSCs, суспендовані в розчині колагену, застосовували місцево. За учасниками спостерігали протягом 7 місяців, щоб зібрати інформацію про несприятливі та серйозні побічні події. Всього було перевірено 16 пацієнтів, з яких включені в дослідження двоє. В обох учасників спостерігали посилення ексудації з ВДС і підозру на зв'язок із досліджуванним лікарським засобом (ЛЗ). Посилена ексудація зникла протягом одного тижня після застосування досліджуваного ЛЗ без подальших ускладнень. Серйозна побічна подія полягала в госпіталізації через неврологічні симптоми, які, як припускали, були спричинені гіпоглікемією, без підозри на кореляцію з досліджуваним ЛЗ. Жодна з інших побічних реакцій не була ймовірно пов'язана з досліджуваним ЛЗ. Імовірно побічна подія, яку спостерігали в обох учасників, що зникла протягом одного тижня, не призводила до подальших ускладнень і могла бути легко усунена шляхом вибору пов'язок з більшою абсорбційною здатністю або збільшенням частоти зміни пов'язки [56].

Клітинна терапія є дуже перспективним підходом для ефективного лікування ВДС. Однак немає єдиної думки щодо найефективнішого типу клітин. Різні типи

клітин сприяють загоєнню хронічних ран за допомогою різних механізмів. Наприклад, застосування кератиноцитів може стимулювати міграцію нативних кератиноцитів з краю рани, тоді як MSCs можуть коригувати ішемію кінцівки. Місцеве застосування соматичних клітин сприяє лише загоєнню ВДС, тоді як ін'єкція MSCs і мононуклеарів може розірвати патофізіологічний ланцюг, що від недостатнього кровопостачання призводить до розвитку ВДС. Водночас системне використання MSCs несе в собі більші ризики. Безсумнівно, клітинна терапія на основі стовбурових клітин стала багатообіцяючим, потужним інструментом, спрямованим на лікування симптомів ЦД та його хронічних ускладнень [57].

Незважаючи на вдосконалене лікування за допомогою перев'язки та обробки ран, запобігання інфекції шляхом підтримання виразки в чистоті, розвантаження виразки, використання інгібіторів матричних металопротеїназ у перев'язках, медикаментів (антибіотиків), замінників шкіри, факторів росту, генної терапії, місцевої кисневої терапії, незагойні ВДС є клінічною проблемою. Утворення грануляційної тканини та ангіогенез сприяють переходу рани у фазу загоєння. Однак хронічне запалення та знижений ангіогенез у гіперглікемічному середовищі погіршують нормальний каскад загоєння та призводять до хронічно незагойних ВДС. Стимулювання ангіогенезу пов'язане з покращенням загоєння ран, а використання факторів росту ендотелію судин доведено корисним для сприяння неоангіогенезу. Проте незагойні ВДС зберігають підвищений ризик ампутації. Більшість із цих методів лікування спрямовані на лікування ВДС та профілактику інфікування діабетичних ран. Проте не існує єдиної терапії, яку можна було б порадити пацієнтам із ВДС.

Останніми роками все більше набуває популярності регенеративна терапія при загоєнні ран — це напрям медицини, який використовує клітинні, тканинні та молекулярні технології для відновлення пошкоджених тканин і стимуляції їх власної здатності до регенерації. Активно застосовуються стовбурові клітини для сприяння ангіогенезу. Різні дослідження показали багатообіцяючі результати регенеративної медицини, але пов'язані з цим обмеження потребують поглибленого дослідження [4].

Таким чином, мікросудинні та запальні порушення в тканинах хворих на ЦД є особливою перешкодою для адекватного лікування пізніх ускладнень захворювання. Стовбурові клітини являють собою багатообіцяючий підхід до лікування ускладнень у хворих на ЦД завдяки вивільненню розчинних факторів росту та цитокінів, які стимулюють утворення нових судин і модулюють запалення. Крім того, підходи на основі аутологічних клітин є ідеальними для мінімізації імунного відторгнення, але можуть бути обмежені зниженням клітинної функції, пов'язаної з ЦД. Оскільки наше розуміння біології та гетерогенності MSCs зростає, покращений відбір клітин має призвести до помітних переваг. Незважаючи на численні перешкоди для клінічного впровадження, MSCs показали достатні перспективи, щоб зайняти місце в галузі регенеративної медицини. Терапія MSCs має значні ефекти для здоров'я людини, але потрібні додаткові клінічні дослідження, щоб спиратися на нещодавні успіхи фундаментальних і трансляційних досліджень у надії революціонізувати лікування ускладнень ЦД в XXI столітті.

РОЗДІЛ 6

Результати випробування «Відкрите порівняльне одноцентрове рандомізоване плацебо-контрольоване проспективне дослідження з оцінки ефективності, переносимості та безпеки препарату суспензії алогенних мезенхімальних стовбурових клітин пупкового канатика при ЦД 2 типу, ускладненого діабетичною ангіопатією нижніх кінцівок з/без наявності трофічних виразок»

Відкрите порівняльне одноцентрове рандомізоване плацебо-контрольоване проспективне дослідження з оцінки ефективності, переносимості та безпеки препарату суспензії алогенних MSCs пупкового канатика при ЦД 2 типу, ускладненого діабетичною ангіопатією нижніх кінцівок з/без наявності трофічних виразок було проведено з березня 2023 року по грудень 2024 року. В обстеження було включено 40 осіб (20 пацієнтів увійшли до основної групи і 20 до контрольної групи).

Метою клінічного випробування було отримання власного досвіду використання інфузії суспензії алогенних MSCs пупкового канатика в лікуванні хворих на ЦД 2 типу, ускладнений діабетичною ангіопатією нижніх кінцівок з/без наявності трофічних виразок, з визначенням безпеки та ефективності такої терапії.

Завдання випробування:

1. Оцінити ефективність лікування хворих на ЦД 2 типу, ускладнений діабетичною ангіопатією нижніх кінцівок з/без наявності трофічних виразок, за допомогою ЛЗ суспензії алогенних мезенхімальних стовбурових клітин пупкового канатика 50 млн (виробництва біотехнологічної лабораторії Банку пуповинної крові, клітин та інших тканин людини ТОВ «Медичний центр «М.Т.К.») на 100 мл розчину Рінгера-лактатного (виробництва ТОВ «Юрія-Фарм»), внутрішньовенне крапельне введення зі швидкістю 1-2 мл/хв локально в зони гомілок 20 млн клітин 2 рази з інтервалом у 3 місяці, порівняно з препаратом плацебо (розчин Рінгер-лактатний виробництва ТОВ «Юрія-Фарм»).

2. Оцінити безпеку і переносимість ЛЗ суспензії алогенних мезенхімальних стовбурових клітин пупкового канатика 50 млн (виробництва біотехнологічної лабораторії Банку пуповинної крові, клітин та інших тканин людини ТОВ «Медичний центр «М.Т.К.») на 100 мл розчину Рінгера-лактатного (виробництва ТОВ «Юрія-Фарм»), внутрішньовенне крапельне введення зі швидкістю 1-2 мл/хв локально в зони гомілок 20 млн клітин 2 рази з інтервалом у 3 місяці, порівняно з препаратом плацебо (розчин Рінгер-лактатний виробництва ТОВ «Юрія-Фарм») при діабетичній ангіопатії з/без наявності трофічних виразок.

3. Виявити і проаналізувати можливі побічні явища / побічні реакції досліджуваного ЛЗ суспензії алогенних мезенхімальних стовбурових клітин пупкового канатика 50 млн (виробництва біотехнологічної лабораторії Банку пуповинної крові, клітин та інших тканин людини ТОВ «Медичний центр «М.Т.К.») на 100 мл розчину Рінгера-лактатного (виробництва ТОВ «Юрія-Фарм»), внутрішньовенне крапельне введення локально в зони гомілок 20 млн клітин.

Критерії включення суб'єктів у дослідження:

1. Підписана інформована згода пацієнта на участь у дослідженні.
2. Встановлений клінічний діагноз ЦД 2 типу, ускладнений діабетичною ангіопатією нижніх кінцівок з/без трофічних виразок.
3. Чоловіки або жінки віком старше 18 років з індексом маси тіла понад 19 кг/м².
4. Відсутність тяжкої органної дисфункції: фракція викиду >45%; креатинін <176 ммоль/л.
5. Можливість проводити моніторинг під час клінічної апробації.
6. Бажання повноцінно брати участь у програмі.

Критерії невиключення суб'єктів дослідження

1. Нездатність виконати будь-яку з оцінок, необхідних для аналізу кінцевої точки (повідомити про проблеми безпеки чи переносимості, виконати тести функції легень, здати аналізи крові, прочитати анкети та відповісти на запитання в них).
2. ЦД 1 типу.
3. Серйозне супутнє захворювання, яке, на думку дослідника, може поставити під загрозу безпеку або дотримання пацієнтом режиму лікування або завадити успішному завершенню дослідження. Це, серед іншого: ВІЛ, прогресуюча печінкова або ниркова недостатність, серцева застійна недостатність класу III/IV, інфаркт міокарда, нестабільна стенокардія або реваскуляризація серця протягом останніх 6 місяців, тяжкий обструктивний вентиляційний дефект, захворювання крові.
4. Будь-який інший стан, який, на думку дослідника, може поставити під загрозу безпеку або дотримання пацієнтом режиму лікування або завадити успішному завершенню дослідження.
5. Наявність ознак активного онкологічного захворювання протягом останніх 5 років (тобто пацієнти зі злоякісними новоутвореннями в анамнезі повинні бути вільні від захворювання протягом 5 років).
6. Наявність захворювання, яке обмежує тривалість життя до 1 року.
7. Зловживання наркотиками чи алкоголем протягом останніх 24 місяців.
8. Участь у даний час або у попередні 30 днів в експериментальному випробуванні терапевтичного засобу або пристрою.
9. Рішення пацієнта припинити участь у дослідженні та відкликання ним інформованої згоди на участь у дослідженні.

