

10. Duguid JKM, Carr R, Jenkins JA, et al. Clinical evaluation of the effects of storage time and irradiation on transfused platelets. *Vox Sang* 1991; 60: 151–154.
11. Goes EG, Borges JC, Covas DT, et al. Quality control of blood irradiation: determination T cells radiosensitivity to cobalt-60 gamma rays. *Transfusion* 2006; 46 (1): 34–40
12. Nesis AI. Effect of single irradiated blood transfusion on the body. In: Proc. Irradiation of blood outside the body: Materials Vsesoyuzn.konf. M., 1980; p. 56–62. Russian (Несис А.И. Влияние однократной трансфузии облученной крови на организм. В кн.: Облучение крови вне организма: материалы Всесоюзн. конф. М., 1980; с. 56–62)
13. Hansen E, Bechmann V, Altmeyen J. Intraoperative blood salvage in cancer surgery: safe and effective? *Transfus Apheresis Sci* 2002; 27 (2): 153–7.
14. Hansen E. Cell Salvage in the Presence of Malignancy. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine* 2003; 5 (5): 472–477.
15. Weisbach V., Eckstein R. Blood Irradiation for Intraoperative Autotransfusion in Cancer Surgery: the View of Transfusion Medicine. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 2004; 31: 282–285.
16. Melany A. Osby, Sunita Saxena, Shulman Ira A. Safe Handling and Administration of Blood Components: Review of Practical Concepts. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 2007; 131 (5): 690–694.
17. Transfusion Blood Irradiators Licensed to MDS Nordion. <http://www.radsources.com/company/timeline>
18. Radiological Devices Advisory Panel April 12, 2012. <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/MedicalDevices/RadiologicalDevicePanel/UCM299255.pdf>
19. Filatov FP. Viral safety of blood transfusion. *Nature* 2005; (3): 3–8. Russian (Филатов Ф.П. Вирусная безопасность переливания крови. *Природа* 2005; (3): 3–8.)
20. Uchaykin VF, Cherednychenko TF, Smirnov AV. *Hepatology Infectious Diseases: a guide for physicians*. Moscow: GEOTAR Media, 2012; 640 p. Russian (Учайкин В.Ф., Чердынченко Т.Ф., Смирнов А.В. Инфекционная гепатология: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012; 640 с.)
21. Zhiburt EB. Benchmarking blanks and Blood Transfusion: A Guide for Physicians. Moscow: RANS, 2009; 364 p. Russian (Жибурт Е.Б. Бенчмаркинг заготовки и переливания крови: руководство для врачей. М.: РАЕН, 2009; 364 с.)
22. Trofimov VI. Radiation sterilization and disinfection technology: current status and prospects, machinery and equipment. In: Proceedings of the International Symposium "The Role of immunobiological drugs in modern medicine". Ufa, Russia, 1995; p. 233–238. Russian (Трофимов В.И. Радиационные технологии обеззараживания и стерилизации: современное состояние и перспективы, техника и оборудование. В кн.: Материалы международного симпозиума «Роль иммунобиологических препаратов в современной медицине». Уфа, 1995; с. 233–238.)
23. Kusliy AG, Nigmatulin TG, Tal'roze VL, VI Trofimov. Radiation inactivation of viruses in blood plasma, and practical aspects of the fundamental problems. *Chemical Physics* 2002; 21 (4): 86–95. Russian (Куслий А.Г., Нигматулин Т.Г., Тальрозе В.Л., Трофимов В.И. Радиационная инактивация вирусов в плазме донорской крови: практические аспекты и фундаментальные проблемы. *Химическая физика* 2002; 21 (4): 86–95.)
24. Trofimov VI. Radiation decontamination of blood and plasma derived therefrom protein preparations. *Remedium* 2003; (5): 62–64. Russian (Трофимов В.И. Радиационное обеззараживание плазмы донорской крови и получаемых из нее белковых препаратов. *Ремедиум* 2003; (5): 62–64.)
25. Shangareyeva RF. Vliyaniye krioradiatsionnoy processing donated blood plasma protein composition of its theme: PhD diss. Ufa, 2002; 129 p. Russian (Шангареева Р.Ф. Влияние криорадиационной обработки плазмы донорской крови на ее белковый состав: дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2002; 129 с.)
26. Petz LD, Calhoun L, Yam P, et al. Transfusion-associated graft-versus-host disease in immunocompetent patients: report of fatal case associated with transfusion of blood from a second-degree relative and a survey of predisposing factors. *Transfusion* 1993; 33: 742.
27. Karjakin AV, Terentyeva OA. Validation of ELISA test systems for monitoring viral safety of products manufactured from human blood. *Problems of Hematology and Blood Transfusion* 2001; (3): 52–53. Russian (Карякин А.В., Терентьева О.А. Валидация ИФА-тест-систем для проведения контроля вирусной безопасности препаратов, изготовленных из крови человека. *Проблемы гематологии и переливания крови* 2001; (3): 52–53.)
28. Shuvalova EP. Infectious diseases: textbook. Moscow: Meditsina, 2001; 640p. Russian (Шувалова Е.П. Инфекционные болезни: учебник. М.: Медицина, 2001; 640 с.)
29. Ragimov A.A. Molecular Hemotransfusion. *Bulletin of the blood service in Russia* 2013; (2): 10–19. Russian (Рагимов А.А. Молекулярная трансфузиология. *Вестник службы крови России* 2013; (2): 10–19.)
30. Zhiburt EB. Terms of plasma transfusion: Guidelines for doctors. Moscow: Meditsina, 2008; 240 p. Russian (Жибурт Е.Б. Правила переливания плазмы: руководство для врачей. М.: Медицина, 2008; 240 с.)
31. Chechetkin AV, Director RosNIIGT FMBA of Russia. From a scientific idea to production substitutes. *Who's Who in Medicine* 2014; 66 (2): 57. Russian (Чечеткин А.В., директор РосНИИГТ ФМБА России. От научной идеи до производства кровезаменителей. *Кто есть Кто в медицине* 2014; 66 (2): 57.)
32. Bertolini Josef, Neil Goss, John Curling. *Production of Plasma Proteins for Therapeutic Use*. Hoboken, N. J.: John Wiley & Sons, 2013; 512 p.
33. Savilova AM, Trofimov DY, Aleseev LP, Haitov RM. DNA vaccines: current status and prospects. *Immunologiya* 2007; (2): 114–123. Russian (Савилова А.М., Трофимов Д.Ю., Алесеев Л.П., Хаитов Р.М. ДНК-вакцины: современное состояние и перспективы. *Иммунология* 2007; (2): 114–123.)
34. Giarrantana MC, Rougard H, Dumont A, et al. Proof of principle for transfusion of in vitro-generated red blood cells. *Blood*: Published online. September 1, 2011, doi: 10.1182/blood-2011-06-362038.
35. Takeoka S. Developmental trend of Artificial Blood. *JMAJ* 2005; 48 (3): 135–139.

