

УДК 612.649:118.7:616.379-008.64

UDC 612.649:118.7:616.379-008.64

## Препарат криоконсервованої сироватки кордової крові "Кріокорд-С" в лікуванні синдрому діабетичної стопи

Я.О. Попович

Івано-Франківська державна медична академія  
Міська клінічна лікарня №1, м. Івано-Франківськ

## Cryopreserved Cord Blood Serum Preparation Cryocord-C in Treatment of Diabetic Foot Syndrome

YA.O. POPOVYCH

Ivano-Frankivsk State Medical Academy  
City Clinical Hospital №1, Ivano-Frankivsk

Проведено аналіз лікування 70 хворих з синдромом діабетичної стопи (СДС), у 25 з них застосовували препарат криоконсервованої сироватки кордової крові "Кріокорд-С". Виявлено його ефективний вплив на нормалізацію метаболічних змін, білків гострої фази, вміст імуноглобулінів G, A, M, стабілізацію глікемічних змін, прискорення регенеративних процесів і загоєння ран, скорочення термінів лікування на 10-15 дб.

**Ключові слова:** синдром діабетичної стопи, криоконсервований препарат, сироватка кордової крові, "Кріокорд-С", диск-електрофорез сироваткового білка.

Проведен анализ лечения 70 пациентов с синдромом диабетической стопы, у 25 из них применяли препарат криоконсервированной сыворотки кордовой крови "Криокорд-С". Обнаружено его эффективное влияние на нормализацию метаболіческих изменений, белков острой фазы, содержание иммуноглобулинов G, A, M, стабилизацию гликемических изменений, ускорение регенеративных процессов и заживления ран, сокращение сроков лечения на 10-15 суток.

**Ключевые слова:** синдром диабетической стопы, криоконсервированный препарат, сыворотка кордовой крови, "Криокорд-С", диск-электрофорез сывороточного белка.

There was analyzed the treatment of 70 patients with diabetic foot syndrome (DFS), 25 of them were administered with "Cryocord-C" cryopreserved cord blood serum preparation. There was noticed the positive effect upon normalization of metabolic changes, acute period proteins, content of immunoglobulins G, A, M, glycaemic changes stabilization, acceleration of regenerative processes and wounds healing, a 10-15 days' shortening of the treatment period.

**Key-words:** diabetic foot syndrome, cryopreserved preparations, cord blood serum, Cryocord-S, disc-electrophoresis of serum protein.

На сьогоднішній день у світі нараховується близько 150 млн хворих на цукровий діабет (ЦД). Щорічно загальна кількість їх зростає на 5-7% [5, 7]. Кожні 10-15 років кількість хворих ЦД збільшується в 2 рази, в основному, за рахунок хворих на діабет II типу і за даними ВООЗ в 2010 році становитиме 230 млн чоловік [10]. Слід відзначити, що, незважаючи на жорсткий контроль і проведення глікемічної компенсації із застосуванням сучасних форм інсулінів, перебіг ЦД супроводжується різними ускладненнями і тільки за останні 3 роки частота ускладнень збільшилася на 11,1%. У світі кожну хвилину виконуються 55 високих ампутацій з приводу СДС [11]. Таким чином, сучасне становище змушує клініцистів шукати альтернативну терапію, яка могла б знизити ризик виникнення некомпенсованих стадій СДС, забезпечити ефективність корекції значних змін

Diabetes mellitus (DM) is known to be rather frequent pathology, nowadays about 150 million people are suffering from this disease, their number increasing by 5-7% each year [5, 7]. Every 10-15 years the number of DM patients is doubled mostly due to II type diabetes and according to official data by 2010 this number is expected to reach 230 million people [10]. However despite a strict control and glycaemic compensation with modern forms of insulin, DM is accompanied by a number of complications and in 3 recent years it increased by 11,1%. Thus, 55 high amputations because of diabetic foot syndrome (DFS) are performed each minute in the world [11]. Such a reality makes the clinicians search for an alternative therapy, which would be able to reduce the risk of development of uncompensated states of body homeostasis and improve the effectiveness of surgical treatment of DFS pyo-necrotic states.

**Адреса для кореспонденції:** Попович Я.О., Міська клінічна лікарня №1, вул. Матейки, 34, м. Івано-Франківськ, Україна 76000; тел.: +38 (03422) 3-21-91, e-mail: clinicl@il.if.ua

**Address for correspondence:** Popovych Ya.O., City Clinical Hospital N1, 34, Mateyka str., Ivano-Frankovsk, Ukraine 76000; tel.: +380 34 2232191, e-mail: clinicl@il.if.ua

бодігомеостазу та покращити ефективність хірургічного лікування гнійно-некротичних стадій СДС.

В останні десятиріччя в Україні створено передумови розвитку тканинної та клітинної терапії, а досягнення науки дозволили розробити надійні біотехнологічні процеси, які забезпечують ефективне клінічне застосування біологічних матеріалів [3, 9].

Особливе місце у клітинній та тканинній терапії належить плаценті та кордовій крові [2, 4]. Сироватка кордової крові містить понад 60 специфічних плацентарних білків: ферменти, адаптогени, рецептори фактора росту, імунорегуляторні агенти; ряд пептидів, гормонів, вітамінів, мікроелементів. З урахуванням цього в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України було створено з сироватки кордової крові препарат "Кріокорд-С", експериментально вивчено його ефективність [8].