Критерії виключення суб'єктів дослідження

1. Нездатність виконати будь-яку з оцінок, необхідних для аналізу кінцевої точки (повідомити про проблеми безпеки чи переносимості, виконати тести функції легень, здати аналізи крові, прочитати анкети та відповісти на запитання в них).
2. Серйозне супутнє захворювання, яке, на думку дослідника, може поставити під загрозу безпеку або дотримання пацієнтом режиму лікування або завадити успішному завершенню дослідження. Це, серед іншого: ВІЛ, прогресуюча печінкова або ниркова недостатність, серцева застійна недостатність класу III/IV, інфаркт міокарда, нестабільна стенокардія або реваскуляризація серця протягом останніх 6 місяців, тяжкий обструктивний вентиляційний дефект, захворювання крові.

3. Будь-який інший стан, який, на думку дослідника, може поставити під загрозу безпеку або дотримання пацієнтом режиму лікування або завадити успішному завершенню дослідження.

4. Наявність ознак активного онкологічного захворювання протягом останніх 5 років (тобто пацієнти зі злоякісними новоутвореннями в анамнезі повинні бути вільні від захворювання протягом 5 років).

5. Наявність захворювання, яке обмежує тривалість життя до 1 року.

6. Зловживання наркотиками чи алкоголем протягом останніх 24 місяців.

7. Участь у даний час або у попередні 30 днів в експериментальному випробуванні терапевтичного засобу або пристрою.

8. Рішення пацієнта припинити участь у дослідженні та відкликання ним інформованої згоди на участь у дослідженні).

Дизайн дослідження. Дослідження складалось з 6 етапів. Схематичне зображення етапів дослідження наведено на рис. 1.

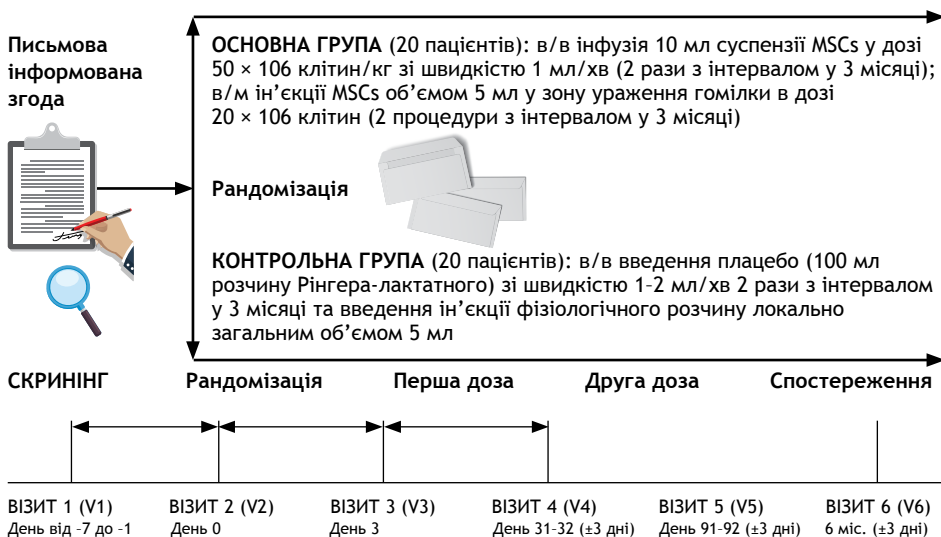


Рис. 1. Графічна схема дизайну і етапів дослідження

Пацієнти основної групи отримували в/в інфузію 10 мл суспензії MSCs у дозі 50×10^6 клітин/кг зі швидкістю 1 мл/хв та в/м ін'єкції MSCs об'ємом 5 мл в зони гомілок у дозі 20×10^6 клітин, а пацієнти контрольної групи — в/в введення плацебо (100 мл розчину Рінгера-лактатного) зі швидкістю 1-2 мл/хв та в/м ін'єкції в зону ураження гомілки 5 мл фізіологічного розчину сумарно під час візиту 3. Також пацієнти основної групи отримували в/в інфузію 10 мл суспензії MSCs у дозі 50×10^6 клітин/кг зі швидкістю 1 мл/хв та в/м ін'єкції MSCs об'ємом 5 мл в зону ураження

гомілки у дозі 20×10^6 клітин, а пацієнти контрольної групи – в/в введення плацебо (100 мл розчину Рінгера-лактатного) зі швидкістю 1-2 мл/хв та в/м ін'єкції в зону ураження гомілки 5 мл фізіологічного розчину сумарно під час візиту 5.

В якості супутньої терапії допускалося використання будь-яких ЛЗ для лікування уражень периферичних артерій нижніх кінцівок і трофічних виразок (за їх наявності) у хворих на ЦД 2 типу, затверджених у протоколах лікування цієї категорії пацієнтів.

Опис виду / дизайну дослідження і схематичне зображення дизайну, процедур та етапів дослідження

Дослідження складалося з наступних етапів:

- скринінг;
- рандомізація;
- I етап терапії;
- II етап терапії через 3 місяці;
- етап спостереження через 1 та 6 місяців після введення досліджуваного препарату.

Загальна тривалість участі в дослідженні для одного пацієнта становить не більше 6 місяців з проведенням 6 візитів:

Візит 1 (V1). Скринінг. День від -7 до -1 (тривалістю не більше 7 днів).

Візит 2 (V2). Рандомізація.

Візит 3 (V3). Введення першої дози препарату / плацебо. День 3.

Візит 4 (V4). Проміжна оцінка ефективності, безпеки та переносимості терапії.

День 31-32 (± 3 дні).

Візит 5 (V5). Проміжна оцінка ефективності, безпеки та переносимості терапії.

День 91-92 (± 3 дні). Введення другої дози препарату / плацебо.

Візит 6 (V6). Заключний візит. 6 місяців (± 3 дні).

Методи обстеження пацієнтів, використані у цьому дослідженні:

- збір скарг пацієнта (V1-V6);
- збір анамнезу захворювання, анамнезу життя (V1);
- реєстрація / призначення / корекція супутньої терапії (V1-V6);
- оцінка демографічних і антропометричних даних (V1);
- об'єктивне обстеження пацієнта (V1-V6);
- оцінка вітальних функцій: ЧСС, ЧД, АТ, ІМТ, температура (V1-V6);
- УЗД судин нижніх кінцівок (V1, V6);
- обстеження на наявність нейропатії (вібраційна, тактильна, больова, температурна чутливості та визначення КБІ за допомогою ультразвукової доплерометрії) (V1, V6);
- оцінка за опитувальниками (ВАНШ для характеристики болю в стані спокою, анкета оцінки якості життя SF-36, опитувальник VascuQoL-6; більш детальна інформація про опитувальники наведена в Додатку) (V1, V5, V6);
- клінічний аналіз крові (V1, V6);
- загальний аналіз сечі (V1);
- біохімічний аналіз крові (V1). Біохімічні показники, що визначаються на

скринінгу з метою оцінки відповідності пацієнта критеріям включення / невключення: глюкоза крові, білок, загальний білірубін, прямий білірубін, непрямий білірубін, АЛТ, АСТ, лужна фосфатаза, ГГТ, сечовина, креатинін, сечова кислота, онкомаркери: альфа-фетопротейн, канцер-ембріональний антиген, простат-специфічний антиген загальний, вільний, онкомаркер раку підшлункової залози, коагулограма: АЧТЧ, протромбіновий час, протромбіновий індекс за методом Квіка, МНВ, тромбіновий час, фібриноген;

- УЗД органів черевної порожнини, щитоподібної залози, передміхурової залози у чоловіків;

- огляд офтальмолога, фундускопія.

Для оцінки ефективності використовувались наступні критерії оцінки стану пацієнта на 1, 3 та 6-му візитах випробування.

Первинні кінцеві точки порівняно з базовим рівнем і порівняно з плацебо:

- Рівень глікованого гемоглобіну.
- Показники глюкози крові натще.
- Дані опитувальників (ВАШ для характеристики болю в стані спокою, анкета оцінки якості життя SF-36, опитувальник VasculQoL-6).

- Дані шкал полінейропатії та КБІ.

- Показники УЗД артерій нижніх кінцівок.

- Оцінка наявності та стану трофічних виразок.

Вторинні кінцеві точки:

- Наявність побічних ефектів (гостра інфузійна реакція, розлади ШКТ, респіраторні ускладнення, сонливість, головний біль, серйозні інфекційні ускладнення тощо).

- Частота виникнення будь-яких серйозних небажаних явищ, що виникли після лікування (смерть, не смертельна легенева емболія, інсульт, госпіталізація з приводу погіршення задишки та клінічно значущі відхилення лабораторних показників).

- Стан судин очного дна за даними фундускопії.

Використовувались наступні показники безпеки та переносимості.

Показники безпеки:

1. Частота і характер побічних явищ / побічних реакцій при застосуванні досліджуваного препарату (окремо серйозних непередбачених побічних явищ / серйозних непередбачених побічних реакцій).

2. Динаміка результатів об'єктивного обстеження (враховуються виявлені в ході дослідження клінічно значущі відхилення).

3. Динаміка результатів лабораторних аналізів крові (враховуються виявлені в ході дослідження клінічно значущі відхилення).

