

swelling of the nuclei of the endothelial cells. The outer elastic membrane is thickened, irregularly tortuous. There is a decrease of the number of hemocapillaries in $1 \mu\text{m}^2$, compared with the norm. The number of hemocapillaries in one muscular fiber decreases. In the study of the venular bed, we determined an increase of the diameter of the venules and veins, in comparison with the norm and the thinning of their walls, both in the proper chewing and in the lateral pterygoid muscles.

Ultramicroscopically in the endothelial cells of various ontogenetic groups there is an edema of endothelial cell cytoplasm with marked vacuolation. The perivascular lumen is considerably expanded. At the same time, the more pronounced changes appear in the proper chewing muscle, comparing with the lateral pterygoid one.

During the study of histological structure of muscular fibers of masticatory muscles in animals of various ontogenetic groups there is a focal loss of an ordered cross-striation. The growth of the cross-sectional area of all types of muscular fibers is noted. In particular, GMF of the proper chewing muscle actually suffer in immature animals. The layers of the connective tissue are visually expanded, diffuse deposits of glycosaminoglycans are observed. During the study of SDG's activity of muscular fibers, redistribution of different types of muscular fibers can be noted. Both in the proper chewing and lateral pterygoid muscles the number of OGMF has reduced. There was a decrease of the OMF's amount. The number of GMF during this has significantly increased. During morphometric study in experimental animals of both groups the cross-sectional area of all types of muscular fibers, especially GMF, is constantly increasing.

In electron microscopic examination, we have determined the significant structural-edematous changes, which are manifested through the violation of the cross-striation of myofibrils, the expansion and blurring of Z-lines. Mitochondria in all types of muscular fibers are enlarged with a matrix of reduced electronic density and collapsed crests. The endoplasmic reticulum is represented by the expanded cisterns and tubules. The Golgi apparatus is expanding; there are vacuoles with light content in it. At the same time, the volume fraction of mitochondria and the volume fraction of myofibrils both in the proper masticatory and in the lateral pterygoid muscles increases.

Biochemically, an increase of cholesterol content in the blood of both immature and mature animals (1.68 ± 0.14 mmol/l and 1.46 ± 0.11 mmol/l, respectively) was observed, comparing with the control, which in these groups was 1.65 ± 0.08 mmol/l and 1.37 ± 0.07 mmol/l, respectively. As it is well-known, hypercholesterolemia is an angiogenic damaging factor. Vascular changes trigger stromal-muscular disorders, as it is revealed by us. Significant ioduria is observed in the urine (in the immature rats, 1.40 ± 0.13 $\mu\text{g/l}$ ($p < 0.01$), in the mature ones – 1.88 ± 0.17 $\mu\text{g/l}$ ($p < 0.01$)).

Key words: iodine deficiency, muscle fiber, ontogenesis, microcirculatory blood flow.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 25.11.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-307-312

УДК 616.5-001.4-092.4:611.018.54:544.022.537

Тихвинская О. А., Волкова Н. А., Роговская Е. Ю., Ревенко Е. Б., Мазур С. П.

ЗАЖИВЛЕНИЕ ЭКСЦИЗИОННЫХ КОЖНЫХ РАН У МЫШЕЙ В ПРИСУТСТВИИ МАТРИЦ ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Институт проблем криобиологии и криомедицины
Национальной академии наук Украины (г. Харьков)

tikhvin71@gmail.com

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами. Статья является фрагментом НИР «Низькотемпературне консервування стовбурових клітин у складі тривимірних структур», № государственной регистрации 0112U003132.

Вступление. Полноценное заживление кожных ран различной этиологии до настоящего времени представляет собой значительную медико-биологическую и социальную проблему. Среди современных средств, способствующих восстановлению раневых дефектов, важное место занимают раневые покрытия: пленки, гели, микро- и макропористые губки, спреи на основе природных или синтетических материалов, а также децеллюляризованные фрагменты тканей. Они предназначены для защиты раны от пересыхания, плазмопотери и инфицирования, а также поддержания условий для благоприятного течения репаративных процессов.