УДК 577.34:616.5

Оригинальная статья

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ТЕРАПИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

П. С. Еремин — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, биолог; **Н. А. Пугалева** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, оператор ЭВМ; **М. Б. Мурзабеков** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, хирург; **В. Г. Лебедев** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, ведущий научный сотрудник; **Н. Л. Лазарева** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный

медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, врач-иммунолог; **И. И. Еремин** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий центром биомедицинских технологий, кандидат медицинских наук; **А. А. Пулин** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий криобанком, кандидат медицинских наук; **А. Н. Осипов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий лабораторией, доктор биологических наук; **А. Ю. Бушманов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заместитель генерального директора, доктор медицинских наук, профессор; **К. В. Котенко** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, генеральный директор, доктор медицинских наук, профессор.

EFFECTIVENESS OF AUTOLOGOUS CELL PRODUCTS DERIVED FROM ADIPOSE TISSUE FOR THE TREATMENT OF SEVERE LOCAL RADIATION INJURIES

P. S. Eremin — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Biologist; **N. A. Pigaleva** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Computer operator; **M. B. Murzabekov** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Surgeon; **V. G. Lebedev** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Leading researcher; **N. L. Lazareva** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Immunologist; **I. I. Eremin** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Head of the Center for Biomedical Technologies, Candidate of Medical Sciences; **A. A. Pulin** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Head of Cryobank, Candidate of Medical Sciences; **A. N. Osipov** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Head of laboratory, Doctor of Medical Sciences; **A. Yu. Bushmanov** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Deputy Director General, Doctor of Medical Sciences, Professor; **K. V. Kotenko** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Director General, Doctor of Medical Sciences, Professor.

Дата поступления — 10.11.2014 г.

Дата принятия в печать — 10.12.2014 г.

Еремин П. С., Пигалева Н. А., Мурзабеков М. Б., Лебедев В. Г., Лазарева Н. Л., Еремин И. И., Пулин А. А., Осипов А. Н., Бушманов А. Ю., Котенко К. В. Исследование эффективности применения аутологичных клеточных продуктов на основе жировой ткани для терапии тяжелых местных лучевых повреждений. Саратовский научно-медицинский журнал 2014; 10 (4): 838–844.