Показники переносимості:

1. Частка пацієнтів, якими прийом досліджуваного препарату був припинений достроково внаслідок розвитку серйозних побічних явищ / серйозних побічних реакцій.

2. Частка пацієнтів, якими прийом досліджуваного препарату був припинений достроково внаслідок виникнення індивідуальної непереносимості або підвищеної індивідуальної чутливості до MSCs.

3. Частка пацієнтів, якими прийом досліджуваного препарату був припинений достроково внаслідок рішення пацієнта припинити участь у дослідженні (відкликання пацієнтом інформованої згоди на участь у дослідженні) з причини розвитку несерйозних побічних явищ / несерйозних побічних реакцій.

Результати оцінки ефективності:

1. Досліджуваний клітинний препарат «Кріоконсервовані алогенні мезенхімальні стовбурові клітини пупкового канатика», що застосовувався на тлі базисної цукрознижувальної терапії, показав високу ефективність при лікуванні хворих на ЦД 2 типу, ускладнений діабетичними ангіопатіями з/без трофічних виразок.

2. При аналізі ефективності за змінною, заснованою на оцінці рівня глюкози крові натще, спостерігається статистично значуще зниження рівня глюкози, що досягнуто в основній групі на візиті 6, в групі контролю ці показники не зазнали значущих змін (рис. 2).

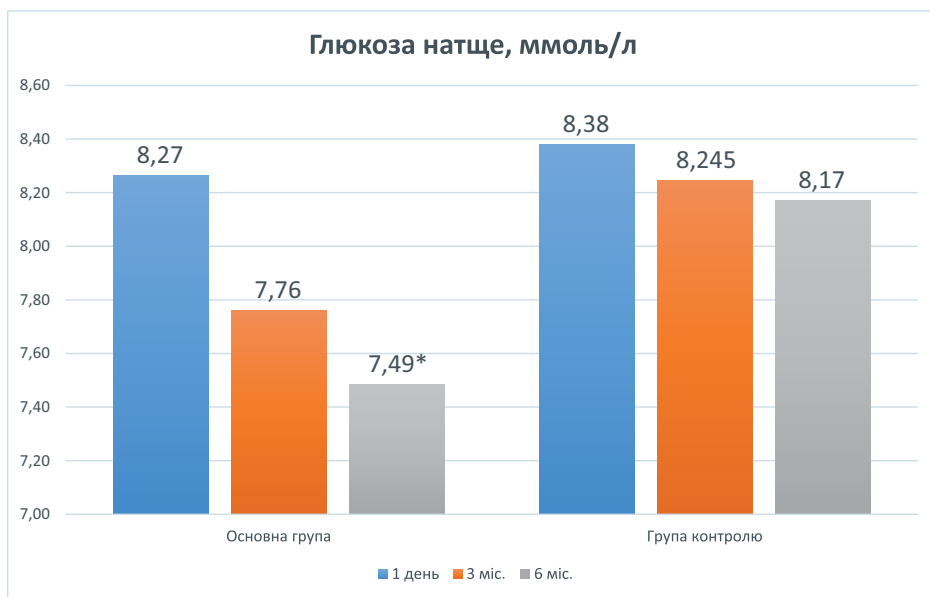


Рис. 2. Графічна інтерпретація оцінки рівня глюкози крові натще в динаміці в обстежених групах

Рівень HbA1c як інтегральний показник сталої та довготривалої компенсації ЦД показував тенденцію до зниження в основній групі хворих, які отримували лікування MSCs, вже на 3-му візиті, і до 6-го візита ми спостерігали помірні зміни з частковою статистично значущою різницею. У контрольній групі вірогідних змін рівня HbA1c не отримано (рис. 3).

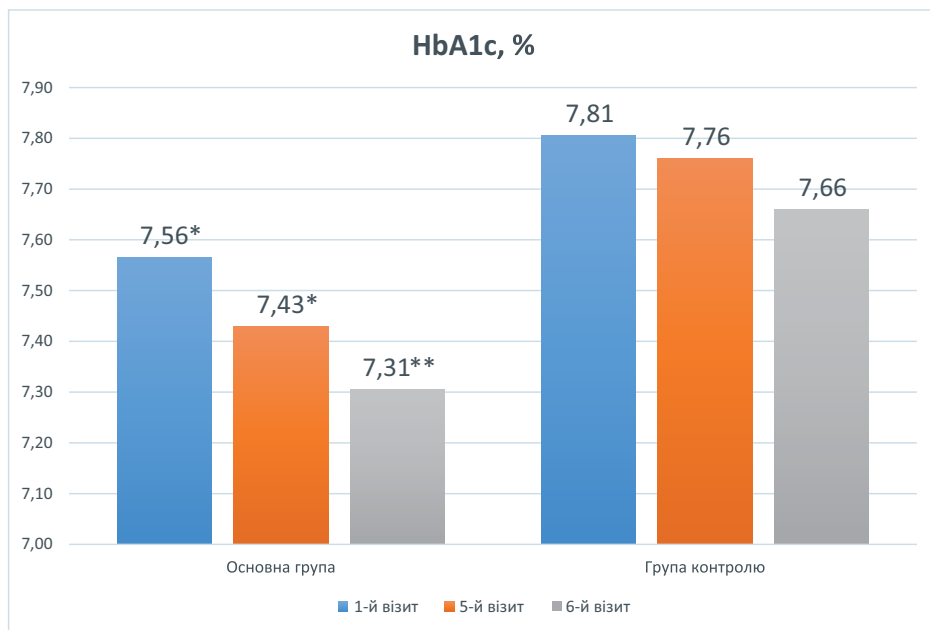


Рис. 3. Графічна інтерпретація оцінки рівня HbA1c в динаміці в обстежених групах

Отже, в основній групі ми бачимо позитивний вплив застосованої терапії MSCs на компенсацію основного захворювання, що є основною запорукою лікування та профілактики ускладнень ЦД, в тому числі ангіопатій.

3. Отримані дані свідчать про високу ефективність терапії MSCs щодо покращення якості життя пацієнтів з ішемією нижніх кінцівок, обумовлену діабетичними ангіопатіями, що була оцінена за допомогою стандартизованих опитувальників VascuQoL-6 та SF-36.

Встановлено, що при майже однакових вихідних рівнях показників опитувальника VascuQoL-6 спостерігається статистично значуще підвищення рівня якості життя в основній групі на візиті 5 та 6, в групі контролю цей показник не зазнав значущих змін на жодному візиті (рис. 4).

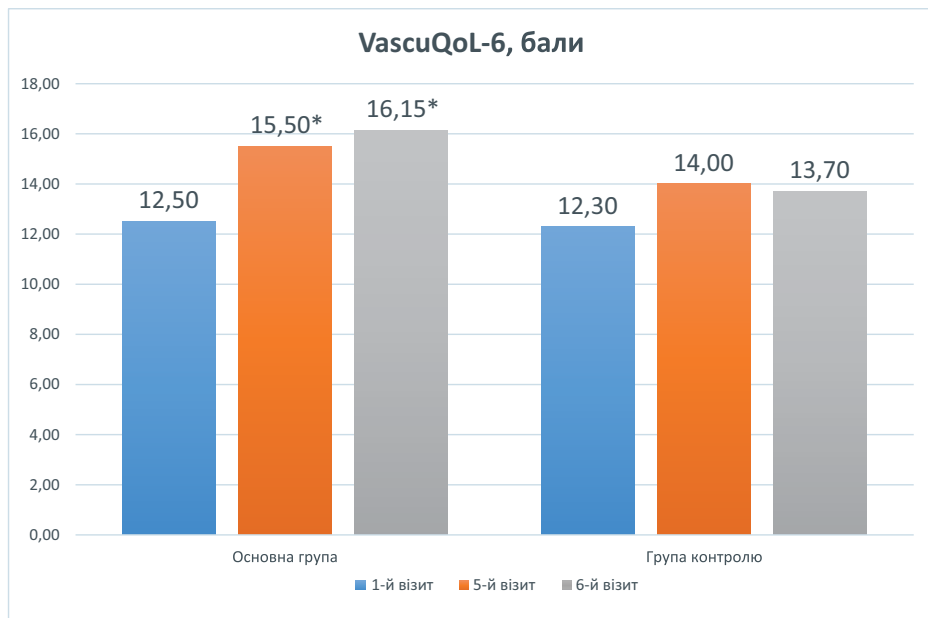
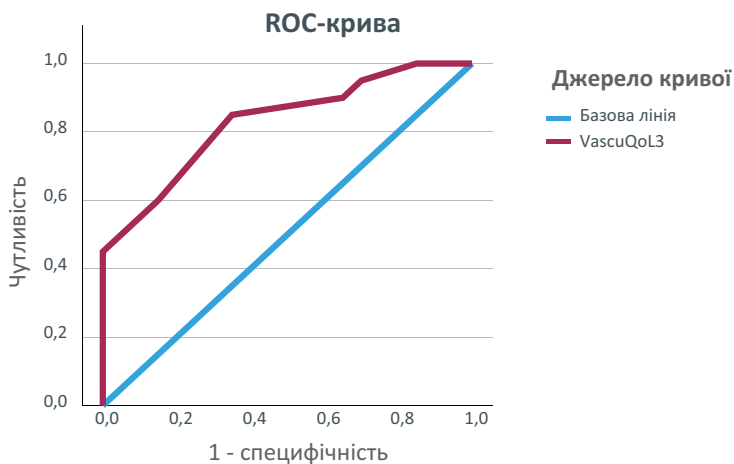


Рис. 4. Графічна інтерпретація оцінки якості життя за допомогою опитувальника VascuQoL-6 в динаміці в обстежених групах

Ефективність лікування та суттєве покращення якості життя пацієнтів з ішемією нижніх кінцівок на тлі діабетичних ангіопатій демонструє ROC-аналіз показників опитувальника VascuQoL-6 в динаміці в основній групі (рис. 5).