Успехи современной биотехнологии способствуют развитию подходов, при которых раневые покрытия, помимо пассивной защиты раны, должны обеспечивать адресную доставку биологически активных веществ, лекарственных средств и живых клеточных

элементов, выполняя таким образом роль матрицы-носителя. В идеале свойства подобной матрицы должны соответствовать механическому и биологическим свойствам внеклеточного матрикса дермы, обеспечивать диффузию питательных веществ и метаболитов, поддерживать ключевые физико-химические параметры газообмена и гидробаланса, а также обеспечивать оптимальные условия для адгезии, миграции и пролиферации клеток. Кроме того, продукты биодеградации матрицы должны эффективно метаболизироваться без индукции воспаления [1,2].

Актуальные требования к выбору материала для создания матриц диктуются конечной целью современной биоинженерии – получать индивидуальные аутологичные имплантаты на основе использования собственных клеток и тканей пациента. Плазма крови является одним из наиболее физиологических источников для формирования матрицы-носителей для ран. Для создания гелей на основе сывороточного альбумина или плазмы крови белок денатурируют нагреванием, высоким давлением, либо поверхностно-активными веществами или эмульгированием водной фазы в гидрофобных жидкостях [3-6]. Эти белковые

матрицы используются как носители лекарственных средств, а также как биоспецифические сорбенты, в том числе, в экстракорпоральных системах для детоксикации крови и др. [7]. Они имеют микропористую гелевую структуру и обеспечивают медленную диффузию лекарственных веществ либо их высвобождение при биодеградации белковой основы. Такая архитектура матрицы также способствует сохранности вводимых клеток и позволяет создавать возможности для адгезии, роста и пролиферации клеток, введенных в состав биоинженерной конструкции. Особый интерес представляет собой гель из плазмы крови, который получается при превращении фибриногена в фибрин с последующей полимеризацией и организацией фибриновой сетки. Подобные гелевые матрицы из плазмы крови широко применяются в медицинской практике, например, для лечения заболеваний и повреждений хрящевой ткани, кожных ран различной этиологии [8], мышечной ткани при инфаркте миокарда [9].

На основе плазмы крови также могут быть получены матрицы в виде губок определенной формы и архитектуры, при этом наиболее часто задействуются методы криоструктурирования [10,11]. Характерными особенностями таких матриц являются макропористость, эластичность и прочность. Размер пор в губках соизмерим с размерами капилляров [12,13], что вместе с сообщающейся системой пор обеспечивает эффективный транспорт метаболитов и миграцию клеток. Это обстоятельство лежит в основе применения таких плазменных матриц для быстрого обеспечения высоких терапевтических доз лекарственного средства, например, при лечении инфицированных ран и ожогов [14], а также для активной сорбции раневого отделяемого.

Архитектура и физические параметры пористой матрицы, наряду с химическим составом исходного материала, определяют свойства ее как носителя для лекарственных средств и клеточного компонента. Активно изучается влияние таких параметров как размер пор, эластичность, степень набухания и др. на процесс высвобождения введенных лекарственных веществ, а также на морфологию, миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток, заселенных в матрицу. Гораздо менее освещенным остается вопрос о возможном влиянии вида матриц, изготовленных из одного и того же исходного материала, на течение раневого процесса.

Целью настоящего исследования было изучение влияния матриц, изготовленных из плазмы крови в виде макропористой губки и геля, на заживление эксцизионных кожных ран у мышей.

Объект и методы исследования. Все эксперименты на животных выполнены в соответствии с положениями «4-й Европейской Конвенции о защите позвоночных животных» (ETS 123, Страсбург, Франция, 1986 г.), а также с «Общими принципами экспериментов на животных», принятыми 5-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013 г.) при одобрении Комитета по биоэтике Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.

Исследования проведены на 15 мышах-самцах линии Balb/C возраста 5-6 мес. с массой тела 25-30 г, у которых формировали эксцизионные кожные раны. Для этого в межлопаточной области сбрасывали шерсть, с соблюдением правил асептики и антисептики,

при помощи инструмента для биопсии кожи Dermopunch (Stiefel, Германия) диаметром 6 мм одновременно наносили две полнослойные раны [15]. Для предотвращения контракции края ран фиксировали с помощью полимерного медицинского пластыря (Dr. House, Китай) и медицинского клея БФ (Лубныфарм, Украина) [16]. Эксперименты проводились на наркотизированных животных.

Эксцизионные раны (n=30) были распределены на 3 группы:

- 1 – контроль, самостоятельно заживающие раны (К);
- 2 – раны с нанесением геля из плазмы крови (ГП);
- 3 – раны с введением макропористой губки из плазмы крови (КГП).

