

Мезенхимальные стромальные клетки в фибриновом геле стимулируют заживление полнослойных ран у мышей

О.А. Тихвинская, Е.Ю. Рогульская, Ю.А. Петренко
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Mesenchymal Stromal Cells Within Fibrin Gel Stimulate Healing of Full-Thickness Wounds in Mice

О.А. Tykhvynska, О.Yu. Rogulska, Yu.A. Petrenko
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Высокая паракринная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и их способность к мультилинейной дифференцировке определяют перспективность их использования для восстановления поврежденных тканей. Реализация репаративного потенциала МСК в условиях *in vivo* во многом зависит от способа введения клеток и/или свойств используемой матрицы-носителя.

Цель работы – оценка ранозаживляющего действия МСК в фибриновом геле, полученном из обедненной тромбоцитами плазмы крови, на модели полнослойных эксцизионных ран кожи у мышей.

В работе использовали МСК жировой ткани человека 4–6 пассажей. Фибриновый гель (ФГ) получали из цельной крови взрослых доноров методом двухэтапного центрифугирования. Фракцию плазмы, обедненную тромбоцитами (5×10^4 тромбоцитов/мкл), соединяли со смесью сыворотки крови и CaCl_2 . Мезенхимальные стромальные клетки вносили в концентрации 5 млн клеток на 1 мл ФГ. Полнослойные эксцизионные раны кожи получали с использованием дермального панча ($d = 6$ мм) на спинах мышей-самцов линии Balb/c. Раны наносили под общим наркозом согласно этическим нормам. Животные в зависимости от метода воздействия на рану были разделены на группы: 1 – контроль (самостоятельно заживающие раны); 2 – раны с нанесением ФГ; 3 – раны с нанесением МСК в составе ФГ. Оценку заживления ран проводили макроскопическими, планиметрическими и гистологическими методами в соответствии с представлениями о стадийности раневого процесса.

Было выявлено, что скорость заживления ран в группах 1 и 2 значительно не отличалась на протяжении всего срока наблюдений. Введение МСК в ФГ способствовало ускорению эпителизации, а процент закрытия раневой поверхности на 3-и и 7-е сутки эксперимента значительно превосходил показатели других экспериментальных групп. К 14-м суткам во всех группах наблюдалась полная эпителизация ран. После введения МСК в ФГ отмечались более раннее образование и созревание грануляционной ткани, а также активный ангиогенез по сравнению с другими группами, что создавало благоприятные условия для формирования нормального микрорельефа кожи.

Таким образом, мезенхимальные стромальные клетки способствуют ускорению эпителизации полнослойных ран, созреванию грануляционной ткани и полноценному восстановлению дермального и эпидермального слоев поврежденного участка кожи. Результаты данной работы подтверждают перспективность использования МСК в фибриновом геле для решения задач регенеративной медицины.

A high paracrine activity of multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) and their multilineage differentiation capacity determine the promise of their application for the restoration of damaged tissues. The realization of MSCs reparative potential *in vivo* largely depends on the cell injection approach and/or the properties of applied carrier matrix.

The aim of the study was to assess the wound healing effect of MSCs within the fibrin gel obtained from platelet poor blood plasma using the excision full-thickness skin wound model in mice.

Human adipose tissue MSCs from passages 4–6 were used in this study. Fibrin gel (FG) was obtained from the whole blood of adult donors by 2-step centrifugation method. The platelet poor plasma fraction (5×10^4 platelets/ μL) was combined with the mixture of blood serum and CaCl_2 . The MSCs were included into gel in concentration of 5 million cells per 1 mL of FG. Full-thickness excision skin wounds were produced on the backs of male Balb/c mice using a dermal punch ($d = 6$ mm). The wounds were applied under the general anesthesia, according to ethical guidelines. Animals were divided into the groups, depending on the method of wound treatment: 1 – control (self-healing wounds); 2 – wounds treated with FG; 3 – wounds treated with MSCs within the FG. The wound healing was assessed by macroscopic, planimetric and histological methods according to the concept of wound process staging.

We revealed that the wound healing rates in the control group and group 2 (FG treatment) were not significantly different during the whole course of examination. The application of MSCs within the FG promoted the acceleration of epithelialization and the percentage of wound closure on days 3 and 7 of examination significantly exceeded the parameters of other groups. To day 14, a complete epithelialization was observed in all the experimental groups. The application of MSCs within the FG provided earlier formation and maturation of granular tissue and an active angiogenesis compared to other groups, generating a beneficial environment for the normal skin microrelief reconstitution.

Mesenchymal stromal cells provide acceleration of epithelialization in full-thickness wounds, maturation of granular tissue and complete restoration of dermal and epidermal layers of damaged site of the skin. These findings confirm the promise of using MSCs within the PG for meeting the challenges of regenerative medicine.