

## О клинической эффективности криоконсервированной сыворотки кордовой крови человека

## About Clinical Efficiency of Cryopreserved Human Cord Blood Serum

Показано, что содержание фолликулостимулирующего, лютеинизирующего гормонов, эстрадиола и прогестерона в сыворотке кордовой крови человека (СККЧ) значительно выше, чем в сыворотке здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста. В эксперименте выявлено, что криоконсервированная СККЧ не оказывает эмбриотоксического и тератогенного действия. Уникальный состав препарата криоконсервированной СККЧ определяет возможность его широкого применения в клинике и повышает эффективность лечения различных патологий.

**Ключевые слова:** сыворотка кордовой крови, криоконсервирование, клиническая эффективность.

Доведено, що вміст фолікулостимулюючого, лютеїнізуючого гормонів, естрадіолу та прогестерону в сироватці кордової крові людини (СККЛ) значно вище, ніж у сироватці здорових невагітних жінок репродуктивного віку. В експерименті встановлено, що криоконсервована СККЛ не виявляє ембріотоксичної та тератогенної дії. Унікальний склад препарату криоконсервованої СККЛ визначає можливість його широкого застосування в клініці та підвищує ефективність лікування різних патологій.

**Ключові слова:** сироватка кордової крові, криоконсервування, клінічна ефективність.

It has been shown that content of follicle-stimulating and luteinizing hormones, estradiol and progesterone in human cord blood serum (HCBS) significantly higher than in serum of healthy nonpregnant women of reproductive age. In the experiment the cryopreserved HCBS has been shown as not having embryotoxic or teratogenic effect. Unique composition of cryopreserved HCBS preparation determines the capacity of its wide use in clinic and increases treatment efficiency of different pathologies.

**Key-words:** blood serum, cryopreservation, clinical efficiency.

Сыворотка кордовой крови человека (СККЧ) является уникальной биологической средой. Плацента синтезирует специфические плацентарные белки, содержащиеся в СККЧ (ферменты, проферменты, рецепторы, адаптогены, факторы роста, иммунорегуляторные агенты, транспортные белки); цитокины, принимающие участие в процессах иммуноэндокринного взаимодействия матери и плода, в частности к ним относятся интерлейкины и интерфероны, колониестимулирующий фактор, фактор некроза опухоли, трансформирующий фактор роста. В СККЧ содержатся репродуктивные гормоны белково-пептидной природы (хорионический гонадотропин, плацентарный лактоген, пролактин, хорионический тиреотропный и адренокортикотропный гормоны,  $\alpha$ -меланоцитстимулирующий гормон), а также структурные аналоги нейропептидов головного мозга (в основном эндорфины и энкефалины) [1]. Сохранить биологически активные вещества в препарате СККЧ позволила разработанная нами биотехнология криоконсервирования.

Институт проблем криобиологии и криомедицины  
НАН Украины, г. Харьков

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38  
(057) 373-31-26, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта:  
cryo@online.kharkov.ua

### Материалы и методы

Исследовали содержание фолликулостимулирующего (ФСГ), лютеинизирующего (ЛГ) гормонов, эстрадиола и прогестерона в сыворотке здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста и в СККЧ. Уровень гормонов определяли радиоиммунным методом с использованием тест-систем "БиоРад" (США), "Лабсистем" (Финляндия).

Замораживание СККЧ осуществляли при помощи программного замораживателя в полиэтиленовых ампулах емкостью 1 мл со скоростью 1–2°C/мин до –20°C с последующим хранением при –20°C в морозильной камере. Размораживали на водяной бане при температуре 40–42°C.

Результаты обрабатывали статистически по методу Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Выявлено, что концентрации гормонов в кордовой сыворотке значительно превышают аналогичные показатели в сыворотке здоровых небере-

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

\* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 3126, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

менных женщин. Содержание ФСГ ( $46,43 \pm 2,27$  мМЕ/мл) и ЛГ ( $52,76 \pm 4,31$  мМЕ/мл) в кордовой крови почти вдвое, а эстрадиола ( $984,87 \pm 12,16$  пг/мл) в 6 раз выше, чем в крови взрослых здоровых женщин в перивуляторный период, когда концентрации этих гормонов достигают максимальных значений (ФСГ –  $22,86 \pm 1,63$  мМЕ/мл; ЛГ –  $28,14 \pm 1,82$  мМЕ/мл; эстрадиола –  $154,6 \pm 7,65$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). Уровень прогестерона в крови взрослых здоровых женщин при исследовании на 21–24 день менструального цикла (в стадии “расцвета” желтого тела), когда содержание этого гормона достигает максимума, составляет  $18,6 \pm 1,61$  нг/мл, почти в 12 раз ниже, чем в сыворотке плацентарной крови ( $219,34 \pm 15,32$  нг/мл,  $p < 0,05$ ).

По мнению некоторых авторов, высокая гормональная насыщенность плацентарной крови обусловлена не простым суммированием биологически активных веществ, а необходимостью гибкой регуляции жизненно важных процессов в перинатальном периоде [1].

Вышеизложенное частично объясняет выраженный терапевтический эффект биологических препаратов, изготовленных на основе плацентарной крови, в том числе криоконсервированной сыворотки кордовой крови человека, так как низкие температуры позволяют сохранить биологически активные соединения в нативном состоянии и физиологическом соотношении.

