Влияние экстракта кожи новорожденных поросят на регенерационные процессы в коже после экспериментальных холодовых повреждений

Н.Ю. Шкодовская

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Newborn Piglet Skin Extract on Regeneration Processes in Skin After Experimental Cold Damages

N.Yu. SHKODOVSKAYA

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

В последнее время широкое применение в клинике находят препараты иммунобиологического действия, в том числе и получаемые из ксенотканей. Нами был предложен способ получения безбелкового пептидсодержащего экстракта из криоконсервированных фрагментов кожи новорожденных поросят (ЭКНП) и выбран эффективный режим криоконсервирования (криопротектор ПЭО-1500, концентрация 10%, скорость охлаждения 1°С/мин), обеспечивающий накопление в супернатанте пептидов при минимальном выходе белка.

Цель исследования — изучение влияния ЭКНП на регенерационные процессы в коже после криоповреждения. Холодовые раны кожи моделировали на крысах линии Вистар медным аппликатором диаметром 10 мм, охлажденным жидким азотом до температуры —196°С, экспозиция 60 с. В опытной группе (15 крыс) ежесуточно в течение всего срока наблюдения (28 сут) подкожно в область раны от периферии к центру вводили 0,5 мл ЭКНП. В контрольной группе (15 животных) раневой процесс протекал спонтанно. Для оценки динамики протекания раневого процесса использовали визуальный, планиметрический и гистологический методы.

Проведенные наблюдения показали, что темп заживления раны на фоне введения ЭКНП достоверно увеличивался с 7-х суток и еще более — с 14-х. Так, через 14 сут площадь раны у животных контрольной группы составляла 3,0 см², а у животных опытной — 0,2 см². Через 28 сут в контроле и опыте отмечено полное заживление ран. Установлено, что ускорение процесса заживления ран под влиянием ЭКНП происходит за счет уменьшения выраженности воспалительной инфильтрации и существенного ускорения темпов формирования грануляционной ткани.

Recently a wide use in clinic is found by preparations of immune and biological action including those xenotissue-derived. We proposed the way of obtaining for protein-free peptide-containing newborn piglets' skin extract (NPSE) and an effective cryopreservation regimen (PEO-1500 cryoprotectant under concentration 10%, 1°C/min cooling rate), providing an accumulations of peptide in supernatant at minimal protein yield, was chosen.

Research aim was to study NPSE influence on regenerative processes in skin after cryodamages. Cold skin wounds were modeled by copper applicator of 10mm diameter, cooled by liquid nitrogen down to –196°C with 60s exposure in Wistar rats. In experimental group (15 rats) daily during the whole observation term (28 days) 0.5 ml NPSE was subcutaneously injected into wound area from periphery toward the center. In control group (15 animals) a wound process proceeds spontaneously. For assessment of dynamics of wound process visual, planimetric, histological methods were used.

Conducted observations showed that wound healing rate on the background of NPSE injection increased from the 7^{th} day and even was higher from the 14^{th} . So in 14 days the wound area in animals of control group made 3.0 sm and in experimental one it was $0.2 \ sm^2$. In 28 days in control and experimental groups wound healing was noticed. It was established that acceleration of wound healing process under ENPS influence occurred due to an expression decrease of inflammatory infiltration and significant acceleration

Влияние криоконсервирования на свойства компонентов кордовой крови

Е.В. БРОВКО, И.А. ЖЕЛТЯКОВА, А.А. ЦУЦАЕВА, Е.С. ОНАСЕНКО Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Cryopreservation Effect on Properties of Cord Blood Components

E.V. Brovko, I.A. Zheltyakova, A.A. Tsutsaeva, O.S. Onasenko

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

Цель данной работы – изучение свойств компонентов кордовой крови до и после криоконсервирования. Ядерные компоненты кордовой крови в аутологичной плазме, криоконсервированные без использования традиционных криопротекторов, получили название лейкоконцентрат кордовой крови человека — "Гемокорд". Количество ядерных и сохранных клеток после криоконсервирования не изменилось. Количество

This research is aimed to studying the properties of cord blood components before and after cryopreservation. Nucleated components of cord blood suspended in autologous plasma were cryopreserved with no use of routine cryoprotectants and were defined as human cord blood leucoconcentrate "Hemocord". Number of nucleated and preserved cells did not change after cryopreservation. The number of lymphocytes, non-differentiated cells and

лимфоцитов, недифференцированных клеток и фибробластов в кордовой крови возросло, количество гранулоцитов достоверно снизилось. Количество В-лимфоцитов возросло недостоверно, при этом количество $CD34^+$ -клеток и $CD4^+$ -клеток возросло достоверно.

