

Вплив екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят на лейкоцитарний профіль крові щурів з холодовою травмою шкіри

UDC 612.411.015.21.019:615.361.014.41:612.112:616.5-001.19

O.O. BOGATYREVA, S.YE. GALCHENKO*, B.P. SANDOMIRSKY

Effect of Extracts of Pig Spleen and Piglet Skin Cryopreserved Fragments on Blood Leukocyte Profile of Rats with Cold Injury of Skin

Досліджували вплив введення в черевну порожнину тварин екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят на швидкість загоєння ран і лейкоцитарний профіль крові щурів з холодовою травмою шкіри. Встановлено, що досліджені екстракти прискорюють загоєння холодкових ран шкіри та проявляють виражений імуномодуючий вплив. Отримані результати можуть бути використані при розробці імунобіологічних препаратів для нормалізації процесу загоєння ран.

Ключові слова: холодова рана, екстракт, шкіра, селезінка, лейкоцити.

Исследовали влияние введения в брюшную полость животных экстрактов криоконсервированных фрагментов селезенки свиней и кожи поросят на скорость заживления ран и лейкоцитарный профиль крови крыс с холодовой травмой кожи. Установлено, что исследованные экстракты ускоряют заживление холодковых ран кожи и проявляют выраженное иммуномодулирующее влияние. Полученные результаты могут быть использованы при разработке иммунобиологических препаратов для нормализации процесса заживления ран.

Ключевые слова: холодовая рана, экстракт, кожа, селезенка, лейкоциты.

The effect of introduction into animals' peritoneal cavity of the extracts of pigs' spleen and piglets' skin cryopreserved fragments on wound healing rate and blood leukocyte profile of the rats with cold trauma of skin was studied. It has been established that the studied extracts accelerate the healing of skin cold wounds and reveal the manifested immune modulating effect. The findings can be used when developing the immune biological preparations to normalize the process of wound healing.

Key words: cold wound, extract, skin, spleen, leukocytes.

Оптимізація загоєння ран шкіри, скорочення термінів лікування термічних, у тому числі і холодкових, ран залишається актуальною задачею [12]. Окрім відморожень, холодові рани є наслідком кріодеструкції пухлин шкіри.

Одним з напрямків, які інтенсивно розвиваються, є вивчення біологічної дії препаратів клітинної терапії [3–5, 14, 17, 18]. Значна увага приділяється дослідженню ролі пептидів у регулюванні фізіологічних функцій організму, особливо фізіологічної і репаративної регенерації [1, 6, 11, 16]. Нарівні з пептидами, для яких встановлена амінокислотна послідовність, активно вивчаються тканинноспецифічні комплекси пептидів з різних органів. Основна біологічна дія таких комплексів – модуляція фізіологічних функцій, нормалізація діяльності клітин, тканин, органів і цілого організму. Значна кількість пептидних комплексів проявляє імуномодуючі властивості. Крім того, вони впливають

Optimizing the healing of skin wounds, reduction of treatment terms of thermal wounds, including cold injuries, has remained an actual task [12]. Along with frostbites, cold wounds are the consequences of cryodestruction of skin tumours.

One of the directions which are intensively developed is the study of biological effect of cell therapy preparations [3–5, 14, 17, 18]. Significant attention is paid to the investigation of the role of peptides in regulating physiological functions of an organism, especially physiological and reparative regeneration [1, 6, 11, 16]. Along with the peptides for which there was established amino acid sequence, there have been actively studied tissue specific complexes of peptides from different organs. Basic biological effect of these complexes is modulation of physiological functions, normalization of activity of cells, tissues, organs and the whole organism. Large amount of peptide complexes manifests immune modulating properties. In addition, they affect neuro-

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини
НАН України, м. Харків

* Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:
вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61015; тел.: (+38 057) 372-74-35, факс: (+38 057) 373-30-84, електронна пошта:
sgalchenko@yandex.ru

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

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 372 74 35, fax: +380 57 373 3084, e-mail: sgalchenko@yandex.ru

на нейроендокринну систему, модулюють реакції судинно-тромбоцитарного гемостазу, згортання крові, перекисного окислення ліпідів, вміст реактантів гострої фази, а також впливають на регенерацію тканин та інші процеси [2, 6, 11].

Відомо, що екстракти кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят і селезінки свиней нормалізують процес загоєння термічних травм та імунний статус організму відповідно [2, 13]. Певні клітини імунної системи відіграють важливу роль у регуляції проліферації всіх соматичних клітин [7].