Цель: исследовать динамику заживления язвенной поверхности в зависимости от типа лучевой язвы и применяемого клеточного продукта на экспериментальной модели тяжелых местных лучевых поражений (МЛП) у крыс после действия мягких рентгеновских лучей. **Материал и методы.** Для проведения эксперимента использовали половозрелых самцов породы Wistar массой 180–200 г. В исследовании использовали стандартную модель тяжелых МЛП кожи при действии мягкого рентгеновского излучения на модифицированной установке РАП100–10. Выделение стромально-васкулярной фракции проводили посредством ферментативной обработки жировой ткани. Трансплантацию клеточных продуктов проводили на 20-е сутки после облучения в случае модели острого лучевого поражения (ранние лучевые язвы) и на 120-е сутки в случае модели отдаленных последствий лучевого поражения (хронические лучевые язвы). В качестве положительного контроля использовались аллогенные ММСК костного мозга крыс. **Результаты.** Впервые отработано применение аутологичных клеточных продуктов из жировой ткани на животной модели тяжелых МЛП. Установлено, что применение клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани для лечения ранних лучевых поражений не только дает более выраженный терапевтический эффект (по сравнению с применением ММСК), но и сам эффект можно наблюдать в более ранние сроки. На модели отдаленных последствий лучевого поражения терапевтический эффект оказывают все клеточные продукты. **Заключение.** Клеточные продукты на основе жировой ткани являются перспективным материалом для дальнейшего исследования и внедрения в клиническую практику лечения МЛП. Использование данной методики позволяет подобрать схему терапии, исходя из индивидуальных особенностей пациента и типа МЛП.

Ключевые слова: стромально-васкулярная фракция, клеточные технологии, местные лучевые повреждения, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, жировая ткань

Eremin PS, Pigaleva NA, Murzabekov MB, Lebedev VG, Lazareva NL, Eremin II, Pulin AA, Osipov AN, Bushmanov AY, Kotenko KV. Effectiveness of autologous cell products derived from adipose tissue for the treatment of severe local radiation injuries. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2014; 10 (4): 838–844.

Aim: to investigate the dynamics of ulcer surface healing depending on type of radiation ulcer and cell product in murine experimental model of severe local radiation injuries after exposure to X-rays. **Material and Methods.** Mature Wistar rats were used for experiments (males, weight 180–200 grams). Standard model of severe local radiation injuries was used: X-ray irradiation of animals on a modified RAP100–10 device. Isolation of the stromal-vascular fraction carried out by enzymatic treatment of adipose tissue. Autologous cells transplantation performed on day 20 after irradiation in the case of acute radiation injury model (early radiation ulcers) and day 120 in the case of long-term effects of radiation injury model (chronic radiation ulcers). As a positive control allogeneic MMSC derived from rat bone marrow were used. **Results.** Application of autologous cell products derived from adipose tissue in animal model of severe local radiation injuries was investigated for the first time. It was shown that usage of stromal vascular fraction of adipose tissue for the treatment of early radiation injuries not only leads to better improvement (as compared with the use of MMSCs), but also pronounced therapeutic effect could be observed at an earlier time. On the model of long-term effects of radiation injuries therapeutic effect was observed for all cell products. **Conclusion.** Cell-based products derived from adipose tissue are promising material for future research and clinical application for treatment of local radiation injuries. Described method allows choosing treatment strategy basing on patient's individual characteristics and the type of local radiation injuries.

Key words: stromal-vascular fraction, cell technologies, local radiation injuries, multipotent mesenchymal stromal cells, adipose tissue.

Введение. При воздействии ионизирующего излучения (ИИ) на человека одним из наиболее рас-

пространенных видов лучевых повреждений являются местные поражения кожи и подлежащих тканей. Местные лучевые поражения (МЛП) кожи часто встречаются при радиационных авариях и инцидентах с источниками ионизирующих излучений, а также как осложнения после рентгенотерапии и гамма-

Ответственный автор — Еремин Илья Игоревич
Тел. (499) 1935888
E-mail: cd105@mail.ru

терапии опухолей и применения методов лучевой диагностики при других заболеваниях [1]. Для МЛП характерно появление тяжелого болевого синдрома, часто не купируемого приемом анальгетиков, а при поражениях тяжелой и крайне тяжелой степени могут развиваться отдаленные последствия в виде рецидивирующих поздних лучевых язв, лучевого фиброза, контрактур, остеопороза и др. Как показывают исследования, видимые на глаз изменения кожи являются следствием радиационного поражения стволовых и пролиферирующих клеток эпидермиса [2]. Немаловажное значение имеет также поражение менее радиочувствительных элементов: эндотелия сосудов, фибробластов, эластической и мышечной оболочек сосудов.

К настоящему времени не найдено какого-либо радикального средства лечения МЛП. Однако в каждом отдельном случае выбор конкретного способа и средства лечения базируется на оценке тяжести поражения и прогнозировании течения патологического процесса. Традиционная консервативная терапия позволяет добиться полного заживления МЛП только у пациентов с неглубокой (средней степени) лучевой язвой, с небольшой площадью (<2,5 см²) [3, 4]. Применение хирургических методов лечения необходимо при тяжелых МЛП и незаживающих лучевых язвах, так как консервативная терапия в этих случаях не оказывает должного эффекта. Основную часть больных с МЛП представляют пациенты, проходившие лучевую терапию. Это, как правило, возрастная группа пациентов, имеющих сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой системы, дыхательной системы и др., а следовательно, имеющих противопоказания к оперативному лечению.