Цей препарат застосовують в офтальмологічній, акушерсько-гінекологічній практиці [1, 2] з добре вираженими репаративною, імуностимулюючою, протизапальною, відновною діями. Однак в літературі відсутні дані щодо використання вказаного препарату при лікуванні СДС, особливо при альтераційно-ексудативній фазі гнійно-некротичного процесу в рані, коли потрібно реалізувати ефективну корекцію бодігомеостазу, що сприяло б більш прискореному та активному загоєнню рани.

Мета роботи – вивчити ефективність і розробити схему застосування "Кріокорду-С" у комплексному хірургічному лікуванні СДС.

### Матеріали і методи

Проведено аналіз результатів комплексного лікування 70 хворих цукровим діабетом I та II типу, ускладненим ДС 0-V ст. за класифікацією Meggit-Wagner. Перший тип ЦД був у 16 хворих, з ДС 0 ст. – 3, I-II ст. – 6, III ст. – 4, IV-V ст. – 3. Цукровий діабет II типу був у 62 хворих з ДС 0 ст. – 6, ДС I – II ст. – 8, III ст. – 13, IV-V ст. – 35.

Усі хворі були поділені на 2 групи. Першу (контрольну) групу склали 45 пацієнтів з ДС 0-V ст., яких піддавали загальноприйнятому комплексному хірургічному лікуванню, що включало корекцію дози і частоти введення інсуліну, переведення на простий інсулін відповідно до показників вмісту глюкози в плазмі крові, комплексну антибіотикотерапію, дезінтоксикаційну, або вітамінотерапію, і за показаннями – некректомію, мікроампутацію або високу ампутацію стегна.

У другій (основній) групі хворих (25) поряд з комплексним хірургічним лікуванням застосовували препарат кріоконсервованої сироватки кордової крові "Кріокорд-С".

Within recent decades there has been created the background for development of tissue and cell therapy, and the achievements of cryobiology enable us to develop profound biotechnological processes, which ensure the effectiveness of their clinical use [3, 9].

Exceptional place in cell and tissue therapy belongs to placenta and cord blood (CB) [2, 4]. Cord blood serum (CBS) contains over 60 specific placental proteins, which play the role of enzymes, adaptogens, growth factor receptors, immunoregulatory agents, a number of peptides, hormones, vitamins, microelements. Taking all this into account at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Science of Ukraine there was produced "Cryocord-C" cord blood serum preparation. [8].

During recent years this preparation have been successfully used in ophthalmology, obstetrical and gynaecological practice [1, 2] with evident reparatory, immune stimulating, anti-inflammatory, restoration activity. However no data are found concerning their use for DFS treatment, especially in alteration-exudative phase of pyo-necrotic wound process, when it is vitally to achieve effective correction of body homeostasis, that would favor accelerated and active proliferation of wound process.

The aim of the research was to study the efficacy and develop the protocol for "Cryocord-C" use in DFS complex surgical treatment.

### Materials and methods

We accomplished analysis of the results of combined treatment of 70 persons suffering from Diabetes mellitus of I and II types complicated by DF of 0-V grade according to Meggit-Wagner's classification. Sixteen patients had DF of 0 grade, 6 of I-II grade, 4 of III grade, 3 of IV-V grade. 62 patients had Diabetes mellitus of the II type, 6 among those had DF of 0 grade, 8 of I-II grade, 13 of III grade and 35 ones of IV-V grade. All the patients were divided into two groups.

The first group (control) consisted of 45 patients with DF of 0-V grade, treated with the complex surgical treatment, that included the dosage and insulin injection frequency correction, transfer to simple insulin in accordance with glucose indices in blood serum, complex antibiotic therapy in the case of necrectomy, i.e. microamputation or high amputation of a thigh.

In the second (main) group of patients (25) there were included cryopreserved cord blood serum preparation along with combined surgical treatment: "Cryocord-C" from the Institute for Problems for Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Science of Ukraine (IPC&C).

Five patients with the 0 grade of DFS received "Cryocord-S" in the dose of 1ml intramuscularly during

П'яти хворим з 0 ст. СДС вводили "Кріокорд-С" в дозі 1 мл внутрішньом'язево на протязі 5 діб, шести хворим з I-II ст. СДС – в дозі 1 мл, щоденно на протязі 10 діб. При III ст. СДС у 5 хворих використовували "Кріокорд-С" в дозі 1мл, який з метою підсилення інтенсивності дії вводили внутрішньовенно, крапельно на 100 мл фізіологічного розчину, щоденно, протягом 10 діб. 9 хворим з IV-V ст. СДС за 2-3 дні до розкриття гнійників, виконання некректомій мікро- та економних ампутацій і в післяопераційному періоді вводили "Кріокорд-С" в дозі 2 мл на 150-200 мл фізіологічного розчину внутрішньовенно, всього 10 інфузій.