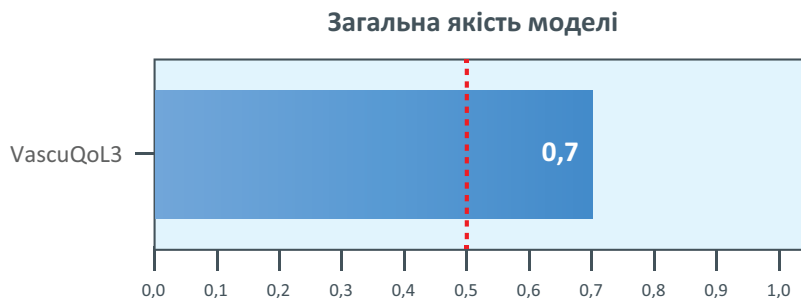


Рис. 5. Дані ROC-аналізу показників опитувальника VascuQoL-6 в динаміці в основній групі

Також проводився аналіз показників якості життя за допомогою опитувальника SF-36. У процесі лікування спостерігалось статистично значуще підвищення рівня якості життя в основній групі на візиті 5 та 6. Для контрольної групи достовірної різниці між візитами не було (рис. 6).

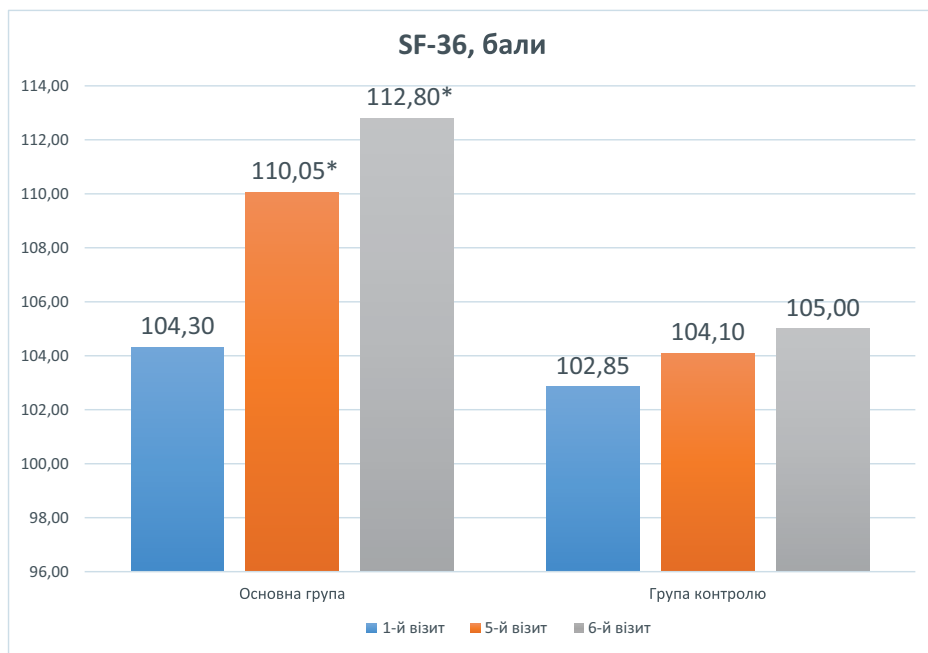


Рис. 6. Графічна інтерпретація оцінки якості життя за допомогою опитувальника SF-36 в динаміці в обстежених групах

Суттєве покращення якості життя за показниками опитувальника SF-36 підтверджують результати ROC-аналізу (рис. 7).

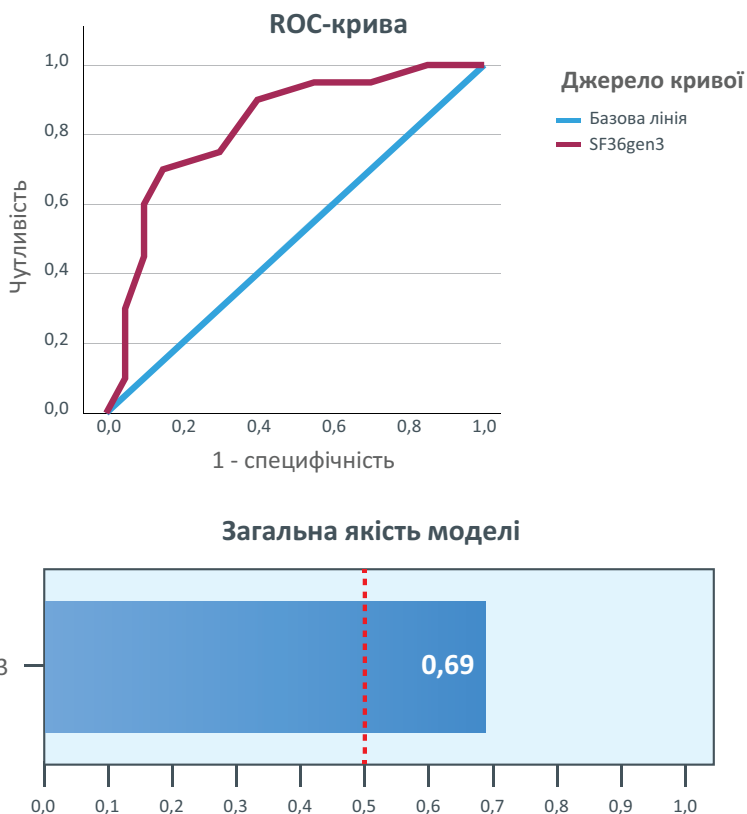


Рис. 7. Дані ROC-аналізу показників опитувальника SF-36 в динаміці лікування MSCs в основній групі

Проведений статистичний аналіз підтверджує високу ефективність MSCs у покращенні якості життя в обстежених пацієнтів.

4. Оскільки перебіг діабетичних ангіопатій, особливо на тлі різного ступеня ішемії, супроводжується больовим синдромом, дуже важливо оцінювати рівень болю в обстежених пацієнтів. Зменшення больового синдрому є важливим показником ефективності терапії, яка застосовується у досліджуваних пацієнтів. Ступінь та динаміку больового синдрому оцінювали за шкалою ВАШ (рис. 8).

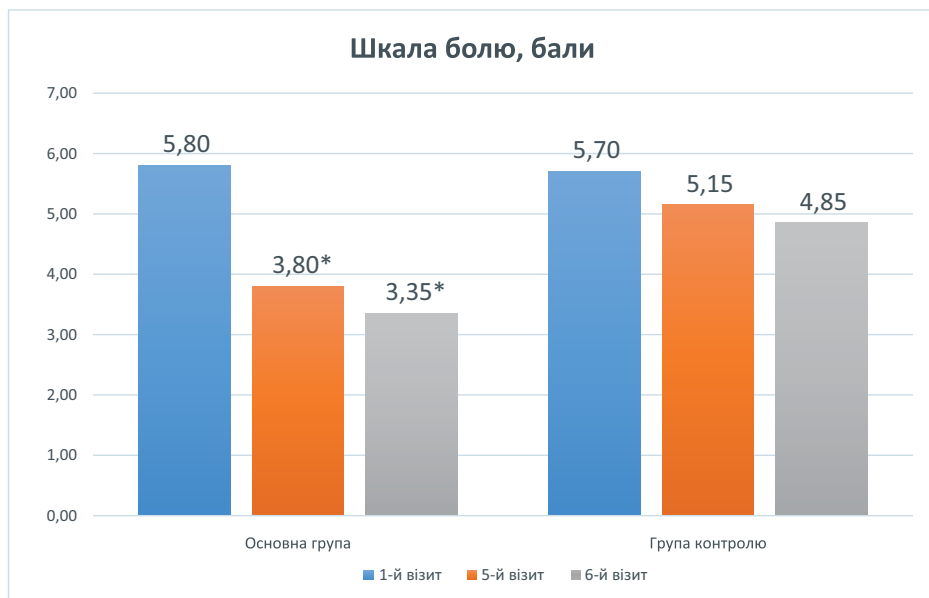


Рис. 8. Графічна інтерпретація оцінки рівня болю в динаміці в обстежених групах

Спостерігається статистично значуще зниження рівня показників, які відображають інтенсивність болю (за даними візуальної шкали болю) у пацієнтів в основній групі на візиті 5 та 6 порівняно з візитом 1. У контрольній групі достовірного ефекту зниження рівня болю не виявлено. При порівнянні шкали болю на останньому візиті у основній групі було вірогідне зниження даного показника порівняно з контрольною групою. Отже, лікування MSCs суттєво сприяло зменшенню синдрому.

Таким чином встановлено, що терапія MSCs покращує якість життя, сприяє зменшенню больового синдрому та покращує функціональний стан судин у хворих на ЦД 2 типу з діабетичними ангіопатіями. При аналізі опитувальників, які відображають якість життя під впливом терапії MSCs, встановлено значне покращення в основній групі порівняно з вихідними даними, а також порівняно з групою контролю. Спостерігається статистично значуще зниження рівня вираженості болю (за даними візуальної шкали болю), а також покращення показників якості життя пацієнтів з проявами ішемії нижніх кінцівок.

5. Оскільки одним із патогенетичних чинників ураження периферичних артерій нижніх кінцівок і трофічних виразок є діабетична периферична полінейропатія, ми проаналізували динаміку різних видів чутливості в досліджуваних групах.

