

ПОЛЯРИЗОВАНА ФЛУОРЕСЦЕНЦІЯ ЯК КРИТЕРІЙ ТЕХНОЛОГІЧНОГО КОНТРОЛЮ ВИГОТОВЛЕННЯ КСЕНОДЕРМОІМПЛАНТАТА

© Т. В. Бігуняк, А. В. Цимбалюк, В. С. Савчин

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”

РЕЗЮМЕ. Беручи до уваги результати аналізу люмінесцентного світіння клаптів шкіри свині як субстрату для виготовлення ксенодермоімплантата метод поляризованої флуоресценції пропонується як високочутливий та інформативний спосіб технологічного контролю на етапі консервування біосубстрату.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: поляризована флуоресценція, ксенодермоімплантат, технологія виготовлення.

Вступ. Лікування хворих із опіками значної площі на даний час здійснюється на принципових засадах поєднання ранньої некректомії із ксенодермопластиком ранового дефекту. Широке впровадження лікувальної технології дозволило забезпечити ефективно загоєння ран упродовж 14–16 діб незалежно від площі дефекту, прискорене формування грануляційної тканини на ділянках із глибокими опіками, істотне зменшення тяжкості перебігу опікової хвороби, скорочення тривалості лікування, зменшення летальності та значне покращення естетичних і функціональних наслідків [1–4].

Проте резерви біологічної активності ксенодермоімплантата як виробу медичного призначення залишаються далеко не вичерпаними. Так, все ще не з'ясовані питання взаємозв'язку глибинних структурно-функціональних перетворень у ксеношкірі в процесі її кріоліофілізації, що становить потенційне джерело нових знань у сфері технології виготовлення біоімплантата, з одного боку, і вирішення низки невідкладних практичних завдань щодо забезпечення ефективного тимчасового закриття ран – з іншого.

Мета. Вивчити зміни поляризованої флуоресценції ксеногенної шкіри залежно від технології виготовлення.

Матеріал і методи дослідження. Досліджували характер люмінесцентного світіння клаптів шкіри свині як субстрату для виготовлення ксенодермоімплантата у вигляді взірців поверхневого шкірного шару товщиною 0,3–0,4 мм, взятого у тварини безпосередньо після забою. Використовували клапти свіжої шкіри тварини, кріоконсервованої в рідкому азоті з попереднім зануренням у середовище кріопротектора, ліофілізовану свіжу і ліофілізовану після етапу кріогенного консервування. Вказані взірці вивчали методом люмінесцентного аналізу [5–8] з використанням поляризаційного мікроскопу МС-200, оснащеного відеосистемою. Про рівень біоенергетичних процесів у субстраті дослідних клаптів ксеношкіри робили висновки за динамікою показників інтенсивності їх флуоресценції. Спектральний аналіз висвічування клаптів ксеношкіри у поляризованому світлі здійснювали за допомогою фотоелектронної насадки ФМЕЛ-1 із програмним забезпеченням від

розробника — виробничо-комерційної фірми “Sumy Electron Optics” (м. Суми, Україна).

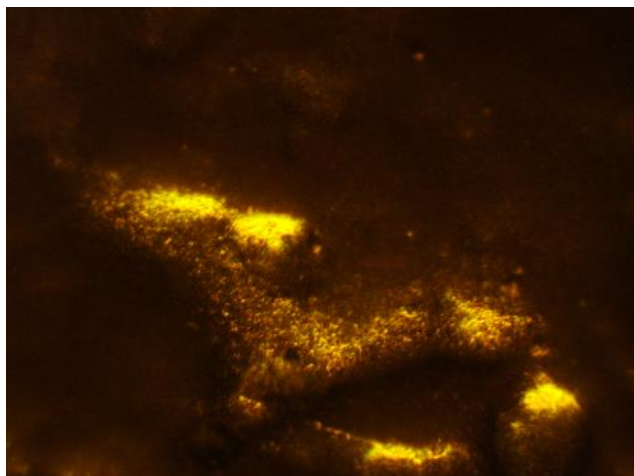
Результати й обговорення. З огляду на притаманне дермальному субстрату двоприменне світлозаломлення як прояв оптичної анізотропії, характер поляризованої флуоресценції взірців ксеношкіри є відображенням властивостей її як цільної структури з рідкокристалічними властивостями.

Візуальний (якісний) аналіз характеру флуоресценції взірців ксеношкіри виявив переважання частки довгохвильового (червоно-бурого) світіння у нативних (свіжих необроблених) і кріоконсервованих клаптів, на відміну від ліофілізованих і кріоліофілізованих, у спектрі світіння яких значна частка належить структурам із відносно довгою хвилею. Зниження рівня втраченої вільними електронами енергії у висушених ліофільним способом взірцях, де процеси метаболізму внаслідок відсутності води практично припинені, відображено вищим рівнем короткохвильового (яскраво-жовтого) світіння (рис.1,а,б,в).

