

Влияние замораживания на антиагрегационные свойства экстрактов плаценты

М.А. Вакарчук

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Influence of Freezing on Placenta Extract Anti-Aggregation Properties

M.A. Vakarchuk

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

Плацента человека содержит большое количество биологически активных веществ, которые определяют перспективу использования плаценты и ее экстрактов. Экстракты плаценты человека (ЭПЧ) обладают противовоспалительными, иммуностимулирующими, репаративными и другими терапевтическими свойствами. В последние годы для оценки биологической активности различных веществ часто используются результаты их влияния на отдельные клетки. Например, снижение уровня агрегации тромбоцитов, вызванной адреналином, связывают с противовоспалительным действием лекарственных препаратов. Существенными ограничениями для использования тканей плаценты является короткий срок хранения из-за развивающегося, даже в условиях гипотермии, аутолиза, а также изменение в связи с этим состава и свойств экстрактов. Применение методов низкотемпературного хранения позволяет расширить перспективы использования ткани плаценты в медицине. Однако процессы замораживания-оттаивания, а также низкотемпературного хранения могут приводить к значительной трансформации свойств биологических объектов вследствие конформационных изменений макромолекул, а также повреждения клеток ткани.

В данной работе было исследовано влияние замораживания-оттаивания на способность экстрактов плаценты снижать агрегацию тромбоцитов.

ЭПЧ получали из плацент (срок беременности 40 недель) от рожениц с их информированного согласия; плазму, богатую тромбоцитами, получали из цельной крови доноров-мужчин (A β (II) Rh⁺) путем центрифугирования в течение 15 минут при 100g; эритроциты человека – из цельной донорской крови (мужчины AB (II) Rh⁺) с помощью центрифугирования и отмывания физиологическим раствором.

Для исследования влияния ЭПЧ на степень агрегации тромбоцитов плазму, богатую тромбоцитами, инкубировали в течение 10 мин с ЭПЧ (из свежей плаценты и плаценты после замораживания-оттаивания) или отдельными фракциями при температуре 37°C. После чего к экспериментальным образцам добавляли адреналин в концентрации 5 мМ. Уровень агрегации тромбоцитов определяли спектрофотометрически на длине волны 650 нм.

Установлено, что замораживание до –20 и –196°C и последующее оттаивание не приводило к потере свойств ЭПЧ и отдельных фракций снижать степень агрегации тромбоцитов по сравнению со свежим экстрактом. Кроме того, были выявлены фракции экстракта с указанными свойствами.

Human placenta and its preparations are of prospect for application in clinical practice due to a high concentration of bio-active substances. Human placenta extract (HPE) is known to have anti-inflammatory, immune-stimulating, reparative as well as other therapeutic properties. Different biological models are used in order to assess biological activity of various bioactive substances. Among them is the reducing of platelet adrenalin induced aggregation may testify to anti-inflammatory effect of the preparation. A major barrier for clinical usage of placental material appears to be a short admissible period of time between procurement and application of the material, due to autolysis occurring even under hypothermic storage of the tissue, as well as following changes in composition and properties of the extracts. Application of low temperature preservation would allow to widen the prospects of application of placenta tissues. However, freeze-thawing process as well as low temperature storage may lead to significant alterations of biological object properties due to macromolecule conformational changes and tissue cell damage.

The research aim was to investigate the freeze-thawing influence on ability of HPE to reduce platelet aggregation.

HPEs were obtained from placentas (40 weeks of gestation term), derived from maternity patients after their informed consent. Platelet rich plasma was procured from whole blood of male donors (A β (II) Rh⁺) by means of centrifugation at 100g during 15 min. Human erythrocytes were obtained from whole donor blood (male AB (II) Rh⁺) by centrifugation and washing with physiological solution.

In order to investigate the effect of HPE on platelet aggregation, platelet rich plasma was incubated for 10 min with HPE (from fresh or frozen-thawed placenta) or its isolated fractions at 37°C. Thereafter the specimens were supplemented with adrenalin of 5 μ M concentration. Level of platelet aggregation was measured spectrophotometrically at 650 nm.

It was found that freezing down to –20°C and –196°C and following thawing did not change the ability of HPE and separate fractions to decrease the platelet aggregation comparing to the fresh extract. The extract fractions possessing such properties have been found.