Усім хворим проводили загальноклінічні (загальний аналіз крові, сечі), біохімічні аналізи (визначення вмісту загального білку сироватки крові, загального білірубіну, прямого білірубіну, креатиніну, сечовини, активності АСТ і АЛТ), визначення глюкози в плазмі крові, вміст глікозельованого гемоглобіну та використовували інструментальні методи дослідження: реовасографію, капіляроскопію, доплерографію судин. У 40 хворих виконували більш складні обстеження: вивчення білкового спектра сироваткового білка методом диск-електрофорезу (ДЕФ) в поліакріламідному гелі (ПААГ) в 25-27 фракціях з визначенням білків гострої фази (перша фракція –  $\alpha$ 1-антитрипсин; 1а фракція –  $\alpha$ 1-ліпопротеїн; 1б фракція –  $\alpha$ 1-кислий глікопротеїн; друга фракція – альбумін; сьома фракція – церулоплазмін; восьма фракція – трансферин; двадцять перша – фібрिनотен; двадцять п'ята –  $\alpha$ 2-макроглобулін) та визначенням вмісту імуноглобулінів G, A, M в загальній кількості та в окремих фракціях диск-електрофореграм за М.Д. Василюком (1986).

### Результати та обговорення

При порівняльному аналізі клініко-лабораторного перебігу захворювання у хворих обох груп нами було відмічено, що при застосуванні "Кріокорду-С" у хворих з СДС 0 ст. вже на 2-3-ю добу значно зменшувались суб'єктивні відчуття в стопах: парестезії, печія підшв, болі. Скорочувався достовірно час "ішемічної плями" (симптом Леньель-Левестіка), місцева температура була на 1,5°C вища ніж у контрольній групі. З 4-5-ї доби стабілізувались показники вмісту глюкози в плазмі крові, а з 7-8-го дня добова доза інсуліну зменшувалась на 25-30%.

У хворих з СДС I-II ст. основними клінічними проявами були поверхневі та більш глибокі інфіковані виразки пальців, п'ятки, підшвовної ділянки. У них відмічено виражену симптоматику, що характеризувалась мерзлякуватістю стоп з більш інтенсивним боєм при ходьбі, зниженням місцевої температури більше 2°C та збільшенням

5 days. Six patients with I-II grade of DFS were intramuscularly injected daily with 1 ml of "Cryocord-C" during 10 days. At the III-rd grade of DFS 5 patients received "Cryocord-C" in the dose of 1ml, which was intravenously dropped per 100 ml of physiological salt solution daily during 10 days in order to intensify the effect. Nine patients with the IV-V grade of DFS, 2-3 days prior to opening the abscesses, performing necrectomies of micro- and economic amputations and during the postoperative period were introduced with "Cryocord-C" in the dosage of 2 ml per 150-200 ml of physiological saline solution intra-venously, totally 10 infusions.

All the patients underwent general clinical (general blood urine and analysis) and biochemical tests (determination of content of total blood serum protein, total bilerubine, direct bilerubine, kreatinine, urea, AST and ALT activity), determination of blood plasma glucose content, content of glycosylated hemoglobin, methods of investigation: rheovasography, capillaroscopy, vascular dopplerography. Fourty patients underwent a more complicated examination: study of serous protein spectrum using the method of disc-electrophoresis (DEF) in polyacrylamide gel (PAAG) in 25-27 fractions with proteins of the acute stage (first fraction –  $\alpha$ 1-antitrypsin; 1a fraction –  $\alpha$ 1-lipoprotein; 1b fraction –  $\alpha$ 1-acid glycoprotein; second fraction – albumine; seventh fraction – ceruloplasmine; eight fraction – trasferine; twenty first – fibrinogene; twenty fifth –  $\alpha$ 2-macroglobuline) and determination of immuno-globulin G, A, M contents in the total amount and in separate fractions of disc-electrophoregrafies according to M. D. Vasylyuk (1986).

### Results and discussion

Comparative analysis of clinical-laboratory disease course in the both groups' patients demonstrated that while using "Cryocord-C" patients with 0 grade DFS had less subjective sensation in their feet already by the 2<sup>nd</sup>-3<sup>rd</sup> day, particularly paresthesia, burning of soles, pains. Duration of "ischemic spot" significantly shortened, local temperature was 1.5°C higher than in the control group. Glucose content in blood plasma stabilized since the 4<sup>th</sup>-5<sup>th</sup> day, and by the 7<sup>th</sup>-8<sup>th</sup> day the daily insulin dose was reduced by 25-30%.

Patients suffering from I-II DFS grade with clinical superficial manifestations and deeper infected ulcers of toes, heels, sole parts were noted to have manifested symptomatics characterized by feet cold-sensitivity with a more intense pain while walking, more than 2°C decrease of local temperature and increase of "ischemic spot" duration up to 4-5 seconds. Glucose level in blood plasma was unstable within a day with the mean index of 13.48±0.30 mol/l while the norm was 4.30±0.09 mol/l. The level of glycosylated hemoglobin considerably increased up to 9.92±0.28% at the