Аналіз отриманих даних встановив вірогідне покращення усіх видів чутливості, а також КБІ у пацієнтів основної групи через 6 місяців після першого введення MSCs (табл. 1), тоді як в групі контролю показники через 6 місяців спостереження майже не відрізнялись від вихідних (табл. 2). Отже, ми бачимо вплив терапії MSCs

як на судинну, так і на нервову тканину. Покращується перебіг діабетичних ангіо- та полінейропатій, таким чином, терапія MSCs чинить позитивний патогенетичний комплексний вплив на перебіг діабетичних ангіопатій нижніх кінцівок.

Таблиця 1. Динаміка показників ультразвукової доплерометрії та неврологічного обстеження у пацієнтів основної групи

Показник		До початку терапії (n = 20)		Через 6 міс. після початку терапії (n = 20)	
		Справа	Зліва	Справа	Зліва
КБІ	До проби	0,8 ± 0,06	0,8 ± 0,06	0,9 ± 0,05*	0,9 ± 0,05*
	Після проби	0,63 ± 0,06	0,7 ± 0,06	0,8 ± 0,06*	0,8 ± 0,06***
Віброметрія, у.о.		2,5 ± 0,04	2,5 ± 0,04	3,8 ± 0,04***	3,7 ± 0,04***
Частота тяжко-го порушення чутливості, %	Тактильна	15 (75%)	14 (70%)	12 (60%)	11 (55%)
	Больова	11 (55%)	11 (55%)	9 (45%)	9 (45%)
	Темпера-турна	11 (55%)	11 (55%)	8 (40%)	9 (45%)

Примітка: * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 — вірогідність відмінностей показників порівняно зі значеннями до початку терапії.

Таблиця 2. Динаміка показників ультразвукової доплерометрії та неврологічного обстеження у пацієнтів контрольної групи

Показник		До початку терапії (n = 20)		Через 6 міс. після початку терапії (n = 20)	
		Справа	Зліва	Справа	Зліва
КБІ	До проби	0,7 ± 0,05	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,06	0,9 ± 0,06
	Після проби	0,75 ± 0,05	0,65 ± 0,06	0,7 ± 0,06*	0,7 ± 0,06
Віброметрія, у.о.		2,7 ± 0,04	3,8 ± 0,04	2,7 ± 0,04	3,1 ± 0,04***
Частота тяжко-го порушення чутливості, %	Тактильна	16 (80%)	15 (75%)	15 (75%)	15 (75%)
	Больова	12 (60%)	12 (50%)	11 (55%)	11 (55%)
	Темпера-турна	11 (55%)	11 (55%)	10 (50%)	10 (50%)

Примітка: * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 — вірогідність відмінностей показників порівняно зі значеннями до початку терапії.

Також ми оцінили судинну складову, а саме основні показники кровотоку за даними УЗД судин нижніх кінцівок.

Пацієнти були розділені залежно від наявності атеросклеротичних бляшок. Таким чином, ми виділили дві групи з помірними та більш суттєвими порушеннями кровотоку. Отримані результати проведених досліджень наведені у табл. 3.

Таблиця 3. Динаміка показників ультразвукового дослідження судин нижніх кінцівок у обстежених пацієнтів

Час	Група	Статистичні показники									
		Назва показника	Кількість	Середнє арифм.	Медіана	Стандартне відхилення, персентилі 25-75	Мін.	Макс.		Значення критерію	p
Візит 1	Основна										
	Відсутність бляшок	ШК	19	100,35 ± 4,27	97,50	18,61 92,60-111,50	70,40	135,10	p1	114,000	0,021
	Наявність бляшок	ШК	21	121,69 ± 7,40	118,60	33,91 92,00-150,50	71,50	172,10			
	Відсутність бляшок	КІМ	19	1,12 ± 0,04	1,20	0,19 0,90-1,30	0,80	1,30	p1	37,500	<0,001
	Наявність бляшок	КІМ	21	2,25 ± 0,16	2,50	0,72 1,55-2,90	1,10	3,20			
	Контрольна										
	Відсутність бляшок	ШК	19	102,605 ± 4,40	99,70	19,1878 95,2-124,9	70,5	135,0	p1	89,000	0,003
	Наявність бляшок	ШК	21	131,605 ± 6,5398	148,500	29,9691 111,65-155,20	71,5	170,6			
	Відсутність бляшок	КІМ	19	1,12 +- 0,07	1,20	0,16 1,00-1,20	0,80	1,40	p1	2,000	<0,001
	Наявність бляшок	КІМ	21	2.57 ± 0.11	2.80	0,52 2,35-3,00	1.30	3.10			

Час	Група	Статистичні показники									
		Назва показника	Кількість	Середнє арифм.	Медіана	Стандартне відхилення, персенітілі 25-75	Мін.	Макс.		Значення критерію	p
Візит 6	Основна										
	Відсутність бляшок	ШК	19	99,78 ± 4,08	96,70	17,80 92,60-110,00	70,40	133,50	p1	116,000	0,024
	Наявність бляшок	ШК	21	120,48 ± 7,12	116,80	32,65 90,65-148,90	69,50	168,50			
	Відсутність бляшок	КІМ	19	1,12 ± 0,04	1,20	0,18 0,90-1,30	0,80	1,30	p1	37,500	<0,001
	Наявність бляшок	КІМ	21	2,24 ± 0,16	2,50	0,71 1,55-2,90	1,10	3,20			
	Контрольна										
	Відсутність бляшок	ШК	19	103,179 ± 4,3807	98,500	19,0950 95,00-124,60	71,5	134,2	p1	88,00	0,003
	Наявність бляшок	ШК	21	131,614 ± 6,4753	148,000	29,6736 112,90-155,25	72,5	171,4			
	Відсутність бляшок	КІМ	19	1,13 ± 0,035	1,20	0,15 1,00-1,20	0,90	1,40	p1	2,000	<0,001
	Наявність бляшок	КІМ	21	2,57 ± 0,11	2,80	0,51 2,40-3,00	1,30	3,10			

Примітка: p1 достовірність за критерієм Манна – Уїтні для незалежних груп (наявність бляшок та їх відсутність для контрольної групи та основної).

KIM — комплекс інтима-медіа; ШК — швидкість кровотоку.

Аналіз отриманих результатів показав, що за наявності бляшок показники ультразвукового дослідження, а саме KIM та ШК, достовірно гірші на початковому і кінцевому етапі лікування, ніж у групі пацієнтів без бляшок.

Якщо порівнювати показники в групі, яка не мала бляшок, між контролем та основною групою і групу з наявністю бляшок (між показниками контрольної та основної групи), то достовірність не спостерігається. ШК не відрізняється при закінченні лікування для контролю та основної групи. Отже, можна зробити висновок, що позитивний вплив терапії MSCs на кровоток є лише в групі пацієнтів, які, за даними УЗД артерій нижніх кінцівок, не мали гемодинамічно значущих атеросклеротичних бляшок, тобто що раніше проводиться терапія MSCs, то прогнозовано кращою буде ефективність лікування.

5. Терапія MSCs має позитивний вплив на загоєння трофічних виразок у хворих на ЦД 2 типу. У пацієнтів з наявністю трофічних виразок після терапії MSCs глибина та площа виразкового ураження зменшилась, скоротилися терміни загоєння виразок.

У пацієнтів з трофічними виразками оцінювали глибину виразкового ураження на початку лікування та через 6 місяців після першого введення MSCs за класифікацією Вагнера. У табл. 4 наведено дані оцінки трофічних виразок на початку спостереження та через 6 місяців.

Таблиця 4. Дані оцінки трофічних виразок за класифікацією Вагнера на початку та через 6 місяців спостереження в основній і контрольній групах

Показник		До початку терапії		Через 6 міс. після початку терапії	
		Основна група (n = 5)	Контрольна група (n = 5)	Основна група (n = 5)	Контрольна група (n = 5)
Глибина виразки за класифікацією Вагнера	0	0	0	1 (20%)	0
	I	2 (40%)	1 (20%)	3 (60%)	1 (20%)
	II	2 (40%)	3 (60%)	1 (20%)	3 (60%)
	III	1 (20%)	1 (20%)	0	1 (20%)

В основній групі лікування відмічено вірогідне зменшення глибини виразкового ураження порівняно з групою контролю. Треба відмітити також, що в основній групі терміни загоєння були коротшими, ніж у контрольній групі. Повне загоєння виразки протягом 6 місяців дослідження відбулося у 1 хворого основної групи.

Ефективність терапії MSCs з трофічними виразками на тлі ЦД представлено нижче (рис. 9, 10).



Візит 1



Візит 6

Рис. 9. Результати лікування MSCs, пацієнт О.П.



Візит 1

Візит 6

Рис. 10. Результати лікування MSCs, пацієнт Д.А.

На наведених рисунках продемонстровано позитивну динаміку загоєння трофічних виразок у пацієнтів. Ми бачимо зменшення розмірів та глибини виразки.

6. Оскільки традиційне лікування діабетичних ангіопатій потребує препаратів, які розширюють судини, то одним із частих ускладнень такої терапії є можливі крововиливи завдяки впливу на мікросудини ока. Тому ми дослідили стан очного дна у пацієнтів до та після лікування MSCs / плацебо. Тож усіх пацієнтів, включених у дослідження, було проконсультовано офтальмологом, виконано огляд очного дна, зроблені фото очного дна за допомогою фундускамери на початку та наприкінці лікування.