Мета роботи – дослідити в порівняльному плані вплив екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней і шкіри поросят на швидкість загоєння ран і лейкоцитарний профіль крові щурів з холодовою травмою шкіри.

Матеріали та методи

Експерименти проведені відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які схвалені III Національним конгресом з біоетики (Київ, 2007 р.) і погоджених з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.).

Екстракти одержували з кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят (ЕШП) та селезінки свиней (ЕСС) шляхом їх інкубації в фізіологічному розчині 60 хв. Отриманий екстракт звільняли від термолабільних білків [15].

Для визначення впливу екстрактів на показники крові здорових щурів в черевну порожнину вводили фізіологічний розчин (норма), ЕСС або ЕШП. Холодову травму шкіри моделювали на лабораторних щурах масою 190–210 г. Під поверхневим наркозом у щурів видаляли шерсть на стегні. Холодову травму наносили охолодженим у рідкому азоті мідним аплікатором діаметром 10 мм, експозиція становила 60 с. Щури з холодовою травмою були розділені на групи: контрольні (введення фізіологічного розчину) та дослідні (введення ЕСС або ЕШП). Екстракти з концентрацією пептидів 100 мкг/мл вводили щурам у черевну порожнину по 1 мл один раз на добу. В кожній групі було по 6 тварин.

Площу ран визначали планіметричним методом [8], концентрацію еритроцитів та лейкоцитів як описано раніше [9], а гемоглобін – за допомогою набору реагентів «Диagem-Т» (НПФ «Ренам», Росія).

Аналіз лейкоцитарної формули проводили на мазках, забарвлених азур II – еозином за Романовським-Гімза, підраховуючи по 500 клітин у світловому мікроскопі (ЛОМО, об. $\times 90$, ок. $\times 10$). Кров для досліджень брали з хвостової вени тварин. Лейкоцитарний індекс інтоксикації модифікований

endocrine system, modulate the reactions of vascular-platelet hemostasis, blood coagulation, lipid peroxidation, content of acute phase reactants as well as influence the tissue regeneration and other processes [2, 6, 11].

It is known that extracts of cryopreserved piglet skin and pig spleen fragments normalize the healing process of thermal traumas and immune status of an organism, correspondingly [2, 12]. Certain cells of immune system play an important role in regulation of proliferation of all somatic cells [7].

The research aim was to investigate comparatively the effect of extracts of cryopreserved fragments of pig spleen and piglet skin on the rate of wound healing and leukocyte profile of blood of the rats with skin cold trauma.

Materials and methods

The experiments were carried-out in accordance with the General Ethical Principles of Experiments in Animals, approved by the 3rd National Congress in Bioethics (Kiev, 2007) and coordinated with the statements European Convention about the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

The extracts were derived from cryopreserved fragments of piglet skin (PSkE) and pig spleen (PSIE) by means of their incubation in physiological solution for 60 min. The resulted extract was purified from thermolabile proteins [15].

To examine the effect of extracts on blood indices of healthy rats peritoneal cavity was injected with physiological solution (norm), and with PSIE or PSkE. Skin cold trauma was modelled in laboratory rats of 190–210 g. Under semianarcosis in rats the hair on hip was removed. Cold trauma was made by cooled by liquid nitrogen 10 mm copper applicator, the exposure was 60 s. The rats with cold trauma were divided into the groups: control (introduction of physiological solution) and experimental ones (introduction of PSIE and PSkE). The extracts with the concentration of peptides of 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ were injected into rat peritoneal cavity by 1 ml once per day. Each group comprised 6 animals.

The area of wounds was examined by planimetric method [8], concentration of erythrocytes and leukocytes as described earlier [9] and haemoglobin content was studied using Diagem T kit (Renam, Russia).

Leukogram was analyzed in the smears, stained with azur-II-eosin according Romanowsky-Giemsa, counting 500 cells in light microscope (LOMO, objective $\times 90$, and ocular $\times 10$). Blood for the studies was taken from tail vein of animals. Modified leukocyte intoxication index (MLII) was calculated according Ostrovsky [10]. The results were statistically processed with non-parametric MANOVA method.

(ЛПМ) розраховували за методом В.К. Островського та співавт. [10]. Статистичну обробку результатів проводили непараметричним методом MANOVA.