часу “ішемічної плями” до 4-5 с. Глюкоза плазми крові протягом доби була нестабільною з середнім показником  $13,48 \pm 0,30$  ммоль/л при нормі  $4,30 \pm 0,09$  ммоль/л. Достовірно підвищувався рівень глікозельованого гемоглобіну до  $9,92 \pm 0,28\%$  при нормі  $3,82 \pm 0,1\%$ . Кількість капілярних петель нігтевих валиків неуражених виразками пальців стопи зменшувалась в 2-2,5 рази (до 6-8 при нормі 16-20 в полі зору). При вивченні реовазограм відмічено зниження реографічного індексу на 20-30% при збереженій, ослабленій пульсації на артерії стопи. У хворих I-II ст. СДС виявлено зміни кількісного вмісту білків гострої фази. Нами було відмічено збільшення  $\alpha 1$ -антитрипсину до  $2,92 \pm 0,41\%$  (при нормі  $2,11 \pm 0,38\%$ ), церулоплазміну до  $2,8 \pm 0,3\%$  (при нормі  $1,52 \pm 0,54\%$ ), фібриногену в 2 рази при значному зниженні кількості  $\alpha 1$ -ліпопротеїну та  $\alpha 1$ -кислого глікопротеїну ( $p < 0,05$ ). Кількісний вміст трансферину зменшувався до  $8,96 \pm 0,40$  при нормі  $10,38 \pm 0,47\%$ . Преальбумінова та альбумінова фракції помірно зменшувались, вказуючи на гіпоальбумінемію. Значно зростав вміст інгібітора протеаз  $\alpha 2$ -макроглобуліну і становив  $3,98 \pm 0,36$  при нормі  $2,80 \pm 0,42$ . Відмічено також зростання на 60-70%  $\beta$ -ліпопротеїду. Все це вказувало на значні зміни бодігомеостазу організму з ослабленням системи антиоксидантного захисту. При вивченні показників гуморального імунітету цих хворих загальна кількість IgG, IgM зростала на 25-30% при незначному зниженні вмісту IgA. Особливо виражені зміни імуноглобулінів були в окремих фракціях ДЕФ в ПААГ і виявлялись у зростанні кількості IgG у 2-3 рази в крупнопористому (КП) гелі, в якому він знаходиться у вигляді імунокомплексу з антитілами. Зростала також його кількість у фракціях 26-24 в 1,5-2 рази (комплекс IgG з мікробними антигенами), особливо при інфікованих виразках. Разом з тим значно зменшувалась кількість IgG в фракціях 23-21, де розміщені антитіла природного захисту, що вказувало на ослаблення напруження гуморального імунітету. Комплекс IgA з'являвся в КП гелі, хоча в нормі він розміщений від 23-15 фракцій ДЕФ в ПААГ при зниженні загальної його кількості, що вказувало на перехід сироваткового IgA у осередок запалення.

При розвитку і зростанні важкості гнійно-некротичного процесу (III-V ст. СДС) показники білків гострої фази та імуноглобулінів значно змінювались, наступало їх виснаження, особливо  $\alpha 2$ -макроглобулінів із значним зниженням вмісту сироваткового IgA. При лікуванні хворих з СДС I-II ст. у першій групі поряд з корекцією вмісту глюкози в плазмі місцево застосовували антисептичні розчини, проводили часткові некректомії, в комплексне лікування включали препарати  $\beta$ -ліпофолієвої кислоти, інгібітори протеаз, імуности-

norm of  $3.82 \pm 0.1\%$ . The number of capillary ansae of nail toruli undamaged by toes ulcers reduced 2-2.5 times to 6-8 (at the norm of 16-20 in the vision line).

While studying rheovasography results we noted a 20-30% reduction of rheographic index at retained, weakened pulsation in foot artery. The patients suffering from DFS of I-II stage were found to have changes of quantitative content of the acute phase proteins. We noted an increase of  $\alpha 1$ -antitrypsin up to  $2.92 \pm 0.41\%$  (at the norm of  $2.11 \pm 0.38\%$ ), ceruloplasmin rise up to  $2.8 \pm 0.3\%$  (at the norm of  $1.52 \pm 0.54\%$ ), a two-fold fibrinogen increase at a dramatic reduction of  $\alpha 1$ -lipoprotein and  $\alpha 1$ -acid glycoprotein amount ( $p < 0,05$ ). Quantitative content of transferrin decreased down to  $8.96 \pm 0,40\%$  at the norm of  $10.38 \pm 0.47\%$ . Pre-albuminous and albuminous fractions moderately reduced, pointing to hypoalbuminemia. The contents of inhibitor of proteases  $\alpha 2$ -macroglobulin considerably increased and was  $3.98 \pm 0.36\%$  at the norm of  $2.80 \pm 0.42\%$ .  $\beta$ -lipoprotein increase by 60-70% was also noted. All this indicated to considerable changes of body homeostasis in the organism with the weakening of antioxidative protection system. When studying the indices of these patients' humoral immunity, the total amount of IgG, IgM increased by 25-30% at a slight decrease of IgA content. Specifically manifested immunoglobulin changes were seen in separate fractions of DEF in PAAG and were manifested by 2-3 times' increase of IgG amount in macro-porous gel, where immunocomplex with antibodies was presented. Its amount in fractions 26-24 also increased by 1,5-2 times (the IgG complex with microbic antigens) especially at infectious ulcers. Also, IgG amount in fractions 23-21, where the antibodies of natural defense are situated, was considerably decreased, and this pointed out to the weakening of humoral immunity tension. IgG appeared in macro-porous gel, though normally it is located in fractions 23-15 of DEF in PAAG while lowering its total amount, and it pointed out to transition of serous IgA into the inflammation focus.

