

Влияние экстракта плаценты человека и криопротекторов на сохранность мембраны фибробластов человека

Л.Г. АБРАФИКОВА, Е.Д. РОЗАНОВА, И.П. ВЫСЕКАНЦЕВ, О.А. НАРДИД
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Human Placenta Extract and Cryoprotectants on Human Fibroblast Membrane Integrity

L.G. ABRAFIKOVA, E.D. ROZANOVA, I.P. VYSEKANTSEV, O.A. NARDID
*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine*

Водно-солевой экстракт плаценты человека (ЭПЧ) характеризуется высоким содержанием биологически активных веществ, которые могут оказывать стабилизирующее действие на мембраны различных клеток, повышать их осмотическую устойчивость. Обязательными условиями для использования криопротекторов при криоконсервировании различных клеток являются проверка их токсичности, подбор концентраций, обеспечивающих криозащитный эффект и процесс введения их в клеточную суспензию.

Изучена сохранность фибробластов, полученных из кожных биоптатов человека, после введения 50% растворов криопротекторов ДМСО, 1,2-пропандиола и глицерина до конечной их концентрации 10%. Установлено, что все криопротекторы при таком способе их введения вызывают повреждения клеток. Наименьшее количество разрушенных клеток наблюдали после добавления ДМСО, наибольшее – глицерина.

Влияние ЭПЧ на фибробласты человека оценивали по двум показателям – по образованию формазана и по определению осмотической устойчивости. При экспозиции фибробластов в течение двух часов с ЭПЧ в клетках в 1,5 раза возрастало количество формазана, который образуется из хлорида-тетразолия. Это свидетельствует о повышении активности ферментных систем клеток, связанных с митохондриальными и микросомальными (цитозольными) электронно-транспортными системами.

Установлено, что с фибробластами преимущественно связываются белки, входящие в состав ЭПЧ. После экспозиции фибробластов с ЭПЧ при последующем внесении 50%-го раствора ДМСО до конечной концентрации 10% количество разрушенных клеток уменьшалось с 33 до 14%.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспозиция фибробластов с ЭПЧ повышает их осмотическую устойчивость по отношению к ДМСО и активизирует обменные процессы в клетках. Это позволяет рекомендовать применение экстрактов плаценты в протоколах криоконсервирования различных клеточных суспензий.

Aqueous-saline human placenta extract (HPE) is characterized with a high content of biologically active substances, capable of rendering stabilizing effect on membranes of various cells, increasing their osmotic resistance. The mandatory conditions of the use of cryoprotectants during cryopreservation of different cells are the testing for their toxicity, selecting of the concentrations, providing the cryoprotective effect and the process of introducing them into cell suspension.

There was studied the integrity of fibroblasts derived from human skin bioplates after the introduction of 50% cryoprotective solutions of DMSO, 1,2-propane diol and glycerol up to final concentration 10%. It has been established that all cryoprotectants during such a way of introduction cause cell damages. The lowest amount of destroyed cells was observed after adding DMSO, the highest was found with glycerol.

Effect of HPE on human fibroblasts was assessed using two parameters: formation of formazane and osmotic resistance. During exposure of fibroblasts for 2 hrs with HPE in cells in 1.5 times enhanced the amount of formazane, which is formed from tetrasolium chloride. This testifies to a rise in activity of enzyme systems of cells, related to mitochondrial and microsomal (cytosole) electron-transport systems.

It has been found out that in the majority the proteins being the components of HPE are bound with fibroblasts. After exposure of fibroblasts with HPE with following introduction of 50% DMSO under final concentration of 10% the number of destroyed cells decreased from 33 to 14%.

The obtained results testify that the exposure of fibroblasts with HPE increases their osmotic resistance in respect of DMSO and activates the exchange processes in cells. This enables the recommending of the use of placenta extracts in the cryopreservation protocols for different cell suspensions.