Результати та обговорення

На 3-ю добу експерименту статистично достовірних відмінностей в площі ран контрольної і дослідних груп не спостерігалось (табл. 1). Починаючи з 7-ї доби площа ран у тварин, яким вводили ЕСС або ЕШП, статистично достовірно менша, ніж у контрольних щурів. Таким чином, досліджені екстракти прискорюють загоєння холодкових ран в експерименті. Однак механізм їхньої дії, скоріш за все, різний. Можна припустити, що тканинноспецифічні пептиди, які входять до складу ЕШП, нормалізують або стимулюють проліферативну активність клітин шкіри при травмі [5, 11]. Розвиток і перебіг запалення, а також перехід фази запалення в фазу регенерації в значній мірі залежить від стану імунної системи організму. Прискорення загоєння ран при введенні ЕСС може бути пов'язано з нормалізацією імунної відповіді на травму. Відомо, що відповідна популяція клітин імунної системи приймає активну участь у регуляції проліферації соматичних клітин [7], а застосування ЕСС нормалізує стан імунної системи при запальних захворюваннях [2].

При введенні інтактним щурам ЕСС або ЕШП протягом 21-ї доби концентрація гемоглобіну, еритроцитів і лейкоцитів у крові щурів статистично достовірно ($p < 0,05$) не відрізнялася від норми протягом всього строку спостереження. Отже, введення здоровим тваринам екстрактів не впливало на стан еритро- та лейкопоезу.

Ці показники у тварин з холодовою травмою та при введенні екстрактів на фоні травми на 3-ю добу не відрізнялися від норми (табл. 2). На 7-у добу експерименту у контрольних тварин спостерігався лейкоцитоз і концентрація лейкоцитів становила 147% від норми. У тварин, яким вводили екстракти в цей і подальші строки спостереження, статистично достовірного підвищення концентрації лейкоцитів у порівнянні з нормою не спостерігалось. У контрольних тварин на 14 добу цей показник також нормалізувався.

Дослідження лейкоцитарної формули має велике значення для визначення вираженості процесу запалення, оцінки стану організму та ефективності терапії [9]. На 3 добу після моделювання холодкових ран у щурів відносна кількість нейтрофільних лейкоцитів була практично однаковою при всіх умовах експерименту. Відносна кількість лімфоцитів периферичної крові зменшилася з 77,8% в нормі до 52,9% в контролі та 56,1 і 50,3% – при введенні ЕСС або

Results and discussion

To the 3rd day of experiment no statistically significant differences in the area of wounds of the control and experimental groups were observed (Table 1). Starting from the 7th day the area of wounds in the animals treated with PISE or PSkE was statistically and significantly less than in the control animals. Thus the studied extracts accelerate the healing of cold wounds in the experiment. However, the mechanisms of their effect are likely different. One may suppose that tissue specific peptides being the components of PSkE normalize or stimulate proliferative activity of skin cells during trauma [5, 11]. Development and course of inflammation as well as transition of inflammation phase into regeneration one in a great extent depend on the state of organism immune system. Accelerated wound healing at PSIE treatment can be referred to the normalization of immune response to trauma. It is known that corresponding cell population of immune system participates actively in regulating the proliferation of somatic cells [7], and application of PSIE normalizes the state of immune system at inflammatory diseases [2].

When administering to intact rats of PSIE or PSkE during 21 days the concentration of haemoglobin, erythrocytes and leukocytes in rat blood did not differ statistically and significantly ($p < 0.05$) from the norm during the whole term of observation. So, the introduction to healthy animals of the extracts did not affect the state of erythro- and leukopoiesis.

These indices in the animals with cold trauma and during introduction of the extracts on the background of trauma to the 3rd day did not differ from the norm

Таблиця 1. Площа холодкових ран, (см²) у залежності від умов експерименту
Table 1. Area of cold wounds (cm²) depending on experimental conditions

Строк спостереження, доба Observation term, day	Умови експерименту Experimental conditions		
	Контроль Control	Введення ЕСС PSIE introduction	Введення ЕШП PSkE introduction
3	4,5 ± 0,4	3,8 ± 0,3	3,7 ± 0,4
7	3,4 ± 0,3	2,8 ± 0,2*	2,3 ± 0,2*
14	2,3 ± 0,3	0,8 ± 0,1*	0,6 ± 0,1*
21	1,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1*	Загоєння Epulosis

Примітка: * – відмінності статистично достовірні в порівнянні з контролем, $p < 0,05$.