With the spreading and getting severe of of pyonecrotic process (DFS of III-V grade) the indices of acute stage proteins and immunoglobulins changed considerably, their exhaustion started, especially of  $\alpha 2$ -macroglobulins with considerable fall of serous IgA content. When treating the patients suffering from DFS of I-II grade in the first group along with glucose content correction in plasma we locally applied antiseptic solutions, there were also performed partial necrectomies, the preparations of  $\beta$ -lipopholic acid, inhibitors of proteases, immunostimulators, etc., included into a complex treatment. Treatment term lasted  $3.2 \pm 5.2$  days up to the complete wound process epithelization. Six patients suffering from I-II grade DFS (Group 2) for 10 days we intramuscularly injected



мулятори та ін. Термін лікування до повної епітелізації ранового процесу –  $32 \pm 5,2$  дні. У 6 хворих другої групи з СДС I-II ст. на тлі місцевого застосування антисептиків на протязі 10 діб вводили “Кріокорд-С” по 1 мл внутрішньом’язево. Уже з 3-4-ї доби було відмічено стабілізацію глікемічної кривої, значно зменшились альтерація тканин і кількість гнійних виділень. Більш чітко обмежувалось перифокальне запалення. На 6-8-у добу доза інсуліну була знижена на 20-25%, а з 10-ї доби на 30-35% при стабілізації глікемічних кривих та утриманні вмісту глюкози в плазмі крові на рівні 5,5-6,7 ммоль/л. На 7-10-у добу нами відмічено зменшення вмісту глікозельованого гемоглобіну до  $6,20 \pm 0,21\%$ . Кількість  $\alpha 1$ -антитрипсину та  $\alpha 2$ -макроглобіну на 8-10-у добу в порівнянні з першою групою достовірно зменшувалась ( $p < 0,05$ ) і мала тенденцію до подальшого зниження. У хворих 2-ї групи під впливом “Кріокорду-С” відмічено достовірне зменшення вмісту церулоплазміну та підвищення трансферину в порівнянні з контрольною групою. Кількість IgG у КП гелі хворих 2-ї групи зменшувалась майже в 2 рази, в той час як в контрольній групі його вміст залишався високий. Під дією “Кріокорду-С” зменшувалась кількість комплексів IgG з мікробними антигенами (фракція 26-24). Кількість IgA наближалась до норми.

Заживлення поверхневих виразок під дією “Кріокорду-С” наступало вже на 12-14-у добу, в той час як при використанні традиційної терапії на 18-20-у добу. При наявності інфікованих виразок з ураженням підшкірної основи (II ст. СДС) очищення виразок наступало до 8-10-ї доби, в контрольній групі – 14-16-ї доби, а повна епітелізація – на 19-21-у добу (в контрольній групі 30-34 доба).

При III ст. СДС (14 хворих) з глибокими гнійно-некротичними процесами підошовного простору, піхв сухожилків, кісток, мілких суглобів в обох групах виконували розкриття та дренивання гнійників, некретомії, економні ампутації, застосовували антибіотики широкого спектра дії, дезінтоксикаційну терапію. У 5 хворих (друга група), крім вищевказаних процедур, використовували внутрішньовенне введення по 1 мл “Кріокорду-С” протягом 10 діб. Вже з 4-5-ї доби значно зменшились (в порівнянні з контролем) перифокальне запалення тканин та їх набряк, симптоми загальної інтоксикації, покращились показники формули крові, достовірно знизився індекс інтоксикації, визначений за Кальф-Каліфом [6] ( $p < 0,05$ ). На 8-9-у добу кількісний вміст  $\alpha 1$ -антитрипсину, фібриногену, церулоплазміну та  $\alpha 2$ -макроглобуліну достовірно зменшився на 35-40%, зросла кількість трансферину, а кількість  $\beta$ -ліпопротеїну знизилась з  $4,08 \pm 0,42$

1 ml of “Cryocord-C” on the background of the local use of antiseptics. Since the 3<sup>rd</sup>-4<sup>th</sup> day we noticed glycaemic curve stabilization, the alterations of tissues and amount of purulent discharge considerably reduced. Perifocal inflammation localized more clearly. By the 6<sup>th</sup>-8<sup>th</sup> day the daily dose of insulin was reduced by 20-25% and by 30-35% since the 10<sup>th</sup> day during glycaemic curve stabilization and the retaining of glucose content in blood plasma at the level of 5.5-6.7 mol/l. By the 7<sup>th</sup>-10<sup>th</sup> we noticed glycosylic hemoglobin reduction down to  $6.20 \pm 0.21\%$ . The amount of  $\alpha 1$ -antitrypsin and  $\alpha 2$ -macroglobulin by the 8<sup>th</sup>-10<sup>th</sup> day considerably decreased comparing to the first group ( $p < 0.05$ ) and tended to future reduction. Under the effect of “Cryocord C” there was noted a statistically significant decrease of ceruloplasmin amount, as well as transferrin increase comparing to the control group. The amount of IgG in macroporous gel was twice lower, while its content in the control group remained to be high. Under the effect of “Cryocord C” the amount of IgG complexes with microbic antigens (Fraction 26-24) reduced. The number of IgA was getting closer to the norm. Ulcers surface healing after “Cryocord C” had already started by the 12<sup>th</sup>-14<sup>th</sup> day, while at a conventional therapy it normally occurs only by the 18<sup>th</sup>-20<sup>th</sup> day. In the presence of infected ulcers with damaged hypodermic base (II grade DFS) the clearing of ulcers started by the 8<sup>th</sup>-10<sup>th</sup> day; the 14<sup>th</sup>-16<sup>th</sup> day in the control group, and overall epithelization occurred by the 19<sup>th</sup>-21<sup>st</sup> day (30<sup>th</sup>-34<sup>th</sup> day in the control group).