Раны 1-й группы сразу после получения закрывали прозрачной полупроницаемой пленкой (Tegaderm Film, Германия). В раны 2-й группы вносили 50 мкл геля из плазмы крови, приготовленного непосредственно перед использованием. В раны 3-й группы помещали фрагмент макропористой криогелевой губки толщиной 100 мкм и диаметром 5 мм, предварительно стерилизованной этиловым спиртом и отмытой перед введением с помощью раствора Хенкса.

Раны 2-й и 3-й группы так же закрывали полупроницаемой пленкой (Tegaderm Film, Германия). Поверх пленки во всех трех группах накладывалась наружная повязка из эластичного бинта (Coban, Германия).

Мыши содержались в индивидуальных клетках в стандартных условиях вивария.

Гель из плазмы крови получали в соответствии с методикой [17]. Для его приготовления фракцию плазмы крови, обедненной тромбоцитами (5×10^4 тромбоцитов/мкл), соединяли в объемном соотношении 9:1 со смесью сыворотки крови этого же донора и 10 %-го раствора хлорида кальция, взятыми в соотношении 3:1. Время полимеризации геля в ране составляло 15 минут.

Макропористые губки, изготовленные как описано в работе [18], были любезно предоставлены проф. В.И. Лозинским (Институт элементоорганических соединений Российской Академии наук им. А.Н. Несмеянова, Москва). Оценка заживления ран у мышей осуществлялась на основании результатов планиметрического и гистологического наблюдений. Животных выводили из эксперимента на 3, 7, 14 и 28 сутки методом цервикальной дислокации на фоне после введения анестетика.

При планиметрическом исследовании измерение площади ран выполнялось на фотоснимках, полученных с использованием фотокамеры Digital IXUS 80 IS (Canon, Япония) с применением программы Image J v.1.5b (National Institutes of Health, США). Для оценки закрытия раневой поверхности определяли отношение разницы между величинами исходной площади раны и ее площади на день исследования к величине исходной площади раны и выражали в процентах.

Для получения гистологических препаратов кожно-мышечные лоскуты, включающие зону раны, иссекали, фиксировали в 10%-м забуференном растворе формалина, помещали в среду TissueTec (O.C.T. Compound, Великобритания) и изготавливали серийные срезы толщиной 5-6 мкм на криотоме Slee Cryostat MEV (Slee Medical GmbH, Германия). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, обезвоживали и заключали в канадский бальзам. Анализ микро-

фотографий гистологических препаратов, полученных при использовании светового микроскопа Meiji Techno (Япония), выполняли с помощью программного обеспечения BioVision 4.0. Количество микрососудов капиллярного типа (для оценки активности формирования новообразованной соединительной ткани) определялось как среднее значение для ряда величин, полученных в 10 независимых полях зрения.

Статистический анализ данных проводили при помощи программы Past 3.0 (Hammer, 2001). Для сравнения рядов данных использовали критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, различия считали достоверными при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Заживление кожных ран происходит путем одновременного протекания взаимосвязанных процессов: заполнение раневого дефекта грануляциями, закрытие раневой поверхности регенерирующим эпителием, концентрическое стягивание раны при созревании грануляций и трансформация их в рубцовую ткань. При этом выделяют фазу воспалительной реакции на травму, пролиферативную фазу, включающую формирование и развитие грануляционной ткани и регенерацию эпителия, а также фазу формирования, созревания и перестройки рубцовой ткани. Эти фазы, особенно вторую и третью, можно разграничивать только условно, поскольку в то время как центральная часть раны еще не заполнилась грануляциями, у ее краев могут наблюдаться эпителизация и рубцевание [19]. Таким образом, оценку закрытия раны эпителиальным пластом и формирования многослойного эпидермиса на фоне репарации соединительнотканной части раневого дефекта производили с учетом стадийности раневого процесса.

На 3-и сутки наблюдения в самостоятельно заживающих ранах выявлялся первичный коричневатый струп толщиной до 1 мм, под которым происходили восстановительные процессы. На 7-е сутки после травмы по внутреннему периметру ран выявлялся светлый ободок краевой эпителизации, причем, по данным планиметрии, закрытие контрольных ран в этот срок отмечалось, в среднем, на 40% площади ра-

Таблица 1.