Notes: * – differences are statistically significant if compared to the control, $p < 0.05$.

Таблиця 2. Концентрація лейкоцитів, 10^9 кл/л, в крові щурів у залежності від умов експерименту

Table 2. Concentration of leukocytes, 10^9 cells/l in rat blood depending on experimental conditions

Умови експерименту Experimental conditions	Строк спостереження, доба Observation term, day			
	3	7	14	21
Норма Norm	9,9 ± 0,7			
Контроль Control	12,9 ± 1,1	14,6 ± 0,9*	10,8 ± 0,9	10,3 ± 0,9
Введення ЕСС PSIE introduction	11,4 ± 0,9	10,7 ± 1,1	10,3 ± 0,8	10,4 ± 0,8
Введення ЕШП PSkE Introduction	12,0 ± 1,1	11,3 ± 1,0	10,9 ± 0,7	11,4 ± 1,1

Примітка: * – відмінності статистично достовірні в порівнянні з контролем, $p < 0,05$.

Notes: * – differences are statistically significant if compared to the control, $p < 0.05$.

ЕШП. Спостерігається також зменшення в крові еозинофілів і моноцитів.

Через тиждень після початку експерименту у контрольних щурів відносна кількість нейтрофілів збільшувалась до 50,7%. У тварин, яким вводили екстракти, їх кількість була значно меншою. Відносна кількість лімфоцитів у контролі становила 41,3%, при введенні ЕСС – 62,7%, при введенні ЕШП – 60,0%. У тварин контрольної групи також спостерігалось збільшення кількості еозинофілів в 1,7 рази в порівнянні з нормою. Такі зміни лейкоцитарної формули свідчать, що на 7-у добу при введенні тваринам екстрактів спостерігається їх позитивний вплив, а саме – зменшення запалення в зоні травми та вираженість некрозу тканин у порівнянні з контролем [9].

На 14-у добу експерименту вміст нейтрофільних лейкоцитів становив у контрольній групі щурів 30,0% і перевищував норму в 2,1 рази, а еозинофілів – 7,0%, що перевищувало норму в 1,8 рази (табл. 3). У тварин, яким вводили екстракти, відносна кількість еозинофілів, моноцитів і лімфоцитів відповідала нормі.

На 21-у добу у тварин, яким вводили ЕСС або ЕШП, лейкоцитарна формула крові поверталася до норми. У контрольних тварин відносний вміст паличко- і сегментоядерних нейтрофілів залишався вище норми. Отже, в цій групі тварин процес запалення ще не повністю завершився.

Ендогенна інтоксикація, як правило, настає при захворюваннях і ускладненнях, пов'язаних з посиленням розпадом тканин, підвищенням процесів

(Table 2). To the 7th day of experiment in the control animals there was observed leukocytosis and concentration of leukocytes made 147% from the norm. In the animals which were treated with the extracts no statistically significant rise in concentration of leukocytes was found at this and following terms of observation if compared with the norm. In the control animals to the 14th day this index was also normalized.

The investigation of leukogram is of great value to examine the manifestation rate of inflammation, estimation of the state of an organism and efficiency of the therapy [9]. To the 3rd day after simulation of cold wounds in rats the relative number of neutrophil leukocytes was almost similar at all the conditions of experiment. Relative amount of lymphocytes in peripheral blood reduced from 77.8% in the norm down to 52.9% in the control, 56.1% and 50.3% after introducing PSIE or PSkE, correspondingly. Also there was found a decrease in content of blood eosinophils and monocytes.

In a week after the experiment start in the control rats the relative number of neutrophils increased up to 50.7%. In the animals which were treated with the extracts, their number was significantly lower. Relative number of lymphocytes in the control made 41.3%, after introducing PSIE it was 62.7%, and 60.0% in the case of PSkE. In the animals of the control group there was also observed the rise in the number of eosinophils in 1.7 times if compared with the norm. These changes of leukogram testify to the fact that to the 7th day after the animals were treated with extracts the positive effect was observed, *i. e.* the decreased inflammation in the zone of trauma and manifested necrosis of tissue if compared to the control [9].

To the 14th day of experiment the content of neutrophil leukocytes made 30.0% in control group of rats which exceeded the norm in 2.1 times and for eosinophils it was 7.0% which exceeded the norm in 1.8 times (Table 3). In the animals which were introduced with the extracts the relative content of eosinophils, monocytes and lymphocytes corresponded to the norm.