Одним из перспективных методов лечения тяжелых лучевых ожогов может стать клеточная терапия. Клинические исследования аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), выделенных из костного мозга, в терапии пациентов с МЛП показали хорошие результаты [5]. Но, несмотря на положительный результат, данный метод имеет ряд недостатков: болезненная и сложная процедура забора костного мозга и обязательный длительный этап культивирования клеток. С развитием клеточных технологий все большее распространение приобретают минимально манипулированные аутологичные клеточные продукты на основе жировой ткани, в частности стромально-васкулярная фракция (СВФ). Жировая ткань состоит в основном из адипоцитов, эндотелиальных и гладкомышечных клеток кровеносных сосудов и их предшественников, перидоцитов, фибробластов, клеток крови, включая В- и Т-лимфоциты [6].

За счет ММСК обеспечивается способность к дифференцировке в различных направлениях [7]. Кроме того, регенеративные клетки жировой ткани вырабатывают большое количество паракринных факторов, которые оказывают иммуномодулирующий эффект, предотвращают клеточную гибель по механизму апоптоза, способствуют неоангиогенезу, ремоделированию фиброзной и соединительной ткани. Стволовые клетки жировой ткани продуцируют широкий спектр цитокинов и факторов роста: FGF (фактор роста фибробластов), HGF (фактор роста гепатоцитов), VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), TGFβ (трансформирующий ростовой фактор бета), GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), IL (Интерлейкин) — 6, — 8, — 17, NGF (фактор роста нервов), TIMP-1 (эндо-

генный ингибитор металлопротеиназ — 1) и TIMP-2 (ингибитор металлопротеиназ — 2), ангиогенин, ангиопоэтин-1, плацентарный фактор роста [8].

Цель: исследовать динамику заживления язвенной поверхности в зависимости от типа лучевой язвы и применяемого клеточного продукта на экспериментальной модели тяжелых местных лучевых поражений у крыс после действия мягких рентгеновских лучей.

Материал и методы. Для проведения эксперимента использовали половозрелых самцов породы Wistar массой 180–200 г. В исследовании использовали стандартную модель тяжелых МЛП кожи при действии мягкого рентгеновского излучения на модифицированной установке РАП100–10 (напряжение на трубке 30 кВ, ток 6,1 мА, алюминиевый фильтр толщиной 0,1 мм. Животных облучали в течение 380 с до достижения дозы на поверхности кожи 110 Гр. Мощность дозы 17,5 Гр/мин). Эксперимент проводили на животных с двумя типами поражений: острое лучевое поражение (ранние язвы) и отдаленные последствия лучевого поражения (хронические язвы). Дизайн эксперимента приведен в таблице.

Дизайн эксперимента

Ранние МЛП, n=30	Хронические МЛП, n=50
СВФ	СВФ
ММСК	ММСК
Контрольная группа	Липоаспират
	Липоаспират, обогащенный СВФ
	Контрольная группа

Забор жировой ткани у крыс проводили под общим наркозом, методом шприцевой липосакции в брюшной и паховой области. Выделение стромально-васкулярной фракции проводили посредством ферментативной обработки жировой ткани. Инкубировали 30 мин в 0,015% растворе коллагеназы II типа (Sigma, США) при 37° С. Фермент инактивировали средой DMEM с низким содержанием глюкозы (StemCell Technology, США) и 5% FBS (Biological Industries, Израиль). Подсчет и оценку жизнеспособности клеток проводили на автоматическом счетчике клеток Countess (Invitrogen, США). Содержание живых клеток составляло 92,1±5,8% при общей клеточности 1x10⁶±0,2x10⁶ клеток в каждом продукте. После подсчета клетки разводили в 1 мл физиологического раствора. Для получения липоаспираата центрифугировали жировую ткань при 2000g 10 мин, после чего отбирали 0,5 мл отделенного жира и доводили до конечного объема в 1 мл физиологическим раствором. В случае обогащенного липоаспираата препараты стандартизовали: к 0,5 мл жировой ткани добавляли 0,5x10⁶ клеток стромально-васкулярной фракции в 0,5 мл физиологического раствора.

Сразу после подготовки клеточных продуктов производилось их введение экспериментальным животным, туннельным способом в области дна язвы в 5 точках, за каждый прокол вводили 0,2 мл клеточного продукта. Трансплантацию клеточных продуктов проводили на 20-е сутки после облучения в случае модели острого лучевого поражения (ранние лучевые язвы) и на 120-е сутки в случае модели отдаленных последствий лучевого поражения (хронические лучевые язвы). В качестве положительного контроля