At III stage DFS (14 patients) with deep pyonecrotic processes of the sole area, sheathes of tendon, shoal joints bones, the opening and draining of abscesses, necrectomies, economic amputations were performed in both groups, there was also used the wide action range antibiotics and detoxification therapy. Five patients (the second group) in addition to the mentioned above were intravenously injected with 1 ml of “Cryocord-C” during 10 days. Even since the 4<sup>th</sup>-5<sup>th</sup> day a considerable reduction of perifocal inflammation in tissues and edema were observed comparing to control, phenomena of the entire intoxication reduced considerably comparing to the control, blood formula indices improved, intoxication index determined according to Kalf-Kalif [6] ( $p < 0,05$ ), significantly decreased. By the 8<sup>th</sup>-9<sup>th</sup> day the quantitative contents of  $\alpha 1$ -macroglobulin considerably decreased by 35-40%, the amount of transferrin increased and  $\beta$ -lipoprotein amount was reduced  $4.08 \pm 0.42\%$  down to  $3.74 \pm 0.40\%$ . By the 12<sup>th</sup>-14<sup>th</sup> day the wound purified, granular tissues appeared, while in the control group the exudative process alteration kept until the 20<sup>th</sup>-22<sup>nd</sup> day. As for glucose amount in blood plasma, its correction by insulin in the 1<sup>st</sup> group patients required permanent increase of the daily dose up to disappea-

до лікування до  $3,10 \pm 0,34$ , в контрольній групі – до  $3,74 \pm 0,40$ . На 12-14-у добу рани очистились, з'явилися грануляційні тканини, у контрольній групі фаза альтераційно-ексудативного процесу продовжувалась до 20-22-ї доби. Щодо вмісту кількості глюкози в плазмі крові, то у хворих першої групи корекція його інсуліном вимагала постійних змін в бік зростання добової дози до зникнення явищ інтоксикації (20-22 доба). У другій групі хворих з 5-6-го дня доза інсуліну була стабільною, а з 12-14-го дня вона поступово знижувалася і вже на 20-22-у добу – на 25-30%. У 3-х хворих, які отримали “Кріокорд-С”, була виконана ампутація пальців і метатарзальних кісток з накладанням первинного шва. Рани загоїлися первинним натягом.

У 33 хворих на ЦД I і II типу з IV-V ст. СДС з розповсюдженим гнійно-некротичним ураженням усіх складових тканин стоп хворих для підготовки до економних ампутацій стопи або високих ампутацій стегна з перших днів проводили масивну дезінтоксикаційну терапію із застосуванням дезагрегантів, внутрішньовенного введення антибіотиків широкого спектра дії (цефалоспоринів, синтетичних пеніцилінів, препаратів метронідазолу, абактал), ретельною корекцією вмісту глюкози в плазмі крові, внутрішньовенним і підшкірним введенням інсуліну. У 9 хворих протягом 3-х днів до операції та до 7 днів після операції (всього 10 уведень) застосовували препарат “Кріокорд-С”, який вводили по 2мл на 200 мл 0,9% розчину хлориду натрію внутрішньовенно. Клінічними проявами IV-V ст. СДС була мокнуча гангрена 1-5 пальців з деструкцією кісток фаланг і плюсни, у частини з них була виражена остеомалія мілких кісток передплюсни. У 85-90% хворих відмічали значний невропатичний набряк гомілок. У 50% з них було атеросклеротичне ураження магістральних артерій стоп, гомілки та стегна. У всіх цих хворих відмічали виражену загальну інтоксикацію з суттєвими змінами в формулі крові, гіпохромною анемією, високим індексом інтоксикації до  $9,6 \pm 0,5$  при нормі  $0,8 \pm 0,2$ , значне виснаження природних інгібіторів протеаз фібринолітичної системи:  $\alpha 1$ -антитрипсину до  $1,3 \pm 0,22$  та  $\alpha 2$ -макроглобуліну до  $1,6 \pm 0,18$ , що сприяло підсиленню тромбування мікро- та макроциркуляторного русла стопи і виникненню гангрен. Значно пригнічувалось вироблення трансферину та різко збільшувалась кількість  $\beta$ -ліпопротеїдів. Незважаючи на інтенсивну терапію та виконання економних ампутацій у 3-х хворих першої групи, зупинити процес на рівні стопи не вдалось: їм була виконана висока ампутація стегна з летальним наслідком у 2-х хворих. У 9 хворих другої групи при застосуванні “Кріокорду-С” на тлі комплексного хірургічного лікування уже на 7-8-у добу вдалось обмежити