To the 21st day in the animals which were introduced with PSIE or PSkE, the leukogram of blood returned to the norm. In the control animals the relative content of rod and segmented neutrophils remained higher than the norm. So, in this group of animals the inflammation has not been terminated.

Endogenous intoxication as a rule starts at diseases and complications related to the strengthened decay

Таблиця 3. Лейкоцитарний профіль крові щурів з холодовими травмами на 14-ту добу експерименту
Table 3. Leukocyte profile of rats' blood with cold traumas to the 14th day of experiment

Умови експерименту Experimental conditions	Клітини,% Cells,%					
	Нейтрофіли Neutrophils			Еозинофіли Eosinophils	Моноцити Monocytes	Лімфоцити Lymphocytes
	Юні Young	Паличкоядерні Rod	Сегментоядерні Segmented			
Норма Norm	—	0,9 ± 0,1	13,5 ± 1,0	3,9 ± 0,3	3,2 ± 0,2	78,5 ± 5,9
Контроль Control	—	1,6 ± 0,2	28,4 ± 2,1	7,0 ± 0,4	2,9 ± 0,2	60,1 ± 4,7
Введення ЕСС PSIE introduction	—	0,7 ± 0,1	24,9 ± 1,9	3,1 ± 0,2	3,9 ± 0,3	67,4 ± 4,2
Введення ЕШП PSkE Introduction	—	1,1 ± 0,1	27,7 ± 2,2	4,4 ± 0,3	2,9 ± 0,2	63,9 ± 3,9

катаболізму, недостатністю функції печінки і нирок [10]. Тому в літературі все частіше з'являються повідомлення про використання інтегральних показників ендогенної інтоксикації, частина яких змінюється вже на початкових стадіях захворювання. Це дозволяє оцінити в динаміці стан різних ланок імунної системи, не вдаючись до спеціальних методів дослідження [9, 10].

Одним з показників процесів тканинної деградації і рівня інтоксикації є ЛІІМ. Цей індекс на сьогодні є найпоширенішим індексом інтоксикації в різних галузях медицини. Зростання даного показника свідчить про підвищення рівня ендогенної інтоксикації і активації процесів розпаду [9, 10].

На 3-ю добу після нанесення холодової травми ЛІІМ перевищував норму в 4,6–5,1 рази (табл. 4). При цьому відмінності в величині цього індексу між контрольною і дослідними групами були незнач-

of tissues, increased catabolism, insufficient functioning of liver and kidneys [10]. Therefore the reports on the application of integral indices of endogenous intoxication, the part of those change even at disease initial stages, have appeared more often. This enables the estimation of the state of different links of immune system in dynamics, without recourse to special research methods.

One of the indices of tissue degradation and intoxication level is MLII. The increase in this index testifies to a rise in the level of endogenous intoxication and activation of decay processes [9, 10].

To the 3rd day after cold trauma the MLII exceeded the norm in 4.6–5.1 times (Table 4). Herewith the differences in the values of this index between the control and experimental groups were non-significant. The most manifested differences of MLII appeared to the 7th day of experiment. In the rats of the control group there was observed its further increase from 0.66 to 1.02, and in the animals treated with the extracts there was found a decrease in MLII if compared with the 3rd day. After PSIE treatment of the animals with cold trauma the intoxication index was 41% and after application of PSkE it made 46% of the control values. The most manifested reduction was found in the control animals. To the 21st day in the animals treated with PSIE this index returned to the norm, while in the control animals and the animals treated with PSkE there was a surplus of 1.9 and 1.4 times comparing to the norm, correspondingly. Basing on the data presented one may conclude that PSIE and PSkE reduce the manifestation of destructive processes in skin at cold trauma.

Таблиця 4. Величина ЛІІМ у щурів в залежності від умов експерименту та строку спостереження

Table 4. Value of MLII in rats depending on experimental conditions and observation term

Умови експерименту Experimental conditions	Строк спостереження, доба Observation term, day			
	3	7	14	21
Норма Norm	0,15			
Контроль Control	0,66	1,02	0,42	0,29
Введення ЕСС PSIE introduction	0,58	0,42	0,34	0,15
Введення ЕШП PSkE Introduction	0,77	0,47	0,40	0,21