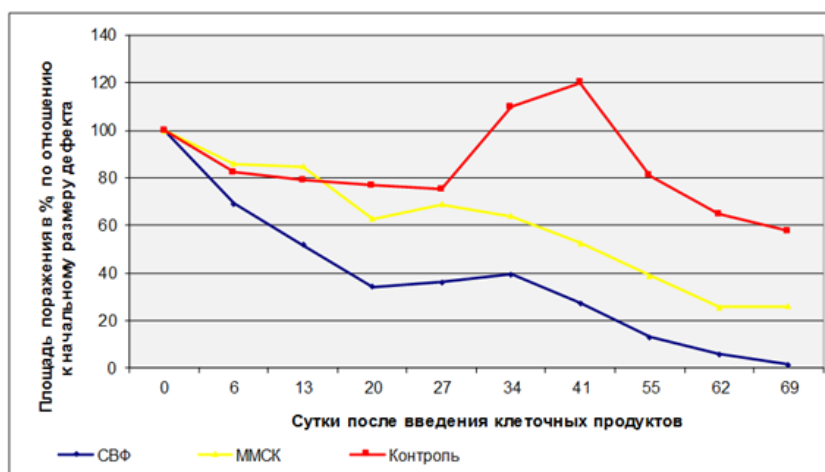


Рис. 1. Динамика заживления язвенной поверхности в зависимости от применяемого метода лечения (средние значения по всем наблюдаемым животным)

использовались аллогенные ММСК костного мозга крыс.

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического пакета IBM SPSS Statistics 19. Сравнение проводили с использованием непараметрических критериев: критерия Манна — Уитни и критерия Краскела — Уоллиса. Анализировали данные по размеру пораженной области исследуемых групп (в процентном отношении к первоначальному размеру) и различия групп по изменению площади язвенной поверхности (в процентах от исходной площади поражения) в результате проводимой терапии.

Результаты. Клиническая картина течения лучевого поражения кожи крыс развивалась согласно общим патогенетическим механизмам развития МЛП. Латентный период сменялся гиперемией, нарушался нормальный тонус кожи, затем у крыс регистрировали проявления сухого дерматита, который переходил во влажный. В итоге на коже крыс начинали образовываться язвы, представляющие собой слившиеся очаги с серозно-геморрагическим отделяемым, быстро ссыхающимся в тонкие коричневые корочки. После развития у животных язвенных дефектов, удовлетворяющих вышеописанным требованиям, производился забор биоматериала — жировой ткани.

В представленном исследовании впервые оработана персонафицированная модель применения аутологичных клеточных продуктов из жировой ткани у крыс. Для этого каждой крысе производилась липосакция под общим наркозом с последующим выделением аутологичных клеточных продуктов для обратного введения животному. По стандартной методике из всех биоптатов выделена СВФ и/или подготовлены жировые графты.

В качестве контрольной точки наблюдения были выбраны 18–20-е сутки после введения клеточных продуктов. Данный временной промежуток принят в связи с особенностями действия стволовых клеток *in vivo* (стимуляция развития микроциркуляторного русла, который формируется на 7–10-е сутки после введения и продолжается вплоть до 20-х суток), а также в связи с особенностями замещения и регенерации тканей, который в среднем занимает 2 недели. Таким образом, наиболее устойчивый и выраженный эффект наблюдается на 18–20-е сутки.

Ранние лучевые язвы. Для точной оценки полученных результатов производились расчеты по всем

отрезкам времени, в которые собирались данные о площади пораженного участка (на 6, 13, 20, 27, 34, 41, 55, 62, 69-е сутки после введения клеточных продуктов). При визуальном наблюдении, в контрольной группе животных выявлено волнообразное течение процесса, с попеременными улучшениями и ухудшениями. Необходимо отметить, что к 34–40-м суткам у большинства крыс из контрольной группы не наблюдалось сокращения площади язвенных поверхностей, а в отдельных случаях отмечено увеличение язвенной поверхности.

При сравнении групп СВФ и ММСК более выраженным был терапевтический эффект от применения СВФ. Площадь поражения к 69-м суткам в группе СВФ была намного меньше (уменьшение язвенной поверхности на 90 и более процентов), чем в начале лечения, не наблюдалось воспалительной реакции и нагноения ран. У 78% животных наблюдалось полное заживление язв с образованием атрофического рубца. Применение ММСК также показало клинически значимое сокращение язвенных дефектов. Средняя площадь язв к концу периода наблюдения в данной группе была меньше, чем в контрольной группе (25–30 и 55–60% от исходного размера соответственно) (рис. 1).

В отличие от группы СВФ, к последним суткам наблюдения лишь у одного животного из группы, получившей ММСК, произошло полное заживление раневой поверхности с образованием рубца, у остальных крыс сохранялись патологические процессы в зоне поражения (воспалительная реакция, влажная десквамация кожи) в течение всего периода эксперимента (рис. 2).

При сравнении на 20-сутки после введения клеточных продуктов установлены статистически значимые различия по критерию Краскела — Уоллиса между всеми группами животных (СВФ, ММСК, Контроль), что свидетельствует о различной эффективности применяемых методов. При попарном сравнении групп с использованием критерия Манна — Уитни на 20-е сутки получены статистически достоверные отличия между группой СВФ и контролем, сохранявшиеся до конца эксперимента. При попарном сравнении групп СВФ и ММСК статистически значимая разница наблюдалась уже с 13-х суток.