Закрытие раневой поверхности эксцизионных кожных ран (%) при самостоятельном заживлении и в присутствии матриц из плазмы крови

Группы наблюдения	Срок наблюдения, сутки		
	3	7	14
Контроль	18,3 ± 3,6	42,7 ± 4,5	96,6 ± 3,2
Гель (ГП)	18,6 ± 3,3	41,8 ± 4,4	97,5 ± 2,1
Губка (КГП)	17,6 ± 2,4	43,5 ± 6,1	99,0 ± 0,7

Таблица 2.

Количество микрососудов при заживлении ран в присутствии матриц из плазмы крови, единиц в поле зрения

Группы наблюдения	Срок наблюдения, сутки			
	3	7	14	28
Норма	3,0 ± 0,6			
Контроль	1,7 ± 0,2	3,6 ± 0,3	5,8 ± 0,4	7,3 ± 0,4
Гель (ГП)	1,5 ± 0,4	7,7 ± 0,4*	8,6 ± 0,5*^	3,7 ± 0,4*
Губка (КГП)	1,6 ± 0,4	7,5 ± 0,6*	6,8 ± 0,5*	4,0 ± 0,6*

Примечание: * – различия значимые в сравнении с соответствующим сроком наблюдения в контрольной группе; ^ – различия значимые в сравнении с соответствующим сроком наблюдения в группе КГП.

невой поверхности (табл. 1). Во вторую неделю эпителизация раневой поверхности продолжалась, и на 14 сутки раневые дефекты были практически полностью закрыты, имели гладкую поверхность беловато-розового цвета, на которой могли наблюдаться слоистые остатки струпа. На 28 сут. после травмы области ран практически не выявлялись, их скрывал восстановленный шерстный покров.

Эпителизация ран, в которые был внесен гель из плазмы крови, протекала сходным образом, визуальные и планиметрические данные в исследуемые сроки практически не отличались от данных, свойственных контрольным ранам ($p > 0,05$). Введение в раневую дефект криогелевой губки из плазмы крови также не влияло на сроки закрытия ран (табл. 1) и формирование на их месте шерстного покрова.

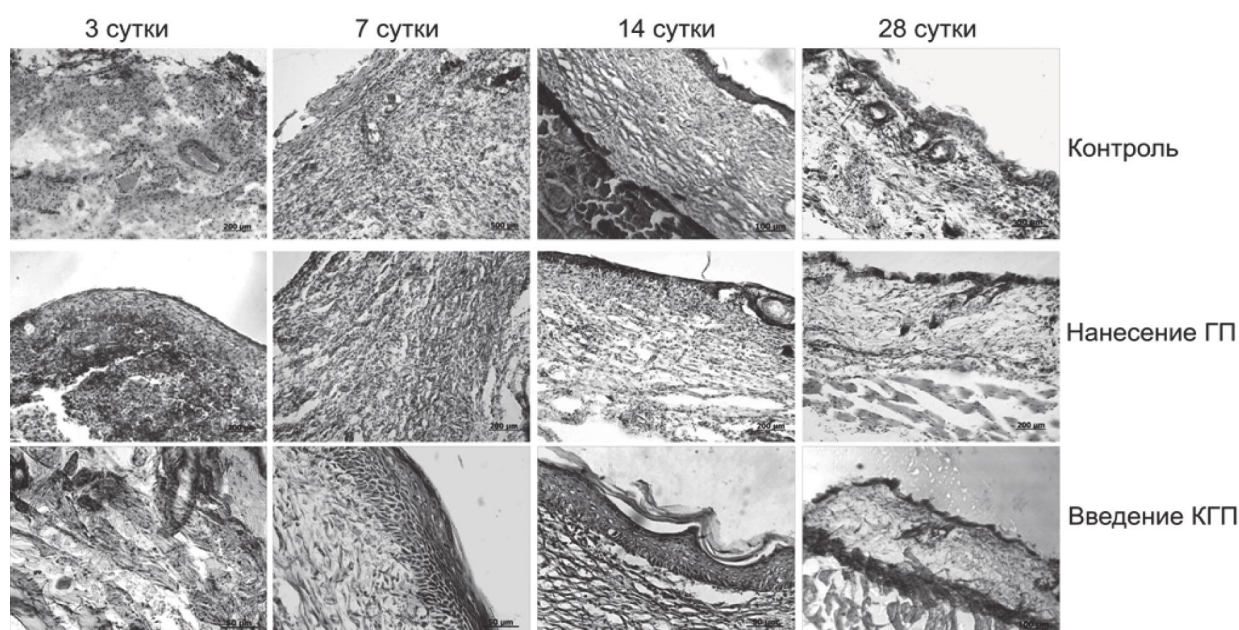


Рис. Гистологические препараты заживающих эксцизионных кожных ран у мышей. Окраска гематоксилином и эозином. ГП – плазменный гель, КГП – криогелевая губка из плазмы крови.