При изучении влияния замораживания на сохранность СККЧ установлено, что в результате низкотемпературного консервирования существенно не изменялось содержание гормонов в СККЧ. В результате длительного хранения кордовой сыворотки при  $-20^\circ\text{C}$  наблюдалось незначительное снижение уровней гормонов белковой природы: ФСГ – до  $40,48 \pm 1,87$  мМЕ/мл, ЛГ – до  $43,56 \pm 1,46$  мМЕ/мл ( $p < 0,05$ ) в сравнении с исходными –  $46,43 \pm 2,27$  мМЕ/мл и  $52,76 \pm 4,31$  мМЕ/мл соответственно (для сравнения в растворе полибиоллина содержание ФСГ и ЛГ в десятки, а эстрадиола и прогестерона – в сотни раз ниже, чем в криоконсервированной кордовой сыворотке). Установлено, что умеренно низкие температуры ( $-18...-20^\circ\text{C}$ ) позволяют хранить СККЧ до 6–8 месяцев, а глубокое замораживание в жидком азоте ( $-196^\circ\text{C}$ ) – до 15 лет. Тот факт, что глубокое замораживание в жидком азоте и при  $-20^\circ\text{C}$  не вызывает существенных сдвигов уровня белков и гормонов кордовой крови, послужил основой разработки биотехнологии производства препарата криоконсервированной сыворотки кордовой крови человека для клинического использования.

Для изучения отдаленных последствий влияния препарата криоконсервированной сыворотки кордовой крови человека на организм исследовано его

эмбриотоксическое и тератогенное действие в эксперименте. Установлено, что препарат не оказывает негативного влияния на плодовитость животных и состояние их плодов, а также снижает предимплантационную, постимплантационную и общую эмбриональную смертность.

В настоящее время накоплен положительный опыт применения препарата криоконсервированной СККЧ в терапии хронических воспалительных процессов (хронический сальпингоофорит), инфекционных заболеваний, гнойно-деструктивных поражений поджелудочной железы, послеоперационных гнойно-септических осложнений, заболеваний системы кровообращения, а также в косметологии. При этом наблюдался стойкий анальгезирующий и противовоспалительный эффект, а также, что особенно важно, отмечалась нормализация нарушенных функций иммунной системы больных.

Проведено лечение 63 больных хроническими сальпингоофоритами с применением криоконсервированной кордовой сыворотки. Препарат вводили внутримышечно через день по 1 мл (5 инъекций на курс). Положительный эффект наступил в 96% случаев. Отмечено улучшение общего самочувствия больных, исчезновение болевых ощущений, уменьшение воспалительных изменений придатков матки, восстановление нарушенных функций эндокринной системы (73,7% больных), менструальной (71,1%) и репродуктивной (26,3%) функций. Улучшались показатели клеточного и гуморального иммунитета. Учитывая выраженный иммуностимулирующий эффект, считаем перспективным использование данного биопрепарата не только при лечении хронических сальпингоофоритов, но и других воспалительных заболеваний.

Имеется положительный опыт лечения криоконсервированной СККЧ больных с острым деструктивным панкреатитом. Применение СККЧ позволяет путем коррекции иммунологической реактивности нормализовать показатели иммунограммы, сократить срок лечения благодаря иммунокорректирующему, общестимулирующему действию препарата, его позитивному влиянию на процессы репарации. Применение препарата криоконсервированной СККЧ позволяет снизить риск возникновения осложнений, связанных с действием антибиотиков и цитостатиков, а также сокращает срок лечения в среднем на 9,2 дня [2].

Криоконсервированная СККЧ применяется также в лечении больных сахарным диабетом. Классические методы лечения этого заболевания с использованием инсулинотерапии не позволяют остановить развитие хронических осложнений (пролиферативная ретинопатия, нефропатия, микроангиопатия нижних конечностей, полинейро-

патия и др.). Предложенный метод лечения синдрома “диабетической стопы” объединяет классические методы лечения с применением криоконсервированной СККЧ. Такое сочетанное лечение позволяет не только уменьшить потребность в инсулине, но и способствует коррекции тяжелых биохимических, иммунологических нарушений, демаркации некротических изменений, а на фоне некрэктомии – более раннему и полному заживлению ран [3].

### **Выводы**

Результаты проведенных исследований криоконсервированной СККЧ и ее применения в клинике показали, что созданный нами препарат обладает не только иммунокорректирующим и противовоспалительным действием, но и позволяет улучшить периферическое кровообращение, снижает уровень глюкозы в крови в связи с содержанием большого количества низкомолекулярных пептидов и аминокислот, которые улучшают транспорт глюкозы и кислорода в клетки, стимулируют их внутриклеточную утилизацию, ускоряя метабо-

лизм АТФ и повышая энергетические ресурсы клеток. Это очень важно при гипоксии и повышенной потребности в энергии. Перечисленные уникальные свойства препарата СККЧ определяют возможность его широкого применения в клинике и повышают эффективность лечения различных патологий.

### **Литература**

1. *Гаврилов В.Я., Немиров Е.К.* Содержание половых стероидных гормонов в крови здоровых и больных анемией рожениц и сосудах пуповины их новорожденных // *Акушерство и гинекология.* – 1991. – №2. – С. 40–43.
2. *Шідловський В.О., Дейкало І.М., Чепіль І.В. та інші.* Імунокорегуюча терапія в комплексному лікуванні хворих на важку гнійну патологію в хірургії // *Пробл. криобиології.* – 2005. – Т. 15, №1. – С. 79–84.
3. *Пат. №7937 МПК<sup>7</sup> А61К 35/16 А61В17/00. Україна.* Спосіб лікування цукрового діабету, ускладненого діабетичною мікроангіопатією / Я.О. Попович, А.Г. Шевчук, О.В. Ліпіна, О.С. Прокопюк, І.Б. Мусатова. Заявлено 20.12.04; Публ. 15.07.05. Бюл. №7. – С.4.1.

*Поступила 08.09.2008.*