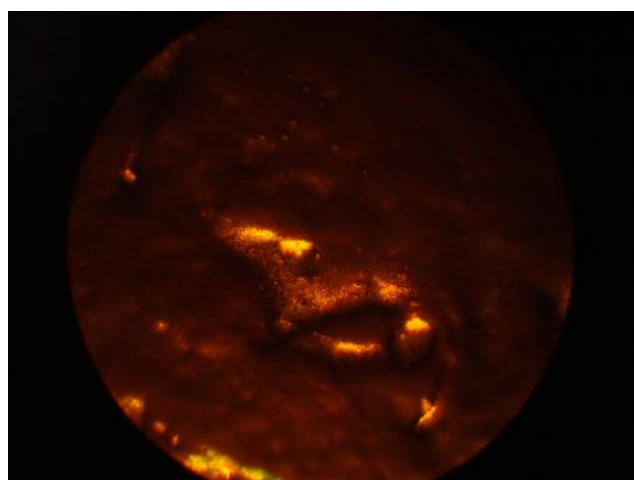
Зсув спектральної кривої вліво, тобто у довгохвильовий бік, як нативних, так і щойно заморожених взірців, є відображенням збереження в них відносно вищого рівня інтенсивності електронно-квантових процесів, індукованих впливом збуджених поляризованим світлом вільних електронів.

Результати якісного і кількісного люмінесцентного аналізу нативної (неконсервованої) ксеногенної шкіри, взятої від щойно забитої тварини, а також кріоконсервованої, ліофілізованої (без кріообробки) та кріоліофілізованої засвідчують залежність біофізичних властивостей ксеношкіри від характеру її технологічної обробки у процесі виготовлення дермоімплантата як виробу медичного призначення.

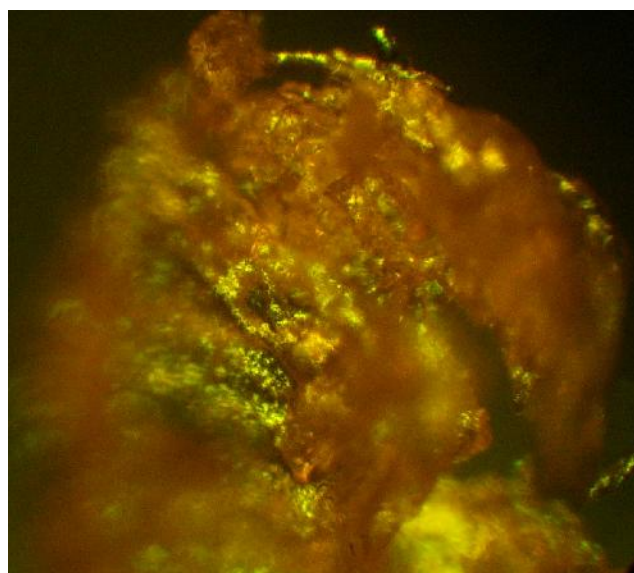
Наведене вище підтверджено результатами кількісного поляризаційно-флуоресцентного аналізу. Дослідження інтенсивності флуоресценції клаптів ксеношкіри виявило чітку залежність показника від характеру консервування. Так, якщо інтенсивність поляризаційної флуоресценції щойно взятої шкіри від забитої тварини складала (57,0±3,4) %, то показники світіння кріоконсервованого у рідкому азоті, ліофілізованого та кріоліофілізованого взірців склали: (72,0±4,1) %, (87,0±5,3) % і (99,0±5,7) % відповідно (рис. 2).



а

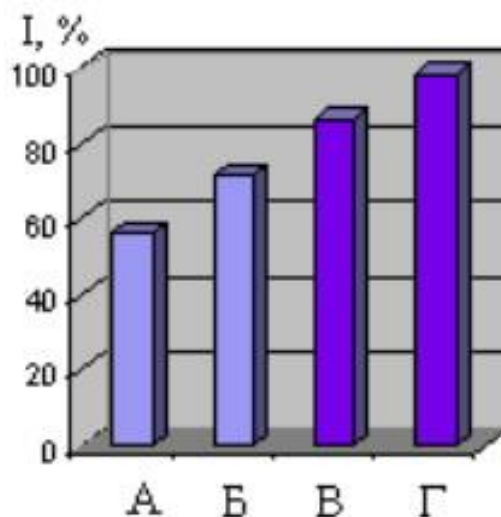


б



с

Рис.1. Поляризована флуоресценція клаптів шкіри свині залежно від технології консервування: а – криоконсервована у рідкому азоті; б – ліофілізована без попереднього криоконсервування; в – криоліофілізована.



