

Применение дермальных криоконсервированных аллофибробластов на носителях для лечения экспериментальных кожных ран у крыс

Л.Г. АБРАФИКОВА, Т.Ф. ПЕТРЕНКО, О.В. ПИШКО

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Application of Dermal Cryopreserved Allofibroblasts on Carriers for Treatment of Experimental Skin Wounds in Rats

L.G. ABRAFIKOVA, T.F. PETRENKO, O.V. PISHKO

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

Возможное стимулирование репаративных процессов в раневых дефектах и очагах воспаления с помощью фибробластов остается актуальным вопросом.

Целью данной работы было изучение влияния криоконсервированных дермальных фибробластов крыс на скорость заживления кожных дефектов у экспериментальных животных на модели асептического воспаления кожи.

Аллофибробласты получали по существующим стандартным протоколам из эксплантатов дермы крыс. Суспензию полученных клеток криоконсервировали в эмбриональной сыворотке крупного рогатого скота под защитой ДМСО со скоростью охлаждения 1–2 град/мин до –40°C с последующим погружением в жидкий азот.

Асептическое воспаление кожи у экспериментальных животных моделировали путём подкожного введения 0,5 мл 9%-го раствора уксусной кислоты. На раневую поверхность суспензию клеток наносили на носителях: метилцеллюлозном (МЦ) геле и коллагеновой губке «Геласпон». О влиянии фибробластов на скорость репаративных процессов судили по динамике заживления дефектов, иммунологическим и биохимическим показателям сыворотки крови и гистологическим данным.

Процессы регенерации дефектов были более выражены у животных экспериментальных групп при нанесении на них препаратов криоконсервированных и нативных фибробластов, иммобилизованных в МЦ геле (группы 1, 2 соответственно), по сравнению с препаратами на губке «Геласпон» (группы 3, 4 соответственно). В группах 1 и 2 полное заживление наблюдали на 14-е сутки, а в группах 3 и 4 – на 21-е сутки.

При изучении гистологических данных на 7, 14 и 21-е сутки установлено, что в экспериментальных группах по сравнению с контрольной группой, в которой дефект заживал самопроизвольно, наблюдали более выраженное уменьшение фибринозно-некротического слоя, увеличение скорости формирования грануляционной ткани и нарастание эпителия на поверхности дефекта. О стимулирующем действии на репаративные процессы криоконсервированных и нативных фибробластов свидетельствовала динамика возрастания и восстановления до значений нормы концентраций показателей острой фазы воспаления в сыворотке крови крыс.

Таким образом, экспериментально показан терапевтический эффект криоконсервированных и нативных фибробластов крыс на носителях при лечении экспериментального кожного дефекта. Статистические различия между показателями репаративных процессов после применения криоконсервированных и нативных фибробластов отсутствуют. Скорость заживления раневых дефектов во всех группах коррелировала с данными гистологического анализа и показателями сыворотки крови крыс.

Potential stimulating reparative processes in wound defects and inflammation areas with fibroblasts has remained an actual problem.

The research aim was to study the effect of cryopreserved dermal rat fibroblasts on healing rate of skin defects in experimental animals in the model of aseptic skin inflammation.

Allofibroblasts were derived according to the standard protocols from explants of rat derma. Suspension of derived cells was cryopreserved in fetal bovine serum under protection of DMSO with the cooling rate of 1–2 deg/min down to –40°C with further plunging into liquid nitrogen.

Aseptic skin inflammation in experimental animals was modeled by subcutaneous introduction of 0.5 ml 9% acetate solution. Cell suspension was applied on wound surface on carriers such as: methylcellulose (MC) gel and collagen sponge Gelaspon. The effect of fibroblasts on rate of reparative processes was judged by dynamics of healing defects, immunological and biochemical indices of rat blood serum and histologic data.

Processes of defects regeneration were more expressed in the animals of experimental groups when applying the preparations of cryopreserved and native fibroblasts immobilized in MC gel (groups 1 and 2, accordingly) if compared with preparations in sponge Gelaspon (groups 3,4, accordingly). In groups 1 and 2 a complete healing was observed to the 14th day and in groups 3 and 4 to the 21st day.

When studying the histological data to the 7th, 14th and 21st day it was established that in experimental groups if compared with the control one, in which the defect was healed spontaneously we observed more expressed reduction of fibrous-necrotic layer, an increase of the rate of granulation tissue formation and epithelium growth on defect surface. Dynamics of increasing and recovery of normal concentration values of the indices of inflammation acute phase in rat blood serum testified to stimulatory effect on reparative processes of cryopreserved and native fibroblasts.

Thus, therapeutic effect of cryopreserved and native rat fibroblasts in the carriers when treating experimental skin defect was experimentally shown. Statistical differences between the indices of reparative processes after application of cryopreserved and native fibroblasts are absent. Healing rate of wound defects in all the groups correlated with the findings of histological analysis and indices of rat blood serum.