

Вплив низьких температур на біологічно активні сполуки вартонієвого студня пуповини людини

Д.С. Горбатовська², О.В. Фалько¹, О.О.Терехова¹, В.Ю. Прокопюк¹

¹Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України

²Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

Effect of Low Temperatures on Biologically Active Compounds of Human Umbilical Cord Wharton's Jelly

D.S. Horbatovska², O.V. Falko¹, O.O.Terekhova¹, V.Yu. Prokopyuk¹

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine

²V.N. Karazin Kharkiv National University

Інтрадермальне введення біологічно активних сполук – одна з сучасних методик омолодження шкіри людини. На теперішній час вибір високоефективних та комплексних препаратів для мезотерапії є дуже обмеженим. До складу вартонієвого студня пуповини людини (ВСПЛ) входять гіалуронова кислота (більше 70%), колаген, глікозаміно-глікани, статеві гормони, ферменти, вітаміни, мікроелементи, які здатні позитивно впливати на відновлювальні процеси в шкірі та на організм, який старіє [О. Маслова, 2016]. Кріогенні технології дозволяють отримувати комплекс біологічно активних речовин ВСПЛ і проводити його всебічне тестування, що є необхідною умовою для використання в клініці.

Мета роботи – визначення впливу низьких температур на збереженість есенціальних сполук ВСПЛ для розробки способу отримання його кріоекстракту і подальшого використання в якості препарату для мезотерапії вікових змін.

Матеріалом досліджень були фрагменти пуповини, одержані з інформованої згоди породіллі. Фрагменти пуповини звільнювали від судин, амніотичної оболонки, подрібнювали, поміщали в кріопробірки об'ємом 1,8 мл, після чого заморожували до -20°C і зберігали впродовж трьох діб. Зразки відігрівали на водяній бані (40°C), фрагменти гомогенізували, додавали фосфатно-сольовий буфер та на годину залишали при 4°C для екстракції. Гомогенат ВСПЛ тричі центрифугували і пропускали через нейлоновий фільтр. Отриманий розчин («кріоекстракт ВСПЛ») стандартизували за вмістом гіалуронової кислоти, розводячи фосфатно-сольовим буфером до 1%-ої концентрації названої речовини. Вплив низьких температур на склад кріоекстракту ВСПЛ визначали за такими показниками, як вміст загального білка, глюкози, сероомукоїдів, рівень естрадіолу і пролактину та порівнювали з екстрактом із нативної тканини.

Виявлено, що заморожування фрагментів пуповини до -20°C не впливає на вміст досліджуваних сполук. У кріоекстракті ВСПЛ концентрація загального білка складала $(0,12 \pm 0,02)$ г/л, глюкози – $(2,5 \pm 0,1)$ ммоль/л, сероомукоїдів – $(0,42 \pm 0,06)$ од. S-H, естрадіолу – (2941 ± 87) пг/мл, пролактину – (1971 ± 51) мМОд/л, що практично відповідало показникам екстракту нативної тканини.

У перспективі планується дослідити вплив наднизьких температур, тривалого низкотемпературного зберігання на збереженість кріоекстракту ВСПЛ та визначити його ефективність в якості препарату для інтрадермального введення при інволютивних змінах в експерименті (у щурів пізнього онтогенезу та молодих овариєктомованих самиць).

Intradermal injection of bioactive compounds is one of the current methods of human skin rejuvenation. To date the choice of highly efficient and comprehensive drugs for mesotherapy is very restricted. The human umbilical cord Wharton's jelly (HUCWJ) comprises hyaluronic acid (70%), collagen, glycosamino-glycans, hormones, enzymes, vitamins, trace elements, which are able to positively influence the regenerative processes in skin and aging organism [O. Maslov, 2016]. Cryogenic methods allow the obtaining of a set of biologically active substances of HUCWJ and enable its in-depth testing, which is a prerequisite to be used in clinic.

The research aim was to determine the effect of low temperatures on preservation of essential compounds of HUCWJ, to develop the way of its cryoextract obtaining and subsequent use as a drug for mesotherapy of the age-related changes.

The fragments of umbilical cord obtained after the informed consent from women in labour were the research object. From the fragments of umbilical cord we have removed the vessels, amniotic membrane, then disintegrated and placed into 1.8 ml cryovials for slow freezing (down to -20°C), then stored within 3 days. After warming in a water bath (40°C) the samples were homogenized, phosphate-saline buffer was added and left for an hour at 4°C for extraction. Further the HUCWJ homogenate was three times centrifuged and filtered through a nylon mesh. The resulting cryoextract of HUCWJ was diluted with phosphate buffered saline to reach 1% solution of hyaluronic acid. Effect of low temperatures on the composition of the HUCWJ cryoextract was determined by the following indices content of total protein, glucose, seromuroids, level of estradiol and prolactin, and compared to the extract derived from native tissue.

It has been revealed that freezing of umbilical cord fragments down to -20°C did not affect the content of the substances. The HUCWJ cryoextract had total protein concentration of (0.12 ± 0.02) g/l, glucose content was (2.5 ± 0.1) mmol/l and (0.42 ± 0.06) units for seromuroids S-H, (2.941 ± 87) pg/ml for estradiol, (1.971 ± 51) mIU/l for prolactin, that virtually corresponded to the indices of freshly isolated tissue.

In future we are planning to investigate the effect of ultra low temperatures, long-term storage on preservation rate of HUCWJ cryoextract as well as to examine its efficiency as a drug for intradermal injection during involutive changes in the experiment (in rats of late ontogeny and young ovariectomized females).