Встановлено, що суттєвих змін на очному дні не виявлено в обох досліджуваних групах. Крім того, позитивні зміни на очному дні через 6 місяців після введення першої ін'єкції MSCs (в основній групі) відмічено у одного пацієнта (рис. 11, 12). Решта залишились без змін. У контрольній групі вірогідних змін не зафіксовано. Хочеться відмітити, що негативної динаміки стану очного дна у досліджуваних пацієнтів також не відмічалось. Можливо, для більш показових результатів потрібен більш тривалий термін спостереження.

Нижче наведено приклад стану очного дна з позитивною динамікою через 6 місяців після першої ін'єкції MSCs (пацієнт Д.А.).



Рис. 11. Фото очного дна на початку лікування візиту, пацієнт Д.А. (ДЗН блідо-рожевий, межі чіткі, артерії звужені, вени повнокровні, на очному дні геморагії та тверді ексудати)



Рис. 12. Фото очного дна через 6 місяців спостереження, пацієнт Д.А. (ДЗН блідо-рожевий, межі чіткі, артерії звужені, вени повнокровні, на очному дні геморагії та тверді ексудати; відмічається покращення стану очного дна, зменшення кількості твердих ексудатів)

При аналізі офтальмологічного огляду пацієнтів встановлений нейтральний вплив на стан очного дна в обох групах. Отже, терапія MSCs може бути рекомендована пацієнтам із ЦД 2 типу з діабетичними ангіопатіями на тлі діабетичних ретинопатій, оскільки негативної динаміки стану очного дна у досліджуваних пацієнтів також не відзначалось. Можливо, для більш показових результатів потрібен більш тривалий термін спостереження.

Результати оцінки безпеки:

1. У клінічному випробуванні не було зареєстровано серйозних та несерйозних побічних реакцій / побічних явищ у пацієнтів як основної, так і контрольної групи. На підставі проведеного аналізу безпеки за показником «частота і характер побічних явищ / побічних реакцій при застосуванні досліджуваного препарату» було зроблено висновок щодо безпеки внутрішньовенного крапельного введення 10 мл суспензії алогенних MSCs з пупкового канатика 50 млн (виробництва біотехнологічної лабораторії Банку пуповинної крові, клітин та інших тканин людини ТОВ «Медичний центр «М.Т.К.») на 100 мл розчину Рінгера-лактатного (виробництва ТОВ «Юрія-Фарм») зі швидкістю 1-2 мл/хв та в/м ін'єкцій MSCs об'ємом 5 мл в зони гомілок у дозі 20 млн клітин з інтервалом 3 місяці у пацієнтів з діабетичною ангіопатією з/без трофічних виразок.

2. У клінічних і лабораторних показниках не виявлено клінічно значущих відхилень у ході дослідження, що свідчить про відсутність будь-якого негативного впливу терапії із застосуванням досліджуваного ЛЗ 10 мл суспензії алогенних MSCs з пупкового канатика 50 млн (виробництва біотехнологічної лабораторії Банку пуповинної крові, клітин та інших тканин людини ТОВ «Медичний центр «М.Т.К.») на 100 мл розчину Рінгера-лактатного (виробництва ТОВ «Юрія-Фарм») зі швидкістю 1-2 мл/хв та в/м ін'єкцій MSCs об'ємом 5 мл в зони гомілок у дозі 20 млн клітин з інтервалом 3 місяці у пацієнтів з діабетичною ангіопатією з/без трофічних виразок.

3. Із результатами аналізу переносимості досліджуваного ЛЗ за всіма проаналізованими показниками було встановлено добру переносимість ЛЗ 10 мл суспензії алогенних MSCs пупкового канатика 50 млн (виробництва біотехнологічної

лабораторії Банку пуповинної крові, клітин та інших тканин людини ТОВ «Медичний центр «М.Т.К.») на 100 мл розчину Рінгера-лактатного (виробництва ТОВ «Юрія-Фарм») зі швидкістю 1-2 мл/хв та в/м ін'єкцій MSCs об'ємом 5 мл в зони гомілок у дозі 20 млн клітин з інтервалом 3 місяці у пацієнтів з діабетичною ангіопатією з/без трофічних виразок, оскільки в ході випробовування не було зареєстровано жодного з пацієнтів, якому би було достроково припинено введення препарату через розвиток серйозних побічних явищ / побічних реакцій, виникнення індивідуальної непереносимості або підвищеної чутливості до досліджуваного препарату, розвитку несерйозних побічних явищ / побічних реакцій.

ВИСНОВКИ ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Досліджуваний клітинний препарат «Кріоконсервовані алогенні мезенхімальні стовбурові клітини пупкового канатика», що застосовувався на тлі базисної цукрознижувальної терапії у вигляді 10 мл суспензії алогенних MSCs пупкового канатика 50 млн (виробництва біотехнологічної лабораторії Банку пуповинної крові, клітин та інших тканин людини ТОВ «Медичний центр «М.Т.К.») на 100 мл розчину Рінгера-лактатного (виробництва ТОВ «Юрія-Фарм») зі швидкістю 1-2 мл/хв та в/м ін'єкцій MSCs об'ємом 5 мл в зони гомілок у дозі 20 млн клітин з інтервалом 3 місяці у пацієнтів з діабетичною ангіопатією з/без трофічних виразок, показав високу ефективність при лікуванні хворих на ЦД 2 типу, ускладнений діабетичними ангіопатіями з трофічними виразками або без. Таке лікування сприяє покращенню компенсації основного захворювання, поліпшуючи стан вуглеводного обміну у хворих на ЦД 2 типу з діабетичними ангіопатіями з/без трофічних виразок, покращує якість життя, сприяє зменшенню больового синдрому і покращує функціональний стан судин у хворих на ЦД 2 типу з діабетичними ангіопатіями та призводить до покращення усіх видів чутливості, а також судинного статусу за даними ультразвукової доплерометрії. Отже, терапія MSCs має комплексний патогенетичний вплив як на судинну, так і на нервову тканину, оскільки покращується перебіг діабетичних ангіо- та полінейропатій.

2. Терапія MSCs може бути рекомендована для покращення ефективності та скорочення термінів лікування трофічних виразок у хворих на ЦД 2 типу.

3. У результаті проведеного клінічного дослідження доведено, що ЛЗ суспензія алогенних мезенхімальних стовбурових клітин пупкового канатика 50 млн (виробництва біотехнологічної лабораторії Банку пуповинної крові, клітин та інших тканин людини ТОВ «Медичний центр «М.Т.К.») на 100 мл розчину Рінгера-лактатного, внутрішньовенне крапельне введення зі швидкістю 1-2 мл/хв та локальне введення в зони гомілок 20 мл MSCs двічі з інтервалом у 3 місяці, є ефективним та безпечним при застосуванні у лікуванні пацієнтів із ЦД 2 типу, ускладненим діабетичною ангіопатією з/без трофічних виразок і може бути рекомендованим для лікування даної категорії пацієнтів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. McDermott K, Fang M, Boulton AJM, Selvin E, Hicks CW. Etiology, Epidemiology, and Disparities in the Burden of Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes Care*. 2023 Jan 1;46(1):209-221. doi: 10.2337/dci22-0043. PMID: 36548709; PMCID: PMC9797649.
2. Saverio S, Mohammadnezhad M, Raikanikoda F (2024) Healthcare workers' perspectives on diabetic foot complications among type 2 diabetes mellitus patients in Fiji. *PLoS ONE* 19(9): e0307972.
3. Hu SC, Lan CE. High-glucose environment disturbs the physiologic functions of keratinocytes: Focusing on diabetic wound healing. *J Dermatol Sci*. 2016 Nov;84(2):121-127. doi: 10.1016/j.jdermsci.2016.07.008.
4. Ganesan O, Kiwanuka H, Hamaguchi R, Orgill DP. A review of regenerative medicine and tissue engineering with a focus on wound healing and anti-aging. *Front Surg*. 2025 Jun 5;12:1504563. doi: 10.3389/fsurg.2025.1504563. PMID: 40538820; PMCID: PMC12176865.
5. Tecilazich F, Dinh T, Pradhan-Nabzdyk L, Leal E, Tellechea A, Kafanas A, et al. Role of endothelial progenitor cells and inflammatory cytokines in healing of diabetic foot ulcers. *PLoS One*. 2013 Dec 16;8(12):e83314. doi: 10.1371/journal.pone.0083314.
6. Gerami-Naini B, Smith A, Maione AG, Kashpur O, Carpinito G, Veves A, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from diabetic foot ulcer fibroblasts using a nonintegrative Sendai virus. *Cell Reprogram*. 2016 Aug;18(4):214-23. doi: 10.1089/cell.2015.0087.
7. Khamaisi M, Katagiri S, Keenan H, Park K, Maeda Y, Li Q, et al. PKC δ inhibition normalizes the wound-healing capacity of diabetic human fibroblasts. *J Clin Invest*. 2016 Mar 1;126(3):837-53. doi: 10.1172/JCI82788.
8. Cerqueira MT, Pirraco RP, Marques AP. Stem cells in skin wound healing: Are we there yet? *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2016 Apr 1;5(4):164-75. doi: 10.1089/wound.2014.0607.
9. Morbach S, Lobmann R, Eckhard M, Müller E, Reike H, Risse A, et al. Diabetic foot syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2021 Aug;129(S 01):S82-S90. doi: 10.1055/a-1284-6412.
10. Lin ZH, Wang J, Liang ZH, Pan YC. [Research advances on stem cell therapy for diabetic foot wounds]. *Zhonghua Shao Shang Yu Chuang Mian Xiu Fu Za Zhi*. 2022 Mar 20;38(3):281. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn501120-20210828-00292.
11. Craus S, Mula A, Coppini DV. The foot in diabetes - a reminder of an ever-present risk. *Clin Med (Lond)*. 2023 May;23(3):228-33. doi: 10.7861/clinmed2022-0489.
12. Zhang Y, Li J, Liu M. Efficacy of stem cell therapy for diabetic foot: Clinical evidence from meta-analyses. *Int Wound J*. 2024 Apr;21(4):e14632. doi: 10.1111/iwj.14632.
13. Dai J, Jiang C, Chen H, Chai Y. Treatment of diabetic foot with autologous stem cells: A meta-analysis of randomized studies. *Stem Cells Int*. 2020 Jul 16;2020:6748530. doi: 10.1155/2020/6748530.
14. Sun Y, Zhao J, Zhang L, Li Z, Lei S. Effectiveness and safety of stem cell therapy for diabetic foot: a meta-analysis update. *Stem Cell Res Ther*. 2022 Aug 13;13(1):416. doi: 10.1186/s13287-022-03110-9.
15. Mudgal SK, Kumar S, Gaur R, Singh H, Saikia D, Varshney S, et al. Effectiveness of stem cell therapy for diabetic foot ulcers: A systematic review and GRADE Compliant Bootstrapped Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Int J Low Extrem Wounds*. 2024 Jan 31;15347346241227530. doi: 10.1177/15347346241227530.