Формирование и развитие грануляционной ткани является закономерным этапом заживления ран. Сигналы, исходящие из некротизированных участков раны стимулируют, прежде всего, почкование капилляров, которые составляют основу грануляционной ткани. Оживление кровообращения в ране, отек, выход белков плазмы и высокая протеолитическая активность лейкоцитов, мигрирующих в рану, приводят к протеолизу некротизированных тканей. Новообразованная соединительная ткань, заполняющая раневую дефект, может преобразовываться в более или менее плотную рубцовую ткань в зависимости от течения раневого процесса [19].

При гистологическом изучении в самостоятельно заживающих ранах на 3-и сутки эксперимента обнаруживались нити фибрина, дно раны было полностью некротическими массами, а в прилежащих тканях отчетливо визуализировались расширенные и полнокровные сосуды (**рис.**). В окружающих рану тканях наблюдалась диффузная инфильтрация полиморфоядерными лейкоцитами, а также большое количество эритроцитов, что свидетельствовало о нормальном течении фазы воспаления раневого процесса. Среднее количество микрососудов на этот срок наблюдения составляло $1,7 \pm 0,2$ (**табл. 2**).

В ранах с ГП на 3-и сутки наблюдалась более интенсивная воспалительная реакция, характеризующаяся выраженной лейкоцитарно-макрофагальной инфильтрацией некротизированных участков ран, а количество микрососудов не отличалось от контроля (**рис., табл. 2**). Выявленные отличия от контрольных ран могут быть обусловлены наличием в ранах с ГП большего количества фибриновых нитей, образующихся в процессе полимеризации плазменного геля, по которым в рану перемещаются лейкоциты. Кроме того, гелевая структура матрицы обеспечивает быструю биодеградацию этого материала, происходящую под действием протеолитических ферментов макрофагов, что проявляется в усилении острого воспаления.

В ранах с матрицей КГП на 3-и сутки после травмы в зоне дефекта отмечались очень слабые признаки воспаления. Это может быть связано с особенностями макропористой структуры плазменной губки, благодаря которой в ране улучшался отток экссудата, снижалась тканевая гипертония и воспалительный отек. Среднее число микрососудов в этой группе наблюдения не отличалось от количества в группах К и ГП.

На 7 сутки заживления в ранах контрольной группы выявлено двукратное увеличение числа новообразованных сосудов капиллярного типа (**табл. 2**), указывающее на активное формирование грануляционной ткани. На этот срок течения раневого процесса отмечено подрастание краевого эпителиального пласта под струп.

В этот же срок, 7 суток, на гистологических препаратах ран с ГП обнаружено почкование капилляров, с боковыми выпячиваниями за счет активно делящихся ангиобластов и образованием тяжелей эндотелия, что свидетельствует об активной регенерации микрососудов. Количество образовавшихся сосудов капиллярного типа возрастало практически в 5 раз по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Также на 7 сутки наблюдались образование и активная пролиферация молодых соединительнотканых клеток. Можно полагать, что стадия воспаления, выраженная

в данной группе на 3 сутки, к 7 суткам сменялась регенераторной фазой: в инфильтрате обнаруживалось нарастающее преобладание фибробластов, что свидетельствовало об активном созревании грануляционной ткани. С периферии раны к центру наблюдалось формирование 1-3-слойного эпителиального пласта различной ширины.

На гистологических срезах ран КГП, которые заживали 7 суток в присутствии губки из плазмы, также обнаруживалось активное формирование грануляционной ткани с наличием тонкостенных сосудов капиллярного типа, заполненных эритроцитами, причем их количество, как и в группе ГП, возрастало практически в 5 раз. Обращало на себя внимание присутствие в формирующейся грануляционной ткани полиморфоядерных лейкоцитов и макрофагов, что может рассцениваться как показатель начальных этапов деградации плазменной губки. Гистологическая картина заживления ран КГП дополнялась наличием формирующегося эпителиального пласта.

На 14 сутки наблюдения в группе самостоятельно заживающих ран продолжалось формирование грануляционной ткани, при этом количество лейкоцитов уменьшалось, отмечалось преобладание клеток фибробластического ряда, синтезирующих коллаген. Количество микрососудов продолжало увеличиваться и уже в 3,5 раза превышало значение этого показателя на 3-и сутки течения раневого процесса (**табл. 2**).