Криоконсервированные гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) обладают очень высокой пролиферативной активностью. Колонии в агаре, сформированные данными клетками, подобны колониям, полученным при использовании нативных ГСК, и состоят из моноцитарно-миелоидных, эритроидных, недифференцированных клеток и фибробластов. Моноцитарномиелоидные колонии включают в себя фибробласты, формирующие волокнистые структуры, большое количество которых было представлено в колониях недифференцированных клеток и фибробластов.

Нативный и криоконсервированный лейкоконцентрат обладает вируснейтрализующей активностью. Вируснейтрализующий титр нативного лейкоконцентрата после криоконсервирования не изменился и составлял от 1:32 до 1:128.

Молекулярная масса белков нативного лейкоконцентрата, обладающего вируснейтрализующей активностью, была 44,7-355 кДа (белковые фракции 6-13). Белки с молекулярной массой от 44,7 до 209 кДа (белковые фракции 8-13) имели наиболее высокую вируснейтрализующую активность. Их молекулярная масса соответствует массе интерферонов, IgG и пропердина. Белки с массой 316-355 кДа (белковые фракции 6-7) проявили меньшую вируснейтрализующую активность. После криоконсервирования такой же уровень вируснейтрализующей активности сохранился в белковой фракции 8, во фракциях 6 и 9 резко снизился, а во фракциях 7, 10-13 вообще не определялся.

Было показано, что предупредить развитие вирусных заболеваний у мышей можно только после предварительного интраназального введения препарата "Гемокорд". Устойчивость к вирусным инфекциям у животных сохраняется в течение года после применения "Гемокорда".

fibroblasts in cord blood increased, the one of granulocytes was statistically and significantly reduced. Amount of B-lymphocytes was not statistically and significantly increased but the number of CD34+-cells and CD4+-cells was statistically and significantly increased.

Cryopreserved hemopoietic stem cells (HSC) possess a very high proliferative activity. They form in agar culture the same colonies as native HSC. These colonies comprise monocyte-myeloid, erythroid, non-differentiated cells and fibroblast. Monocyte-myeloid colonies also include fibroblasts forming fibrous structures, a big number of which is represented in the colonies of non-differentiated cells and fibroblasts.

Native and cryopreserved leucoconcentrate has a virus-neutralizing activity. Virus-neutralizing titer of native leucoconcentrate after cryopreservation did not change and made 1:32-1:128.

Molecular mass of proteins of native leucoconcentrate possessing virus-neutralizing activity was 44.7-355 kDa (6-13 protein fractions).

Proteins with molecular mass from 44.7 up to 299 kDa (8-13 protein fractions) had the highest virus-neutralizing activity. Their molecular mass corresponds to that for interferons, IgG and properdine. Proteins with molecular masses of 3160355 (6-7 protein fractions) revealed less virus-neutralizing activity. After cryopreservation the same level of virus-neutralizing activity was kept in 8 protein fraction, but in 8 and 9 fractions it sharply reduced and in 7, 10-13 fractions it was not found at all.

It has been shown that the development of virus diseases in mice is possible to be prevented only after "Hemocord" intranasal introduction. The resistance to viral infections in them is kept during a year after "Hemocord" application.

Влияние водно-солевых экстрактов замороженной плаценты на структурные свойства эритроцитов

Д.Н. Погожих, О.А. Нардид, Е.Д. Розанова Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Water-Saline Extracts of Frozen Placenta on Structure Peculiarities of Erythrocytes

D.N. Pogozhikh, O.A. Nardid, E.D. Rozanova

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

На основе использования низких температур в современной науке были разработаны новые биотехнологии и методы лечения с применением экстрактов из ткани плаценты, содержащей большое количество биологически активных веществ.

Однако свойства экстрактов, полученных из тканей, подвергшихся замораживанию, и особенности их действия на биологические объекты практически не изучены.

Basing on low temperature use there have been developed new biotechnologies and treatment methods with applying extracts derived from placenta tissue, containing a large number of biologically active substances.

However properties of extracts, obtained from tissues subjected to freezing and peculiarities of their effect on biological objects are poorly studied.

The research aim was to comparatively investigate the effect of extracts from native and subjected to freeze-thawing