

Использование факторов роста BDNF и TGF1b для выбора способа замораживания амниотической оболочки плаценты человека и ее применения после антиглаукоматозной операции

Ю.А. ДЕМИН¹, В.В. РЯЗАНЦЕВ², И.Л. КАЗМИРУК¹, М.Ю. ДЕМИНА¹

¹Харьковская медицинская академия последиplomного образования

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Use of Growth Factors BDNF and TGF1b for Selection of Method for Freezing of Human Placental Amniotic Membrane and its Application after Glaucoma Surgery

YU.A. DEMIN¹, V.V. RYAZANTSEV², I.L. KAZMIRUK¹, DEMINA M.YU.¹

¹Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Существует ряд патологий органа зрения, связанных с глаукоматозными состояниями, при которых показан хирургический метод лечения. На послеоперационном этапе очень важно создать благоприятные условия для заживления шва и отсутствия осложнений. Одним из таких подходов является использование биологических тканевых покрытий послеоперационного дефекта, в частности амниотической оболочки плаценты человека (АОПЧ). Известно, что существуют иммунологические и биохимические предпосылки использования АОПЧ при хирургических операциях с целью коррекции глаукоматозных состояний: большое количество факторов клеточного роста (BDNF и TGF1b), минимальная иммуногенность АОПЧ.

Цель работы – установить наиболее благоприятный способ криоконсервирования АОПЧ, используя оценку проницаемости клеток по выходу факторов роста клеток BDNF и TGF1b в органе зрения на различных сроках наблюдения после антиглаукоматозной операции.

На модели глаукомы у лабораторных животных (кролики) и проведенной операции её коррекции в послеоперационный период использовали криоконсервированную АОПЧ (криоАОПЧ), замороженную при температуре жидкого азота простым погружением в азот или с помощью 10% ДМСО по специальному режиму замораживания. В результате наблюдения за послеоперационным швом в сроки 7, 14, 21 суток установлено, что криоконсервированная по специальной программе АОПЧ способствует сокращению послеоперационного восстановительного периода и формированию более мягкого шва. С целью оценки проницаемости клеток ткани криоАОПЧ после замораживания ее помещали в физиологический раствор, после чего измеряли выход факторов роста клеток BDNF и TGF1b в надсадок. Показано, что после использования специальной программы замораживания АОПЧ в 10% ДМСО кривая выхода факторов роста достигает максимума в более поздние сроки, что является доказательством большей сохранности клеток и структурной полноценности ткани АОПЧ после размораживания. Важно отметить, что по данным морфологии при этом также фиксируется хороший уровень сохранности клеток эпителия АОПЧ.

Измерение клеточных факторов роста BDNF и TGF1b в органе зрения лабораторных животных в месте операции после покрытия криоАОПЧ, замороженной в 10% ДМСО, показало их нарастание в срок до 7 суток и достаточно стабильный уровень на протяжении всего послеоперационного периода наблюдения до 21 суток. По сравнению с замороженной погружением в жидкий азот АОПЧ условия криоконсервирования криоАОПЧ в 10% ДМСО обеспечивают более высокую сохранность и жизнеспособность клеток эпителия.

There are a number of visual organ pathologies associated with glaucomatous states in which surgical treatment has been shown. At the postoperative period of importance is to create favorable conditions for suture adhesion and avoid the complications. One of such approaches is the application of biological tissue coverings of postoperative defect, in particular human amniotic membrane (HAM). It is known that there are immunological and biochemical backgrounds for use of HAM at surgeries to correct glaucomatous states: a large number of cell growth factors (BDNF and TGF1b), minimum immunogenicity of HAM.

Research aim was to determine the most appropriate method for HAM cryopreservation using the evaluation of cell permeability by releasing the cell growth factors BDNF and TGF1b in the visual organ of observation different terms after glaucoma surgery.

Using the model of glaucoma in laboratory animals (rabbits) and the performed operation of its correction in the postoperative period we applied cryopreserved HAM (cryoHAM) frozen at liquid nitrogen temperature by direct plunging into nitrogen or with 10% DMSO by special freezing regimen. As a result of observation for postoperative suture in the 7th, 14th, 21st days we have found that cryopreserved by special program HAM contributes to the reduction of post-operative recovery period and formation of softer suture. In order to evaluate the permeability of cryoHAM tissue cells after thawing it was placed into saline solution, then we measured the output of BDNF and TGF1b growth factors into the supernatant. After using special program for HAM freezing in 10% DMSO the curve of the yielding of growth factors was shown to achieve its maximum at later terms, which is proof of higher cell integrity and HAM tissue structural safety after thawing. It is important to note that according to the morphology data a high integrity level of HAM epithelial cells is also noted.

Measurement of BDNF and TGF1b cell growth factors in the visual organ of laboratory animals in the operation site after covering with cryoHAM frozen in 10% DMSO showed their growth in the period of 7 days and rather stable level throughout the postoperative follow-up to 21 days. Compared with frozen by plunging into liquid nitrogen cryoHAM in 10% DMSO provides higher integrity and viability of epithelial cells.