

ВЛИЯНИЕ «КОЛЛОСТ» ГЕЛЯ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

А. В. Бутенко, С. В. Пинчук, И. Д. Волотовский

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В настоящее время для восстановления дефектов кожи, лечения ожогов и трофических язв применяются различные биомедицинские клеточные продукты (БМКП) на основе культивированных фибробластов дермы. В качестве носителя для клеток часто используют коллагеновый препарат «Коллост». «Коллост» гель (ЗАО «БиоФармхолдинг», Россия) получают из кожи телят, содержит коллаген I типа, который по биохимическому составу и структуре близок к человеческому коллагену с полностью сохраненной нативной структурой.

Целью данного исследования было изучение влияния времени инкубации фибробластов с «Коллост» гелем на метаболические и функционально-структурные показатели клеток.

Фибробласты дермы человека 3 пассажа инкубировали в 1% «Коллост» геле 30 мин, 1 и 4 ч при температуре +28 °С. Митохондриальный мембранный потенциал фибробластов измеряли с помощью флуоресцентного зонда тетраметилродамина метилового эфира перхлората (TMRM^{EP}). В качестве положительного контроля к суспензии клеток добавляли разобщитель дыхательной цепи митохондрий – карбонилцианид 4-(трифлуорометокси)фенилгидразона (FCCP). Внутриклеточное содержание ионизированного кальция определяли с использованием флуоресцентного зонда Fluo-3AM, активных форм кислорода – 2,7-дихлорфлуоресцеин ацетат зонда на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США). Микровязкость липидного бислоя мембран определяли по поляризации флуоресценции дифенилгексатриена.

При нормальном функционировании клетки в ней поддерживается оптимальный уровень параметров внутриклеточных систем. Митохондрии играют при этом ключевую роль как производители энергии. Важное значение имеют также кальциевый гомеостаз, определенное содержание в клетке активных форм кислорода и вязкость липидного бислоя мембран. Установлено, что инкубация фибробластов дермы в геле «Коллост» в течение 30 мин, 1 и 4 ч не приводила к изменению величины мембранного потенциала митохондрий, уровень которого соответствовал контролю, сохранялась жизнеспособность клеток. «Коллост» гель не влиял на микровязкость липидного бислоя мембран клеток, уровни содержания внутриклеточного кальция и активных форм кислорода в фибробластах.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что не изменяется структурно-функциональное состояние фибробластов иммобилизованных в «Коллост» геле в составе БМКП в течение 4 часов.