16. Huang X, Huang Z, Wei Z, Feng Y, Li X, Xu A, Jian C. Transcriptome comparison of brain and kidney endothelial cells in homeostasis. *Biomed Res Int.* 2022 Jan 28;2022:5239255. doi: 10.1155/2022/5239255.
17. Tao Y, Yu Y, He C, Guo W. Therapeutic effect of stem cells from different sources on diabetic foot ulcers: Systematic review and network meta-analysis. *Int J Low Extrem Wounds.* 2024 Aug 7;15347346241273186. doi: 10.1177/15347346241273186.
18. Wang J, Zeng XX, Cai W, Han ZB, Zhu LY, Liu JY, Xu JX. Safety and efficacy of placenta-derived mesenchymal stem cell treatment for diabetic patients with critical limb ischemia: A pilot study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2021 Jul;129(7):542-8. doi: 10.1055/a-0978-4972.
19. An T, Chen Y, Tu Y, Lin P. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles in the treatment of diabetic foot ulcers: Application and challenges. *Stem Cell Rev Rep.* 2021 Apr;17(2):369-78. doi: 10.1007/s12015-020-10014-9.
20. Shirbaghaee Z, Hassani M, Heidari Keshel S, Soleimani M. Emerging roles of mesenchymal stem cell therapy in patients with critical limb ischemia. *Stem Cell Res Ther.* 2022 Sep 6;13(1):462. doi: 10.1186/s13287-022-03148-9.
21. Shirbaghaee Z, Heidari Keshel S, Rasouli M, Valizadeh M, Hashemi Nazari SS, Hassani M, Soleimani M. Report of a phase 1 clinical trial for safety assessment of human placental mesenchymal stem cells therapy in patients with critical limb ischemia (CLI). *Stem Cell Res Ther.* 2023 Jul 5;14(1):174. doi: 10.1186/s13287-023-03390-9.
22. Nammian P, Asadi-Yousefabad SL, Daneshi S, Sheikha MH, Tabei SMB, Razban V. Comparative analysis of mouse bone marrow and adipose tissue mesenchymal stem cells for critical limb ischemia cell therapy. *Stem Cell Res Ther.* 2021 Jan 13;12(1):58. doi: 10.1186/s13287-020-02110-x.
23. Lozano Navarro LV, Chen X, Giratá Viviescas LT, Ardila-Roa AK, Luna-Gonzalez ML, Sossa CL, Arango-Rodríguez ML. Mesenchymal stem cells for critical limb ischemia: their function, mechanism, and therapeutic potential. *Stem Cell Res Ther.* 2022 Jul 26;13(1):345. doi: 10.1186/s13287-022-03043-3.
24. Magenta A, Florio MC, Ruggeri M, Furgiuele S. Autologous cell therapy in diabetes-associated critical limb ischemia: From basic studies to clinical outcomes (Review). *Int J Mol Med.* 2021 Sep;48(3):173. doi: 10.3892/ijmm.2021.5006.
25. Arango-Rodríguez ML, Solarte-David VA, Becerra-Bayona SM, Callegari E, Paez MD, Sossa CL, et al. Role of mesenchymal stromal cells derivatives in diabetic foot ulcers: a controlled randomized phase 1/2 clinical trial. *Cytotherapy.* 2022 Oct;24(10):1035-48. doi: 10.1016/j.jcyt.2022.04.002.
26. Chiang KJ, Chiu LC, Kang YN, Chen C. Autologous stem cell therapy for chronic lower extremity wounds: A meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Cells.* 2021 Nov 25;10(12):3307. doi: 10.3390/cells10123307.
27. Farabi B, Roster K, Hirani R, Tepper K, Atak MF, Safai B. The efficacy of stem cells in wound healing: A systematic review. *Int J Mol Sci.* 2024 Mar 5;25(5):3006. doi: 10.3390/ijms25053006.
28. Hou L, Zhang X, Du H. Advances in mesenchymal stromal cells and nanomaterials for diabetic wound healing. *Diabetes Metab Res Rev.* 2023 May;39(4):e3638. doi: 10.1002/dmrr.3638.
29. Mahmoudvand G, Karimi Rouzbahani A, Razavi ZS, Mahjoor M, Afkhami H. Mesenchymal stem cell therapy for non-healing diabetic foot ulcer infection: New insight. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023 Apr 13;11:1158484. doi: 10.3389/fbioe.2023.1158484.

30. Dama G, Du J, Zhu X, Liu Y, Lin J. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells: A promising therapeutic option for the treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Res Clin Pract.* 2023 Jan;195:110201. doi: 10.1016/j.diabres.2022.110201.
31. Mohsin F, Javaid S, Tariq M, Mustafa M. Molecular immunological mechanisms of impaired wound healing in diabetic foot ulcers (DFU), current therapeutic strategies and future directions. *Int Immunopharmacol.* 2024 Sep 30;139:112713. doi: 10.1016/j.intimp.2024.112713.
32. Amini A, Chien S, Bayat M. Potential of stem cells for treating infected diabetic foot wounds and ulcers: a systematic review. *Mol Biol Rep.* 2022 Nov;49(11):10925-34. doi: 10.1007/s11033-022-07721-6.
33. Zhang HM, Yang ML, Xi JZ, Yang GY, Wu QN. Mesenchymal stem cells-based drug delivery systems for diabetic foot ulcer: A review. *World J Diabetes.* 2023 Nov 15;14(11):1585-602. doi: 10.4239/wjd.v14.i11.1585.
34. Low Wang CC, Chong T, Moore G, Echaliier B, Haakonsen N, Carter JE Jr, et al. Results of the phase 1 Open-Label Safety Study of Umbilical Cord Lining Mesenchymal Stromal/Stem Cells (Corlicyte®) to heal chronic diabetic foot ulcers. *Biomedicines.* 2024 Jun 20;12(6):1375. doi: 10.3390/biomedicines12061375.
35. Hsieh MW, Wang WT, Lin CY, Kuo YR, Lee SS, Hou MF, Wu YC. Stem cell-based therapeutic strategies in diabetic wound healing. *Biomedicines.* 2022 Aug 25;10(9):2085. doi: 10.3390/biomedicines10092085.
36. Li X, Xie X, Lian W, Shi R, Han S, Zhang H, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells overexpressing Nrf2 accelerate cutaneous wound healing by promoting vascularization in a diabetic foot ulcer rat model. *Exp Mol Med.* 2018 Apr 13;50(4):1-14. doi: 10.1038/s12276-018-0058-5.
37. Tseng SL, Kang L, Li ZJ, Wang LQ, Li ZM, Li TH, et al. Adipose-derived stem cells in diabetic foot care: Bridging clinical trials and practical application. *World J Diabetes.* 2024 Jun 15;15(6):1162-77. doi: 10.4239/wjd.v15.i6.1162.
38. Feng J, Yao Y, Wang Q, Han X, Deng X, Cao Y, et al. Exosomes: Potential key players towards novel therapeutic options in diabetic wounds. *Biomed Pharmacother.* 2023 Oct;166:115297. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115297.
39. Verdi J, Shirian S, Saleh M, Khadem Haghighian H, Kavianpour M. Mesenchymal stem cells regenerate diabetic foot ulcers: A review article. *World J Plast Surg.* 2022 Mar;11(1):12-22. doi: 10.52547/wjps.11.1.12.
40. Cao Y, Gang X, Sun C, Wang G. Mesenchymal stem cells improve healing of diabetic foot ulcer. *J Diabetes Res.* 2017; 2017:9328347. doi: 10.1155/2017/9328347.
41. Becerra-Bayona SM, Solarte-David VA, Sossa CL, Mateus LC, Villamil M, Pereira J, Arango-Rodríguez ML. Mesenchymal stem cells derivatives as a novel and potential therapeutic approach to treat diabetic foot ulcers. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2020 Jul 5;2020:19-0164. doi: 10.1530/EDM-19-0164.
42. Xu YF, Wu YX, Wang HM, Gao CH, Xu YY, Yan Y. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium ameliorates diabetic foot ulcers in rats. *Clinics (Sao Paulo).* 2023 Mar 20;78:100181. doi: 10.1016/j.clinsp.2023.100181.
43. Ho J, Yue D, Cheema U, Hsia HC, Dardik A. Innovations in stem cell therapy for diabetic wound healing. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2023 Nov;12(11):626-43. doi: 10.1089/wound.2021.0104.
44. Yu Q, Qiao GH, Wang M, Yu L, Sun Y, Shi H, Ma TL. Stem cell-based therapy for diabetic foot ulcers. *Front Cell Dev Biol.* 2022 Feb 1;10:812262. doi: 10.3389/fcell.2022.812262.