range of intoxication effects (the 20<sup>th</sup>-22<sup>nd</sup> day). At the same time insulin dosage was stable in the main group since the 5<sup>th</sup>-6<sup>th</sup> day, and since the 12<sup>th</sup>-14<sup>th</sup> day the correction of a daily dose had gradually been reduced, whilst by the 20<sup>th</sup>-22<sup>nd</sup> day it reduced by 25-30%. Three patients after “Cryocord C” preparation underwent an amputation of toes and metatarsal bones with applying a primary suture. The wounds healed by the initial tension.

At the DFS of IV-V stage with explained pyonecrotic wounds of all the constituent tissues of feet in both groups (33 patients) in order to prepare to either economic amputations of feet or high amputations of thighs, since the first days there was accomplished a massive detoxication therapy with the use of desaggregants, intravenous introduction of wide action range antibiotics (cephalosporins, synthetic penicillin, metronidazole, abactal), accurate correction of glucose content in blood plasma, intravenous and hypodermic introduction of insulin. Nine patients were intravenously injected with “Cryocord C” in the volume of 2 ml per 200 ml of 0,9% sodium chloride solution 3 days prior to the operation and up to 7 days after it (10 injections totally). Clinical manifestations of the IV-V grade DFS was a moist gangrene of 1-5 toes with the destruction of the phalanx bones and metatarsus, part of which had manifested osteomalasia of the shoal bones of anterometatarsus. 85-90% of patients had a considerable neuropathic edema of shin. 50% of them had an atherosclerotic wound of magistral arteries of feet, shins and thighs. General intoxication with the considerable changes in blood formula, hypochromatic anemia, high intoxication index to  $9.6 \pm 0.5$  at the norm of  $0.8 \pm 0.8$  was noted in all these patients, which were noticed to have a considerable exhaustion of natural inhibitors of proteases of fibrinolytic system:  $\alpha 1$ -antitrypsin to  $1.3 \pm 0.22$  and  $\alpha 2$ -macroglobulin to  $1.6 \pm 0.18$ , that influenced intensification of thrombosis in micro- and macrocirculatory flow in foot and caused gangrene. Production of transferrin was greatly suppressed and the number of  $\beta$ -lipoprotein dramatically increased. Despite the intense therapy and economic amputations in 3 patients of the first group, we failed to stop the process on the level of foot. There was performed a high amputation of a thigh with the lethal result in 2 patients. In 9 patients of the second group while using the preparation at the background of complex surgical treatment we managed to achieve the process localization at the level of foot by the 7<sup>th</sup>-8<sup>th</sup> day already. Shin edema and general intoxication greatly decreased, there was also noticed the improvement of blood indices with the increase in erythrocytes number, intoxication index reduction down to  $2.6 \pm 0.4$ , inflammatory-necrotic changes and edema remained at the level lower than one third of the shin and the patient underwent the amputation of limb

процес на рівні стопи. Значно зменшились набряк гомілки, показники загальної інтоксикації, покращились показники крові зі збільшенням кількості еритроцитів, зниженням індексу інтоксикації до  $2,6 \pm 0,4$ . У 1 хворого запально-некротичні зміни і набряк утримувались на рівні нижньої третини гомілки і йому було виконано ампутацію кінцівки за Грітті-Шимановським з подальшим функціональним протезуванням. Препарат "Кріокорд-С" значно покращив корекцію метаболічного синдрому. Так, вже з 7-8-ї доби стабілізувались показники глікемічної кривої, значно зменшився вміст церулоплазміну та зріс показник трансферину ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з контролем, тобто покращилась функція системи антиоксидантного захисту, достовірно збільшився вміст  $\alpha 1$ -антитрипсину та  $\alpha 2$ -макроглобуліну, вміст фібриногену зменшився вдвічі. Покращились показники гуморального імунітету, що виражалось у зменшенні кількості імунокомплексів IgG, збільшенні кількості IgA, а вміст IgM наближався до норми. Уже на 15-18-у добу фаза ексудації ранового процесу переходила в фазу проліферації з появою на 24-26-у добу вінчика епітелізації рани. У той же час у контрольній групі ці фази перебігали в'яло, вимагали декількох разових некретомій, розкриття гнійних кишень, їх дренажування, грануляція починалась з 28-30-ї доби.

### Висновки

Синдром діабетичної стопи проявляється не тільки місцевими трофічними і гнійно-некротичними процесами, а й важким порушенням метаболічного процесу бодіомеостазу: нестабільність вмісту глюкози в плазмі крові, інсулінорезистентність, пригнічення природних інгібіторів протеаз, фібринолітичної системи  $\alpha 1$ -антитрипсину,  $\alpha 2$ -макроглобуліну, зростання кількості фібриногену, значні зміни гуморального імунітету, що вимагає корекції при комплексному хірургічному лікуванні.