ними. Найбільш виражені відмінності ЛПМ були на 7 добу експерименту. У щурів контрольної групи спостерігалось подальше його збільшення з 0,66 до 1,02, у тварин, яким вводили екстракти – зменшення ЛПМ в порівнянні з 3-ю добою. При введенні тваринам з холодовою травмою ЕСС індекс інтоксикації становив 41%, а при введенні ЕШП – 46% від значень в контролі. На 14 добу цей індекс зменшувався у всіх групах тварин. Найбільш виражене зменшення спостерігалось у контрольних тварин. На 21 добу у тварин, яким вводили ЕСС, цей показник повертався до норми, а в контролі і при введенні ЕШП перевищував норму в 1,9 і 1,4 рази відповідно. Виходячи з наведених даних, можна зробити висновок, що ЕСС та ЕШП зменшують вираженість деструктивних процесів у шкірі при холододійній травмі.

Висновки

Екстракти кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят прискорюють загоєння холододійних ран шкіри у щурів. Вони проявляють виражений імуномодулюючий вплив: в більш ранні строки, в порівнянні з контролем, відбувається нормалізація лейкоцитарної формули крові і ЛПМ, а отже зменшується вираженість запалення і деструктивних процесів в рані. Отримані результати можуть бути використані при розробці імунобіологічних препаратів для нормалізації процесу загоєння ран.

Литература

1. Ашмарин И.П., Обухова М.Д. Регуляторные пептиды, функционально-непрерывная совокупность // Иммунология. – 2002. – №3. – С. 40–48.
2. Бызов В.В., Высеканцев И.П., Гальченко С.Е., Сандомирский Б.П. Влияние эндобронхиального введения экстракта кріоконсервированных фрагментов ксеноселезенки на некоторые факторы местного иммунитета в комплексной терапии больных с абсцессами легких // Проблемы криобиологии. – 2001. – №4. – С. 65–70.
3. Волков А.В. Краткий обзор коммерчески доступных клеточных продуктов для восстановления кожных покровов // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – №4(6). – С. 62–65.
4. Гольцев А.Н., Дубрава Т.Г., Гаевская Ю.А и др. Криобиологические технологии как компонент оптимизированных методов лечения аутоиммунных заболеваний // Клинічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2009. – №1–2(20–21). – С. 46–51.
5. Гординская Н.А. Влияние иммунопрепаратов на течение инфекции при экспериментальной термической травме // Иммунология. – 2008. – №4. – С. 212–213.
6. Гусак В.К., Николенко Ю.И., Фисталь Э.Я. и др. Иммуная компетентность кожи как один из механизмов развития аутоагрессии при термических повреждениях // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2000. – Т. 4, №2. – С. 256–262.
7. Донцов В.И. Иммунобиология постнатального развития. – М.: Наука, 1990. – 151 с.

Conclusions

Extracts of cryopreserved fragments of pig spleen and piglet skin accelerate healing of skin cold wounds in rats. They manifest a pronounced immune modulating effect: in earlier terms there is a normalization of leukocyte formula of blood and MLII if compared to the control, hence the manifestation rate of inflammation and destructive processes in wound are reduced. The obtained results can be used in development of immunobiological formulations to normalize the process of wound healing.