В ранах с ГП на 14 сутки после травмы обнаруживалась зрелая грануляционная ткань, переходящая в молодую соединительную, которая содержала большое количество фибробластов в стадии активного коллагенообразования. В группе ран с плазменной губкой КГП также происходило созревание грануляционной ткани с преобладанием в ней клеточных элементов с отростчатой цитоплазмой, которые, приобретая вытянутую форму, обнаруживали свойства фибробластов и осуществляли синтез коллагена. Число сосудов капиллярного типа в обеих опытных группах – ГП и КГП – на этот срок наблюдения сохранялось на прежнем уровне. В то же время в группах ран К и КГП выявлялась частичная десквамация эпителиального пласта, что указывает на незрелость подлежащей грануляционной ткани. В эпидермисе ран с ГП в этот срок десквамация не наблюдалась, хотя выявлялись не все слои клеток и не определялся микрорельеф. Примечательно, что в ранах с КГП губка полностью деградировала на 14 сут., а на ее месте обнаруживались новообразованные и мигрировавшие в зону дефекта эпидермальные клетки. На этой стадии раневого процесса во всех трех группах в абсолютном большинстве случаев обнаруживалась полное закрытие ран.

На 28 сутки наблюдения в ранах, заживающих самостоятельно, новообразованная соединительная ткань была преобразована в довольно плотную рубцовую ткань, что подтверждалось наличием грубых, хаотично расположенных пучков коллагеновых волокон. Количество микрососудов значительно превышало норму. Эпидермис был утолщен, его микрорельеф сглажен, сформированы все слои клеток, а в собственно дерме формировались дериваты кожи – волосяные фолликулы и сальные железы.

В ранах, куда были внесены матрицы ГП и КГП, соединительная ткань, заполнившая раневую дефект, была выполнена упорядоченно ориентированными нежными коллагеновыми волокнами собственно

дермы и представляла собой неплотную рубцовую ткань. В сформированных дериватах кожи выявлялись пролиферирующие эпителиальные клетки. Более того, на гистологических препаратах заживления ран, куда были внесены КГП матрицы, выявлялись регенерирующие волокна собственной мышцы кожи, что является дополнительным свидетельством благоприятного течения репаративного процесса. Среднее число микрососудов в ранах с ГП и КГП снижалось по сравнению с предыдущим сроком наблюдения практически до уровня нормы. Сформированный многослойный эпидермис имел нормальный складчатый микрорельеф и толщину.

Более благоприятное течение и исход раневого процесса в эксцизионных ранах, которые заживали после внесения ГП, могут быть обусловлены более эластичной, по сравнению с макропористой губкой, структурой геля, благодаря которой биодegradация происходит быстрее и с меньшим стрессом для организма. Также может иметь значение и способ изготовления матрицы: процесс получения геля из плазмы крови задействует, несомненно, более физиологичные механизмы, чем процесс криоструктурирования. Вместе с тем, применение губки из плазмы имеет преимущества в первой фазе ранозаживления, когда она, очевидно, благодаря своим механическим, осмотическим свойствам и микроструктуре, способствует уменьшению воспаления.

Выводы. Таким образом, были выявлены определенные различия процесса заживления в контрольных эксцизионных ранах и в ранах с введением ма-

триц из плазмы крови. В отношении ран, заживающих самостоятельно, полученные данные позволяют сделать вывод о незавершенности репаративного процесса к концу срока наблюдения: новообразованная соединительная ткань преобразовалась в довольно плотную рубцовую ткань, эпидермис имел сглаженный микрорельеф, в подкожной клетчатке обнаруживались расширенные и заполненные кровью сосуды.

Введение в эксцизионные раны геля из плазмы крови способствовало более раннему созреванию грануляционной ткани по сравнению с самостоятельно заживающими ранами. Применение макропористой матрицы КГП не имело такого выраженного действия на созревание грануляционной ткани, однако способствовало уменьшению воспаления на 1-й фазе заживления. К 14 суткам зрелая грануляционная ткань наблюдалась только в группе с ГП, что подтверждалось отсутствием десквамации эпителиального пласта. Вновь образованный эпидермис характеризовался микрорельефом и толщиной, свойственными интактной коже.