45. Du Y, Wang J, Fan W, Huang R, Wang H, Liu G. Preclinical study of diabetic foot ulcers: From pathogenesis to vivo/vitro models and clinical therapeutic transformation. *Int Wound J*. 2023 Dec;20(10):4394-409. doi: 10.1111/iwj.14311.
46. Gao CC, Chen JA, Wang AP. [Research progress of induced pluripotent stem cells in promoting wound healing of diabetic foot ulcers]. *Zhonghua Shao Shang Yu Chuang Mian Xiu Fu Za Zhi*. 2022 Sep 20;38(9):864-9. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn501120-20210630-00230.
47. Hetta HF, Elsaghir A, Sijercic VC, Akhtar MS, Gad SA, Moses A, et al. Mesenchymal stem cell therapy in diabetic foot ulcer: An updated comprehensive review. *Health Sci Rep*. 2024 Apr 21;7(4):e2036. doi: 10.1002/hsr.2.2036.
48. Buchade S, Desai S, Bhonde R, Kazi H, Sainani S, Rode K. Stem cells: A golden therapy for diabetic wounds. *Curr Diabetes Rev*. 2021;17(2):156-60. doi: 10.2174/1573399816666200716200450.
49. Blumberg SN, Berger A, Hwang L, Pastar I, Warren SM, Chen W. The role of stem cells in the treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012 Apr;96(1):1-9. doi: 10.1016/j.diabres.2011.10.032.
50. Zhang C, Huang L, Wang X, Zhou X, Zhang X, Li L, et al. Topical and intravenous administration of human umbilical cord mesenchymal stem cells in patients with diabetic foot ulcer and peripheral arterial disease: a phase I pilot study with a 3-year follow-up. *Stem Cell Res Ther*. 2022 Sep 5;13(1):451. doi: 10.1186/s13287-022-03143-0.
51. Álvaro-Afonso FJ, Sanz-Corbalán I, Lázaro-Martínez JL, Kakagia D, Papanas N. Adipose-derived mesenchymal stem cells in the treatment of diabetic foot ulcers: A review of preclinical and clinical studies. *Angiology*. 2020 Oct;71(9):853-63. doi: 10.1177/0003319720939467.
52. Elsharkawi M, Ghoneim B, O'Sullivan M, Lowery AJ, Westby D, Tawfik W, Walsh SR. Role of adipose derived stem cells in patients with diabetic foot ulcers: Systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Int J Low Extrem Wounds*. 2023 May 11;15347346231174554. doi: 10.1177/15347346231174554.
53. Mrozikiewicz-Rakowska B, Szabłowska-Gadomska I, Cysewski D, Rudziński S, Płoski R, Gasperowicz P, et al. Allogenic adipose-derived stem cells in diabetic foot ulcer treatment: Clinical effectiveness, safety, survival in the wound site, and proteomic impact. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 12;24(2):1472. doi: 10.3390/ijms24021472.
54. Shi R, Lian W, Jin Y, Cao C, Han S, Yang X, et al. Role and effect of vein-transplanted human umbilical cord mesenchymal stem cells in the repair of diabetic foot ulcers in rats. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2020 Jun 20;52(6):620-30. doi: 10.1093/abbs/gmaa039.
55. Maksimova NV, Michenko AV, Krasilnikova OA, Klabukov ID, Gadaev IY, Krashenninnikov ME, et al. Mesenchymal stromal cell therapy alone does not lead to complete restoration of skin parameters in diabetic foot patients within a 3-year follow-up period. *Bioimpacts*. 2022;12(1):51-5. doi: 10.34172/bi.2021.22167.
56. Askø Andersen J, Rasmussen A, Frimodt-Møller M, Engberg S, Steeneveld E, Kirketerp-Møller K, et al. Novel topical allogeneic bone-marrow-derived mesenchymal stem cell treatment of hard-to-heal diabetic foot ulcers: a proof of concept study. *Stem Cell Res Ther*. 2022 Jun 28;13(1):280. doi: 10.1186/s13287-022-02951-8.
57. Mikłosz A, Chabowski A. Efficacy of adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in the treatment of chronic micro- and macrovascular complications of diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2024 Mar;26(3):793-808. doi: 10.1111/dom.15375.

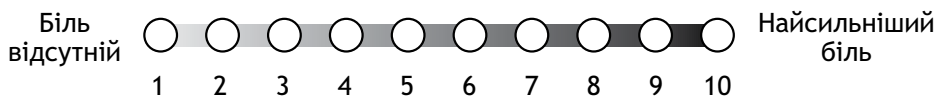
АНКЕТУВАННЯ

Оцінка якості життя пацієнта з даїбетичною ангіопатією нижніх кінцівок проводилась за допомогою опитувальника VascuQoL (Vascular Quality of Life Questionnaire) для оцінки якості життя пацієнтів з критичною ішемією кінцівок та опитувальника якості життя SF-36 (Medical Outcomes Study Short Form 36).

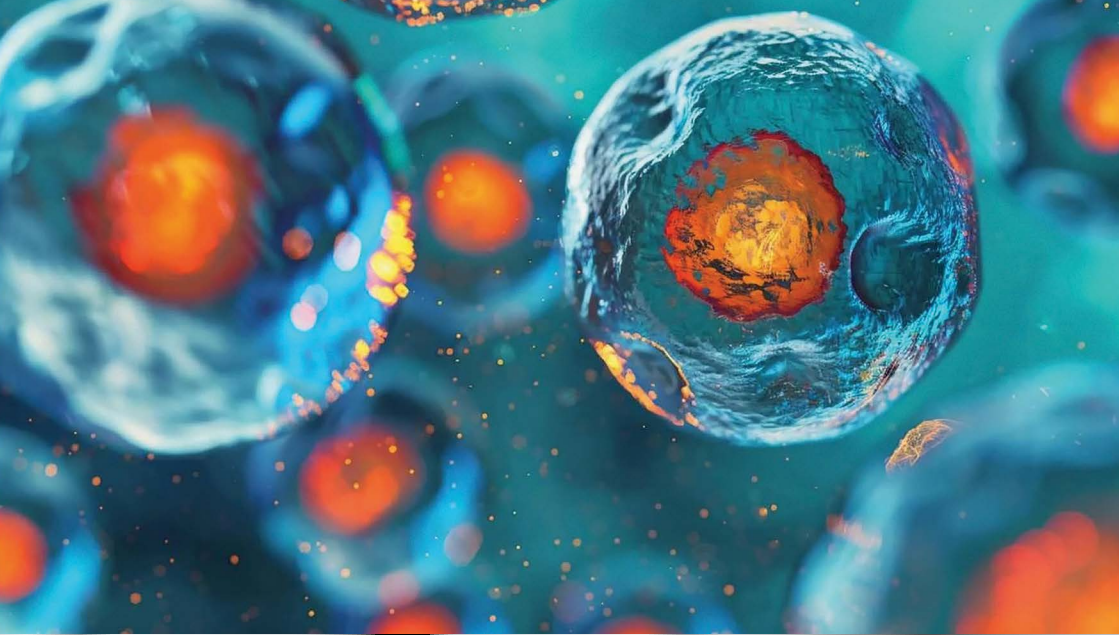
Скорочена версія **VascuQoL-6** (VQ-6) складається з 6 запитань і 4 можливих відповідей, які оцінюються від 1 (найгірша якість життя, що сприймається пацієнтом) до 4 (найкраща якість життя, що сприймається пацієнтом). Загальний бал становить від 6 до 24, а найвище значення пов'язане з найкращим здоров'ям.

Опитувальник **SF-36** є найпоширенішим неспецифічним засобом вивчення якості життя у хворих, який дозволяє оцінити різні складові життя пацієнта в умовах хвороби. Опитувальник SF-36 оцінює якість життя, яка насправді є дуже індивідуальною для кожної людини. Тому й не представлено жодних нормативних значень або критичних значень. Беручи це до уваги, легко побачити, що вищі показники за опитувальником SF-36 вказують на кращу якість життя. Оскільки якість життя є дуже особистим показником, двоє пацієнтів, які мають однакові результати за опитувальником SF-36, фактично можуть відчувати себе дуже по-різному стосовно їхньої якості життя. Якщо опитувальник SF36 використовується, щоб визначити зміни в якості життя, то збільшення кількості балів означає поліпшення якості життя.

ВАШ (візуальна аналогова шкала) — шкала, що оцінює тяжкість болю. ВАШ являє собою пряму лінію довжиною 10 см. Пацієнтові пропонували зробити на лінії оцінку, що відповідає інтенсивності болю, який ним відчувається, де 0 см — відсутність болю, а 10 см — максимально можливий за інтенсивністю біль.



Візуальна аналогова шкала болю



Наукова робота та створення методичних рекомендацій
за підтримки Центру сучасних клітинних технологій ReoCell
(м. Київ)

Напрямки діяльності:

- Виробництво лікарських засобів передової терапії.
- Біострахування – тривале зберігання клітинних депозитів.
- Наукова розробка

За допомогою сучасних клітинних
технологій виділяємо та культивуємо:

- Мезенхімальні стовбурові клітини.
- Дермальні фібробласти.
- Комбіновані клітинні засоби.



REOCELL

BIOBANKING & MANUFACTURING