References

1. Ashmarin I.P., Obukhova M.D. Regulatory peptides, functionally continuous population // Immunologiya. – 2002. – N3. – P. 40–48.
2. Byzov V.V., Vysekantsev I.P., Galchenko S.Ye., Sandomirskiy B.P. Effect of endobronchial introduction of extract of cryopreserved xenospleen fragments on some local immunity factors in combined therapy of patients with lungs abscesses // Problems of Cryobiology. – 2001. – N4. – P. 65–70.
3. Volkov A.V. Brief review of commercially available cell products for recovery of skin integument // Kletochnaya Transplantologiya i Tkanevaya Inzheneriya. – 2007. – N4(6). – P. 62–65.
4. Goltsev A.N., Dubrava T.G., Gaevskaya Yu.A. et al. Cryobiological technologies as component of optimized treatment methods of autoimmune diseases // Klinichnaya Immunologiya. Alergologiya, Infektologiya. – 2009. – N1–2(20–21). – P. 46–51.
5. Gordinskaya N.A. Effect of immune preparations on infection course at experimental thermal trauma // Immunologiya. – 2008. – N4. – P. 212–213.
6. Gusak V.K., Nikolenko Yu.I., Fistal E.Ya. et al. Immune competence of skin as one of the mechanisms of autoaggression development at thermal injuries // Vestnik Gигiєny i Epidemiologii. – 2000. – Vol. 4, N2. – P. 256–262.
7. Dontsov V.I. Immunobiology of postnatal development. – Moscow: Nauka, 1990. – 151p.
8. *Methods of clinical and experimental studies in medicine* / Ed. by I.P. Kaydasheva. – Poltava: Polimet, 2003. – 319 p.
9. Nazarenko G.I., Kishkum A.A. Clinical estimation of results of laboratory studies. – Moscow: Meditsyna, 2000. – 544p.
10. Ostrovsky V.K., Maschenko A.V., Yangolenko D.V., Makarov S.V. Blood counts and leukocyte index of intoxication in assessment of severity and examining of forecast at inflammatory, purulent and pyo-destructive diseases // Klin. Lab. Diagnostika. – 2006. – N6. – P. 5053.
11. Rolik I.S. Bases of clinical pharmacology of organ preparations. Manual. – Moscow: RegBioMed. – 2004. – 336 p.
12. Ruziboev S.A., Khakimov E.A. Surgical treatment of deep burns in persons of aged and geriatric age with burdened premorbid background // Vestnyk Neotlozhnoy i Vosstanovitel'noy Khirurgii. – 2011. – Vol. 12, N1. – P. 30–33.
13. Shkodovskaya N.Yu., Galchenko S. Ye., Mamontova A.V., Sandomirsky B.P. Effect of extract of newborn piglets' skin on healing of burn wounds // Problems of Cryobiology. – 2004. – N4. – P. 46–50.
14. Shumakov V.I., Rasulov M.F. Comparative assessment of application efficiency of allogeneic embryonic fibroblasts and mesenchymal stem cells of bone marrow for therapy of deep burn wounds // Vestnyk Transplantol. i Iskusstv. Organov. – 2002. – N4. – P. 7–11.
15. Patent 64381 A Ukraine, IPC7 A61K35/12. Method of obtaining of xenogeneic organ extracts / S.Ye. Galchenko, N.Yu. Shkodovska, B.P. Sandomirsky, V.I. Grischenko; IPC&C of the National

8. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Під ред. І.П. Кайдашева. – Полтава: Полімет, 2003. – 319 с.
9. Назаренко Г. И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. – М.: Медицина, 2000. – 544 с.
10. Островский В.К., Мащенко А.В., Янголенко Д.В., Макаров С.В. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях // Клини. и лаб. диагностика. – 2006. – №6. – С. 50–53.
11. Роллик И.С. Основы клинической фармакологии органопрепаратов. Руководство. – М.: РегБиоМед. – 2004. – 336 с.
12. Рузубов С.А., Хакимов Э.А. Хирургическое лечение глубоких ожогов у лиц пожилого и старческого возраста с отягощенным преморбидным фоном // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2011. – Т. 12, №1. – С. 30–33.
13. Шкодовская Н.Ю., Гальченко С.Е., Мамонтова А.В., Сандомирский Б.П. Влияние экстракта кожи новорожденных поросят на заживление ожоговых ран // Проблемы криобиологии. – 2004. – №4. – С. 46–50.
14. Шумаков В.И., Расулов М.Ф. Сравнительная оценка эффективности применения аллогенных эмбриональных фибробластов и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для терапии глубоких ожоговых ран // Вестник трансплантол. и искусственных органов. – 2002. – №4. – С. 7–11.
15. Пат. 64381 А Україна, МПК⁷ А61К35/12. Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів / С.Є. Гальченко, Н.Ю. Шкодовська, Б.П. Сандомирський, В.І. Грищенко; ІПКіК НАН України. – №2003054649; заявлено 22.05.2003; опубл. 16.02.2004. Бюл. №2.
16. Kinoshita M., Seki S., Ono S. Paradoxical effect of IL-18 therapy on the severe and mild *Escherichia coli* infections in burn-injured mice // Ann. Surg. – 2004. – Vol. 240, №2. – P. 313–320.
17. Obminiska-Mrukowicz B., Szczypka M. Effect of calf thymus extract and zinc supplementation on the cellular response of mice exposed to restraint stress // Pol. J. Vet. Sci. – 2005. – Vol. 8, №1. – P. 1–9.
18. Qin X.M., Duan M.X., Deng B. et. al. Isolation and identification of a new thymic peptide from calf thymus // Biochemistry. – 2004. – Vol. 69, №8. – P. 921–925.

Accepted 21.02.2012

Надійшла 21.02.2012