Препарати кріоконсервованої сироватки кордової крові "Кріокорд-С" має стабілізуючий ефект метаболічних змін, сприяє покращенню репаративних процесів, прискорює перебіг фаз ранового процесу та загоєння ран.

### Література

1. *Берегова Ю.П.* Порівняльний вплив "Кріокорду-С" і біотриту в профілактиці патології органів репродуктивної системи // Трансплантологія.– 2003.– Т. 4, №1.– С. 53-54.
2. *Гольцев А.Н., Калиниченко Т.А.* Пуповинная кордовая кровь человека, как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть I. Характеристика гемопоэтического потенциала // Пробл. криобиологии.– 1998.– №1.– С. 3-24.
3. *Грищенко В.І.* Фундаментальні дослідження і нові біотехнології одержання клітинних і тканинних алотрансплантатів // Трансплантологія.– 2003.– Т. 4, №1.– С. 12-15.
4. *Берегова Ю.П.* Comparative study of Cryocord C and biotrite in prophylactics of reproductive system organs pathology // Transplantologiya.– 2003.– Vol. 4, N1.– P. 53-54.
5. *Goltsev A.N., Kalinichenko T.A.* Human cord blood as a source of hematopoietic cells for their clinical use. Part I. Characteristics of hematopoietic potential // Problems of Cryobiology.– 1998.– N2.– P. 2-21.
6. *Grischenko V.I.* Fundamental studies and novel biotechnologies for cell and tissue allograft procurement // Transplantologiya.– 2003.– Vol.4, N1.– P. 12-15.
7. *Grischenko V.I., Prokopyuk O.S.* Perspectives and possibilities for placental blood use // Meditsinskie vesti.– 1997.– N4.– P. 26-27.
8. *Efrimov A.S., Skrobonskaya N.A., Tkach S.N., Sakalo E.A.* Insulinotherapy of Diabetes mellitus patients.– Kiev: Zdorovya, 2000.– 246 p.
9. *Kalf-Kalif Ya.Ya.* On the leycocyte index of the author and its practical purpose.– Author's abstract of the thesis of candidate of medical sciences.– Kharkov, 1950.– 16 p.
10. *Korpachov V.V.* Insulin and insulinotherapy.– Kiev: Triumph, 2001.– 454 p.

### Conclusions

Diabetic foot syndrome is revealed not only by local trophic and pyo-necrotic processes but also by severe metabolic process impairments of body homeostasis, manifested in unstable content of blood plasma glucose, insulin resistance, suppression of natural inhibitors of proteases, fibrinolytic system  $\alpha 1$ -antitrypsin,  $\alpha 2$ -macroglobulin, fibrinogen increase, considerable changes of humoral immunity, but it also requires their correction by complex surgical treatment.

"Cryocord C" cryopreserved cord blood serum preparation promotes stabilization of metabolic changes and helps in reparative processes, accelerates the course wound process phases and healing.

### References

4. Грищенко В.И., Прокопюк О.С. Перспективы и возможности использования плацентарной крови // Мед. вести.– 1997.– №4.– С. 26-27.
5. Ефримов А.С., Скробонская Н.А., Ткач С.Н., Сакало Е.А. Инсулинотерапия больных сахарным диабетом.– Киев: Здоров'я, 2000.– 246 с.
6. Кальф-Калиф Я.Я. О лейкоцитарном индексе автора и его практическом значении: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.– Харьков, 1950.– 16 с.
7. Корпачов В.В. Инсулин и инсулинотерапия.– Киев: Триумф, 2001.– 454 с.
8. Ліпіна О.В., Прокопюк О.С., Оченашко О.В., Прокопюк В.Ю. До питання створення препарату "Кріокорд-С" // Трансплантологія.– 2003.– Т. 4, №1.– С. 36-38.
9. Турчин І.С., Ларін О.С., Дроздович І.І., Сидоренко Л.М. Трансплантація клітин та тканин в Україні // Трансплантологія.– 2003.– Т. 4, №1.– С. 190-192.
10. Amos A.F., Mc Carthy D.J., Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complication: estimates and projections to the years 2010 // Diabet. Med.– 1997.– Vol. 14., Suppl. 5.– P. 1-85.
11. Boulton A.J.M., Connor H., Cavanagh P. The Foot in Diabetes.– J. Wiley Sons Inc., 2000.– 364 p.
8. Lipina O.V., Prokopyuk O.S., Ochenashko O.V., Prokopyuk V.Yu. Towards the question of "Cryocord C" preparation production // Transplantologiya.– 2003.– Vol.4, N1.– P.36-38.
9. Turchin I.S., Larin O.S., Drozdovich I.I., Sidorenko L.M. Cell and tissue transplantation in Ukraine // Transplantologiya.– 2003.– Vol. 4, №1.– P. 190-192.
10. Amos A.F., Mc Carthy D.J., Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complication: estimates and projections to the years 2010 // Diabet. Med.– 1997.– Vol. 14., Suppl. 5.– P. 1-85.
11. Boulton A.J.M., Connor H., Cavanagh P. The Foot in Diabetes.– J. Wiley Sons Inc., 2000.– 364 p.

*Accepted in 4.01.2005*

*Надійшла 4.01.2005*