Хронические лучевые язвы. При визуальном наблюдении к 18-м суткам после введения стромально-васкулярной фракции размер площади поражения

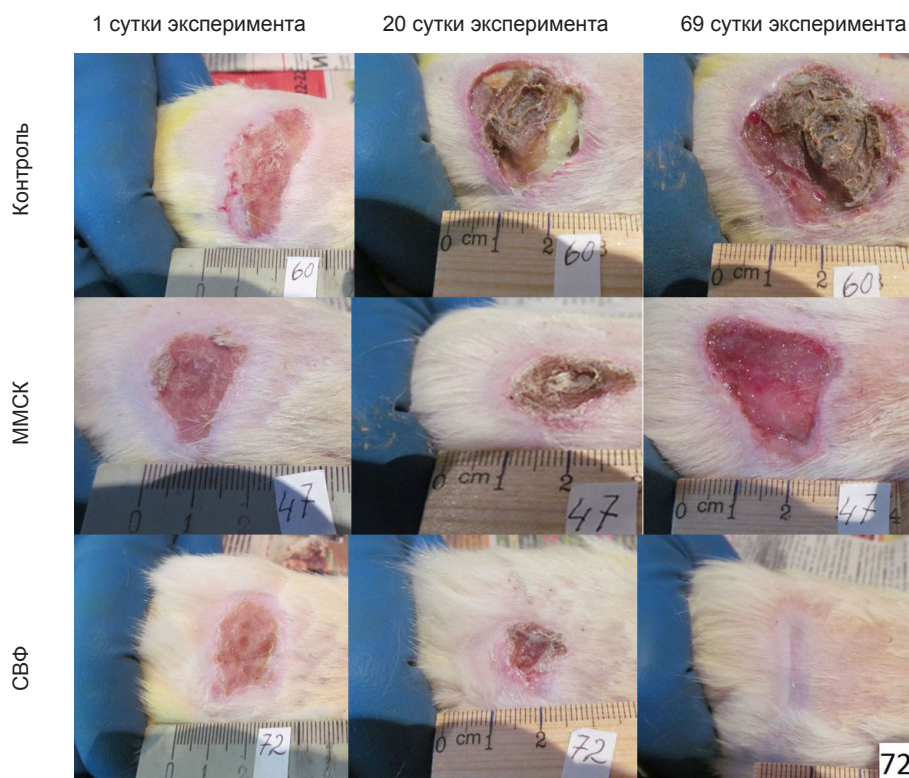


Рис. 2. Внешний вид ранней лучевой язвы на 1, 20 и 69-й день эксперимента в контрольной группе и в группах, получавших ММСК и СВФ

сократился на 50–80% по сравнению с начальной площадью поражения. В среднем площадь поражения уменьшилась на 60%. При применении ММСК площадь поражения сократилась от 30 до 80%, в среднем на 80% по сравнению с начальной. При введении жировой ткани также отмечалось уменьшение площади язвы у животных, которое составило от 10 до 85%, в среднем на 40%. После введения обогащенного липоасpirата среднее уменьшение площади поражения составило 60%. Динамика заживления язвенной поверхности в группах на всех точках наблюдения представлена на рис. 3.

При проведении статистического анализа не было получено статистически значимой разницы между применяемыми методами лечения и контрольной группой по критерию Краскела — Уоллиса. При попарном сравнении с помощью критерия Манна — Уитни достоверные различия выявлены между группами СВФ-Контроль и ММСК-Контроль на ранних сроках наблюдения (14 и 18-е сутки в группе СВФ-Контроль и 11–18-е сутки в группе ММСК-Контроль). В то же время не выявлено статистически значимой разницы между группами СВФ и ММСК с остальными группами, где применялись другие клеточные



Рис. 3. Динамика заживления хронических лучевых язв в группах, где применялись различные клеточные продукты, и в контрольной группе (усредненные значения)

продукты. Площадь язвенных дефектов у животных, которым вводили жировую фракцию и обогащенный липоаспират, не отличались от контрольной группы при анализе с помощью критерия Манна — Уитни.

Наибольший эффект на динамику уменьшения площади язвенной поверхности оказывает применение ММСК. Данная методика в нашем случае использовалась в качестве положительного контроля. Во всех опытных группах отмечалось уменьшение язвенной поверхности, но, исходя из анализа данных о площади язвенного дефекта в различные сроки после введения и по визуальному сравнению (рис. 3, 4), при использовании СВФ заживление наблюдалось в более ранние сроки. Несмотря на то, что в целом при сравнении исследуемых групп по критерию Краскела — Уоллиса не были обнаружены статистически значимые различия (кроме группы ММСК), на ранних сроках после введения (14 и 18-е сутки) отмечена четкая положительная динамика у животных, получавших СВФ, не уступавшая по своей терапевтической эффективности положительному контролю.

Обсуждение. Главной задачей исследования было оценить имеют ли перспективы для дальнейшего изучения и применения на практике методы клеточной терапии для лечения пациентов с местными лучевыми повреждениями кожи. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани для лечения ранних лучевых поражений не только дает более выраженный терапевтический эффект (по сравнению с применением ММСК), но и сам эффект можно наблюдать в более ранние сроки. На модели отдаленных последствий лучевого поражения, несмотря на отсутствие статистически значимых различий с контрольной группой, терапевтический эффект оказывают все клеточные продукты.