Показанная в работе эффективность и биосовместимость исследуемых матриц свидетельствует о возможности их использования в качестве защитных покрытий на первых этапах ранозаживления.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейших исследованиях планируется изучить процесс ранозаживления в эксцизионных кожных ранах у мышей при внесении клеточных элементов в составе макропористых губок и микропористого геля, полученных из плазмы.

Литература

1. Bergsma JE, Rozema FR, Bos RR, Boering G, de Bruijn WC, Pennings AJ. In vivo degradation and biocompatibility study of in vitro pre-degraded as-polymerized polylactide particles. *Biomaterials*. 1995;16(4):267-74.
2. Olson JL, Atala A, Yoo JJ. Tissue engineering: current strategies and future directions. *Chonnam Med J*. 2011;47(1):1-13.
3. Gosal WS, Ross-Murphy SB. Globular protein gelation. *Curr. Opin. Interface Sci*. 2000;5(3-4):188-94.
4. Clark AH, Tuffnell CD. Small-angle X-ray-scattering studies of thermally-induced globular protein gels. *Int. J. Peptide Protein Res*. 1980;16(4):339-51.
5. Galazka VB, Dickinson E, Ledward DA. Influence of high pressure processing on protein solutions and emulsions. *Curr. Opin. Interface Sci*. 2000;5(3-4):182-7.
6. Avtushenko SS, Nikolaev BP, Shlyakov AM. Strukturirovanie belkov v emulsiyah voda-maslo soglasno 1N-YaMR dannym Koll. zh. 1993;55(1):3-5. [in Russian].
7. Lundblad RL. *Biotechnology of Plasma Proteins*. CRC Press, Boca Raton e.a.; 2013:83-182.
8. Li Y, Meng H, Liu Y, Lee BP. Fibrin Gel as an Injectable Biodegradable and Cell Carrier for Tissue Engineering. *The Scientific World Journal*. 2015;10:1-10.
9. Christman KL, Fok HH, Sievers RE, Fang Q, Lee RJ. Fibrin glue alone and skeletal myoblasts in a fibrin scaffold preserve cardiac function after myocardial infarction. *Tissue Engineering*. 2004;10(3-4):403-9.
10. Lozinskiy VI. Kriogeli na osnove prirodnih i sinteticheskikh polimerov: poluchenie, svoystva i oblasti primeneniya. *Uspehi himii*. 2002;71(6):559-85. [in Russian].
11. Lozinsky VI, Okay O. Basic principles of cryotropic gelation. *Adv. Polym. Sci*. 2014;263:49-101.
12. Lozinskiy VI. Novoe semeystvo makroporistykh i sverhmakroporistykh materialov biotekhnologicheskogo naznacheniya – polimernye kriogeli. *Izvestiya RAN, Ser. him*. 2008;5:996-1013. [in Russian].
13. Okay O, Lozinsky VI. Synthesis, structure-property relationships of cryogels. *Adv. Polym. Sci*. 2014;263:103-57.
14. Shtilman MI. Vvedenie v tekhologiyu polimerov mediko-biologicheskogo naznacheniya. M.: RHTU; 2000. 247 s. [in Russian].
15. Galiano RD, Michaels J, Dobryansky M, Levine JP, Gurtner GC. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. *Wound Rep Reg*. 2004;12(4):485-92.
16. Tykhvynskaya OA, Rogulska OY, Volkova NA, Revenko OB, Mazur SP, Volina VV, et al. The effect of human adipose-derived multipotent mesenchymal stromal cells in the fibrin gel on the healing of full-thickness skin excision wounds in mice. *Cell Organ Transplantation*. 2017;5(1):11-3.
17. Obata S, Akeda K, Imanishi T, Masuda K, Bae W, Morimoto R, et al. Effect of autologous platelet-rich plasma-releasate on intervertebral disc degeneration in the rabbit anular puncture model: a preclinical study. *Arthritis Research & Therapy*. 2012;14(6):1-11.
18. Lozinsky VI, Galaev IYu, Plieva FM. Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest. *Trends in Biotechnol*. 2003;21(10):445-51.
19. Kuzin MI, Kostyuchenok BM. Ranyi i ranevaya infektsiya. M.: Meditsina; 1981. 688 s. [in Russian].

ЗАГОЄННЯ ЕКСЦИЗІЙНИХ РАН ШКІРИ У МИШЕЙ У ПРИСУТНОСТІ МАТРИЦЬ З ПЛАЗМИ КРОВІ

Тихвинська О. О., Волкова Н. О., Рогульська О. Ю., Ревенко О. Б., Мазур С. П.