А – свіжовзята нативна шкіра тварини;
Б – криоконсервована у рідкому азоті;
В – ліофілізована (без попереднього криоконсервування);
Г – криоліофілізована

Рис. 2. Інтенсивність поляризованої флуоресценції клаптів ксеношкіри за різних умов консервування.

Проте спектральний розподіл флуоресценції взятих на дослідження клаптів ксеношкіри мало залежить від виду консервування: відмінність спектральних кривих проявляється лише за інтенсивністю світіння у відповідних спектральних ділянках. (рис. 3). Це вказує на відсутність впливу застосованих для обробки ксеноклаптів фізичних чинників на конформаційні процеси в макромолекулах біоорганічного субстрату, яким є ксеногенна шкіра, а лише на характер перерозподілу в них внутрішньої енергії.

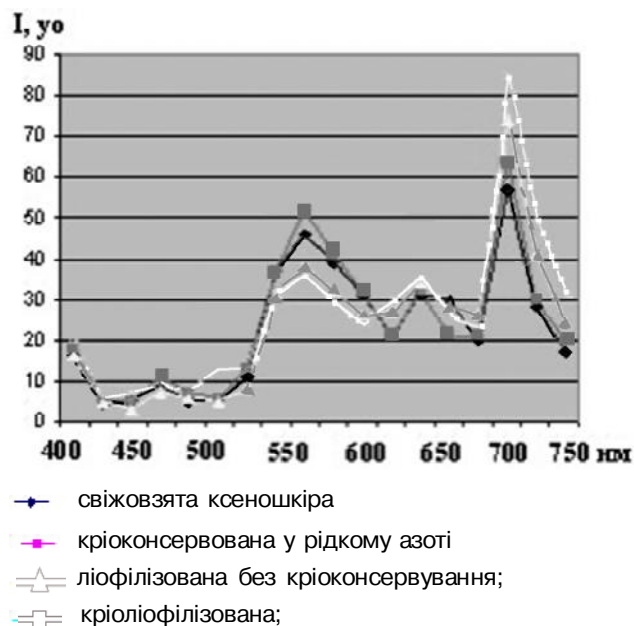


Рис. 3. Спектральна характеристика поляризаційної флуоресценції клаптів ксеношкіри.

Висновок. Картина поляризованої флуоресценції ксеношкіри є інформативно важливою характеристичною ознакою, що має значення при вирішенні низки завдань технології обробки ксеношкіри та виготовлення на її основі виробу медичного призначення з заданими властивостями.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати можуть стати підґрунтям для розробки та морфофункціонального обґрунтування нових методів лікування опікових ран.

ЛІТЕРАТУРА

1. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів у комбустіології : метод. рек. / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстяний, К. С. Волков та ін. – Тернопіль, 2003. – 22 с.

2. Алексеев А. А. Современные методы местного медикаментозного лечения обожжённых / А. А. Алексеев, А. Э. Бобровников, М. Г. Крутиков // Комбустіологія. – 2004. – Прил. – С. 128-129.

3. Шаповал О. В. Профілактика ранових ускладнень при ранньому хірургічному лікуванні хворих з глибокими опіками / О. В. Шаповал // Український медичний альманах. – 2004. – № 5. – С. 180-183.

4. Применение новых отечественных раневых покрытий для местного лечения ожоговых ран / А. Н. Новиченко, Т. П. Новикова, И. Н. Зеленко и др. // Скорая медицинская помощь. – 2006. – Т. 7, № 3. – С. 127-128.

6. Дем'яненко В.В. Люмінесцентна мікроскопія: методологія морфологічних досліджень нової доби / Дем'яненко В.В., Гуда Н.В., Волков Р.К. / Збірник тез науково-практ. конф.» // Прикладні аспекти морфології. Івано-Франківськ, 2010.- С. 48-51.

POLARIZED FLUORESCENCE AS A CRITERION OF XENOGRAFT PRODUCTION TECHNOLOGICAL CONTROL

©T. V. Bihuniak, A. V. Tsymbaliuk, V. S. Savchyn

SHEI "Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbchevsky of MPH of Ukraine"

SUMMARY. Taking into account the pig skin luminescence analysis results as a substrate for xenograft production polarized fluorescence method is proposed as a sensitive and informative method of process control at the stage of biosubstrate's preservation.

KEY WORDS: polarized fluorescence, xenograft, technology manufacturing.