Эффект регенеративных клеток жировой ткани реализуется за счет нескольких механизмов, учитывая гетерогенность их популяции. За счет ММСК, входящих в их состав, они способны к дифференцировке в различных направлениях и замещению поврежденных участков тканей. За счет экспрессии стеновыми клетками жировой ткани широкого спектра цитокинов и факторов роста оказывается паракринное действие на васкуляризацию в области их присутствия, что было показано нами ранее [9].

В клинических исследованиях по использованию ММСК для лечения ожогов различной этиологии (термические, лучевые) показана их эффективность и безопасность. При сравнении методик работы с ММСК и СВФ выявляется ряд преимуществ СВФ. Во-первых, без риска для организма возможно получение только небольшого количества костного мозга, при этом СВФ можно получить в необходимом объеме, так как обычно недостатка в жировой ткани нет. Во-вторых, ММСК составляют менее 0,01% от всех клеток костного мозга, что требует длительного культивирования полученного материала для получения достаточного для терапевтического применения количества клеток, в то время как клетки СВФ могут быть подготовлены к применению уже через 1–1,5 часа после забора жировой ткани. Для получения СВФ разработаны и зарегистрированы, в том числе на территории РФ, автоматические приборы, позволяющие выделить клеточный продукт в закрытой системе непосредственно в операционной. Таким образом, нет необходимости в дополнительном материально-техническом оснащении лабораторных помещений и/или привлечении дополнительных со-

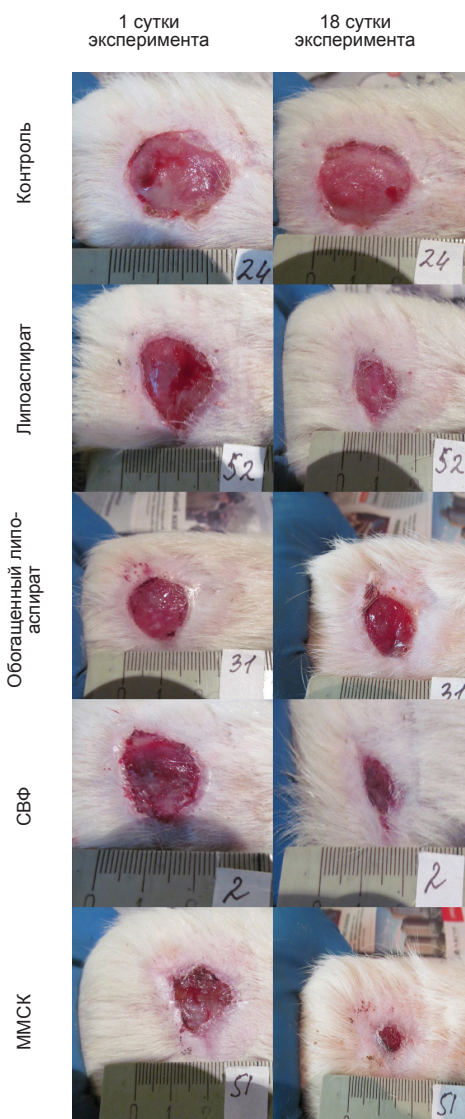


Рис. 4. Внешний вид хронической лучевой язвы на 1-й и 18-й день эксперимента в контрольной группе и в группах, получавших липоаспират, обогащенный липоаспират, ММСК и СВФ

трудников, имеющих опыт работы, для проведения этапа лабораторного культивирования. Все это значительно снижает время получения конечного клеточного продукта, риск контаминации, перепутывания и потери биоматериала, а также себестоимость всего процесса. В-третьих, принимая во внимание особенности распределения и функционирования ММСК и СВФ при их локальном введении в пораженную область, терапия с применением ММСК не может ограничиться однократным введением. Примерно через две недели после начала лечения потребуются дополнительное ведение клеточного материала, что создает лишние неудобства не только для медицинского персонала, но и для самого пациента.

Заключение. Продемонстрировано, что клеточные продукты на основе жировой ткани являются перспективным материалом для дальнейшего исследования и внедрения в клиническую практику лечения МЛП с подбором схемы терапии, исходя из индивидуальных особенностей пациента и типа МЛП.

Конфликт интересов не заявляется.