Резюме. Унікальним природним матеріалом для створення ранових покриттів, які, крім пасивного за-
хисту, сприяють повноцінному відновленню шкірних дефектів, є плазма крові. Метою даної роботи було про-

вести порівняльний аналіз процесу репарації ексцизійних шкірних ран у мишей в присутності макропористих губок і мікропористого гелю, отриманих з плазми. Оцінку загоєння проводили на підставі результатів макроскопічних, планіметричних і гістологічних досліджень. Встановлено, що застосування як губки, так і гелю з плазми крові не впливало на швидкість закриття ексцизійних ран. Однак використання макропористої губки сприяло зменшенню запалення на першому етапі загоєння. Нанесення гелю призводило до більш раннього дозрівання грануляційної тканини і формуванню повноцінного багатослового епідермісу.

У роботі показана ефективність використання носіїв на основі плазми крові в якості захисних покриттів для ранозагоєння.

Ключові слова: ранозагоєння, ексцизійної рани шкіри, гель з плазми крові, макропористі губки.

ЗАЖИВЛЕНИЕ ЭКСЦИЗИОННЫХ КОЖНЫХ РАН У МЫШЕЙ В ПРИСУТСТВИИ МАТРИЦ ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ Тихвинская О. А., Волкова Н. А., Рогульская Е. Ю., Ревенко Е. Б., Мазур С. П.

Резюме. Уникальным природным материалом для создания раневых покрытий, которые, помимо пассивной защиты, способствуют полноценному восстановлению кожных дефектов, является плазма крови. Целью данной работы было провести сравнительный анализ процесса репарации эксцизионных кожных ран у мышей в присутствии макропористых губок и микропористого геля, полученных из плазмы. Оценку заживления проводили на основании результатов макроскопических, планиметрических и гистологических исследований. Установлено, что применение как губки, так и геля из плазмы крови не влияло на скорость закрытия эксцизионных ран. Однако использование макропористой губки в качестве матрицы способствовало уменьшению воспаления на первом этапе заживления. Нанесение геля приводило к более раннему созреванию грануляционной ткани и формированию полноценного многослойного эпидермиса.

В работе показана эффективность использования носителей на основе плазмы крови в качестве защитных покрытий для ранозаживления.

Ключевые слова: ранозаживление, эксцизионные раны кожи, гель из плазмы крови, макропористые губки.

HEALING OF EXCISION SKIN WOUNDS IN MICE IN THE PRESENCE OF PLASMA-BASED SCAFFOLDS

Tykhvynska O., Volkova N., Rogulska O., Revenko O., Mazur S.

Abstract. Despite the progress of biotechnology and its impact on health care, wound healing remains an actual medical and social issue. Blood plasma is a unique natural material for development of wound dressings that ensure passive protection and contribute to the full recovery of skin defects.

The aim of this study was to compare the process of skin wound repair and regeneration in mice in the presence of macroporous scaffolds and microporous gel obtained from plasma.

Microporous plasma-based gel was prepared from the whole blood of adult donors using a standard method which includes 2-step centrifugation and addition of blood serum and calcium chloride. Macroporous scaffolds were obtained from blood plasma by cryogelation procedure. Full-thickness excision skin wounds were made on the backs of Balb/c mice using a dermal punch under the general anesthesia. Wound healing dynamic was assessed by macroscopic and planimetric methods. Histological examination was performed on hematoxylin and eosin-stained sections of skin to assess characteristics of the epidermis and underlying tissues.

It was established that wound healing rates in control group and groups with gel or scaffold application were not significantly different during the whole period of examination. According to histology study results, the use of macroporous plasma-based scaffold contributed to the reduction of inflammation in the first stage of healing. Newly formed skin had uniformly oriented collagen fibers, capillary vessels and multiple skin derivatives. Compared to the spontaneous healing process and scaffold application, wound covering with gel from blood plasma led to an earlier maturation of granulation tissue and complete restoration of dermal and epidermal layers of damaged skin area.

In conclusion, the paper shows promising efficacy results of using plasma-based carriers as protective coatings for wound healing.

Key words: wound healing, excision skin wounds, plasma-based gel, macroporous scaffolds.

Рецензент – проф. Проніна О. М.

Стаття надійшла 25.10.2018 року