References (Литература)

1. Ilyin LA. Radiation medicine. Moscow: IzdAT, 2001. Vol. 2, 161 p. Russian (Ильин Л.А. Радиационная медицина. М.: ИздАТ, 2001. Том 2, 161 с.)
2. Osanov DP. Dosimetry and skin Radiation Biophysics. Moscow: Energoatomizdat, 1983; 47 p. Russian (Осанов Д.П. Дозиметрия и радиационная биофизика кожи. М.: Энергоатомиздат, 1983; 47 с.)
3. Kotenko KV, Eremin II, Moroz BB, et al. Cell technology in the treatment of radiation burns: experience of Burnasyan Federal Medical Biophysical Center. Cellular transplantation and tissue engineering 2012; 7 (2): 97–102. Russian (Котенко К.В., Еремин И.И., Мороз Б.Б. и др. Клеточные технологии в лечении радиационных ожогов: опыт ФМБЦ им. А.И. Бурназяна. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2012; 7 (2): 97–102.)
4. Milanov NO, Shilov BL. Plastic surgery radiation burns. Moscow: AIR-ART, 1996; 99 p. Russian (Миланов Н.О., Шилов Б.Л. Пластическая хирургия лучевых повреждений. М.: АИР-АРТ, 1996; 99 с.)
5. Eremin II, Zhgutov YuA, Kotenko KV, et al. The method of complex treatment of burn wounds of different etiologies using autologous mesenchymal stem cells. Herald of aesthetic medicine 2011; 10 (4): 36–41. Russian (Еремин И.И., Жгуттов Ю.А., Котенко К.В. и др. Метод комплексного лечения ожоговых ран различной этиологии с использованием аутологичных мезенхимальных стволовых клеток. Вестник эстетической медицины 2011; 10 (4): 36–41.)
6. Yoshimura K, Suga H, Eto H. Adipose-derived stem progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. Regen Med 2009; (4): 265–273.
7. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies. Tissue Engineering 2001; 7 (2): 211–228.
8. Zhou BR, Xu Y, Guo SL, et al. The Effect of Conditioned Media of Adipose-Derived Stem Cells on Wound Healing after Ablative Fractional Carbon Dioxide Laser Resurfacing. Biomed Res Int 2013; 2013: 519126.
9. Kotenko KV, Moroz BB, Nadezhina NA, et al. Successful treatment of localised radiation lesions in rats and humans by mesenchymal stem cell transplantation. Radiation Protection Dosimetry 2012; 151 (4): 661–665.

УДК 615.849: 577.346:576.32

Обзор

РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА РАДИАЦИОННОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ В ФЕДЕРАЛЬНОМ МЕДИЦИНСКОМ БИОФИЗИЧЕСКОМ ЦЕНТРЕ ИМ.А. И. БУРНАЗЯНА (ОБЗОР)

В.В. Калашников — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, отдел № 8, заведующий лабораторией, кандидат физико-математических наук; **А.В. Гордеев** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, отдел № 8, старший научный сотрудник; **Е.П. Павлов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, отдел № 8, старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук; **Ю.А. Бушманов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, отдел № 8, инженер.

DEVELOPMENT AND APPLICATION OF RADIATION STERILIZATION METHOD IN FEDERAL MEDICAL AND BIOPHYSICAL CENTRE N. A. A. I. BURNAZYAN (REVIEW)

V. V. Kalashnikov — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Department № 8, Head of laboratory, Candidate of Physico-mathematical Sciences; **A. V. Gordeev** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Department № 8, Senior Researcher; **E. P. Pavlov** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Department № 8, Senior Researcher, Candidate of Medical Sciences; **U. A. Bushmanov** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Department № 8, Engineer.

Дата поступления — 15.11.2014 г.

Дата принятия в печать — 10.12.2014 г.

Калашников В.В., Гордеев А.В., Павлов Е.П., Бушманов Ю.А. Разработка и применение метода радиационной стерилизации в Федеральном медицинском биофизическом центре им. А.И. Бурназяна (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал 2014; 10 (4): 844–849.

Представлен обзор проведения необходимых научных исследований и работ, которые предшествовали внедрению практики радиационной стерилизации изделий медицинского назначения (ИМН) в промышленных масштабах, и в которых принимала участие организация. Рассмотрены исследования и работы, проведенные в целях определения стерилизующих доз облучения; определения максимально допустимых доз обработки; разработки технологий облучения; разработки нормативной и методической базы. Приведены результаты осуществленных в 2000–2009 гг. практических работ по радиационной стерилизации ИМН и работ по совершенствованию методического обеспечения производства такой продукции. Показаны объемы выполненных работ по облучению продукции и проведению ее микробиологического контроля. Рассмотрены результаты анализа практической деятельности. Указаны разработанные организацией основные документы по методическому обеспечению производства и роль организации как научно-методического и экспертного всероссийского центра по радиационной стерилизации ИМН. Представлено актуальное состояние материально-технического обеспечения и других возможностей организации для участия в работах по радиационной стерилизации ИМН, радиационной обработке продуктов питания и других материалов, требующих микробиологической деконтаминации.

Ключевые слова: медицинские материалы и изделия, радиационная стерилизация, инициальная контаминация, стерилизующие и максимально допустимые дозы, нормативная и методическая документация.

Kalashnikov VV, Gordeev AV, Pavlov EP, Bushmanov UA. Development and application of radiation sterilization method in Federal Medical and Biophysical centre n.a. A.I. Burnazyan (review). *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2014; 10 (4): 844–849.

This article the necessary research and work that preceded the introduction of radiation sterilization practice for medical products (MP) on an industrial scale, and in which the organization was participating. The research and work