

5000 анти-Ха ед. за 2–4 ч до операции подкожно с продолжением курса в течение 10–12 дней послеоперационного периода. Использовали вазопростан: на курс лечения 10 - 20 внутривенных инфузий препарата. Базовая лечение включало эфферентную терапии. Для коррекции цитокинового дисбаланса - применяли полиоксидоний по схеме: 6 мг в/в №3 и в последующие дни в/м №7.

В местном медикаментозном лечении применяли высокотехнологичные липидоколлоидные повязки типа Urgosorb, Cellosorb Ag, позволяющие сократить как сроки подготовки ран к пластическому закрытию, так и сроки лечения на 7-10 суток. В местном лечении использовали ультразвуковую кавитацию аппаратом УРСК-7Н-22. УЗК проводили при резонансной частоте 25,9 кГц, мощности 2 Вт/см<sup>2</sup> и амплитуде колебаний 0,05 мм, начиная с хирургической обработки гнойно-некротического очага.

В случае НИСДС и ишемии применяли непрямую реваскуляризацию – РОТ (заявка №2009102225(002815) приоритет от 23.01.2009 г.). С целью обеспечения регионарной анестезии и медикаментозной терапии выполнялось внутрикостное введение препаратов.

**Выводы:** РЯГНО СДС являются новой актуальной проблемой в хирургии СДС. Важным является то, что есть возможность сохранения стопы, части стопы или хотя бы опорной функции конечности. Разработанный комплекс хирургического лечения позволил сохранить опорную функцию стопы, снизить количество высоких ампутаций и послеоперационную летальность.

*Коровина К. В., Цымбалюк И. Н., Смирнова А.В.,  
Багаутдинов Ш.М., Смолянинов А.Б.*

#### **ОРГАНИЗАЦИЯ КРИОХРАНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ ДЛЯ ОБЩЕСТВЕННОГО РЕГИСТРА ДОНОРОВ**

*Санкт-Петербургский Государственный университет, Медицинский факультет, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, НИЛ крови и тканей МО РФ, НИЛ клеточных технологий Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова, ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург, Россия, stemcellbank@inbox.ru*

Цель исследования: Использование пуповинной крови как альтернативного источника гемопоэтических стволовых клеток для лечения ряда заболеваний получает сегодня всё большее распространение. Для максимально успешного применения стволовых клеток пуповинной крови (СК ПК) при трансплантации необходимо, чтобы образец СК ПК отвечал определенным требованиям к качеству. Одним из ключевых этапов заготовки СК ПК является криоконсервирование. Разработка стандартных процедур по сбору, выделению, оценке, криоконсервированию и хранению стволовых клеток пуповинной крови в банке пупо-

винной крови позволит эти требования соблюсти.

Материалы и методы: Оценивались 1500 образцов пуповинной крови, собранных во время родов до рождения плаценты. Мононуклеарная фракция выделялась автоматическим способом на клеточном сепараторе Sepax S-100 (Biosafe, Швейцария) при помощи набора Kit CS-530.1. Эффективность выделения ядерной фракции и фракции мононуклеаров, количество и жизнеспособность CD34+ клеток оценивалась на проточном цитометре «Bechman&Coulter» (США) FC500. После отбора проб для проведения необходимых анализов и добавления криопротектора - 10% диметилсульфоксида («Pull», США) образцы помещались в программный замораживатель Planer KRYO 560-16 (Planer, Великобритания) где проводилась криоконсервация по разработанному нами протоколу от +4°C до -100°C с темпом замораживания от 1 до 3 °C/мин. Конечная температура -100°C позволяет сохранить целостность образцов при транспортировке до криохранилища. После замораживания образцы пуповинной крови перемещались в криохранилища для хранения в жидкой фракции азота при температуре -196 °C. Для оценки эффективности выделения и криоконсервации ядерной фракции, через 1 год были разморожены 20 образцов и оценено количество ядерных клеток, количество и жизнеспособность CD34+ клеток.

Результаты: Процент выделения ядерных клеток (TNC) и мононуклеарных клеток составил  $84,63 \pm 19,3\%$  и  $77,9 \pm 21,7\%$  соответственно, среднее значение абсолютного количества CD34+ клеток в образце -  $22,2 \times 10^5$  клеток, доля жизнеспособных клеток мононуклеарной фракции составила 99,31%. После размораживания доля от выделенных ядерных клеток и CD34+ клеток составила  $85,5 \pm 3,4\%$  и  $85,2 \pm 23,2\%$  соответственно. А доля жизнеспособных мононуклеарных клеток снизилась до 82,8%. Также следует отметить, что не наблюдалось различий в изменении жизнеспособности после разморозки образцов, хранившихся неделю, месяц и год.

Выводы: Применяемый нами протокол программного замораживания обеспечивает сохранность большого количества клеток в жизнеспособном состоянии. В целом, используемая методика сбора и обработки пуповинной крови позволяет помещать на хранения в банк пуповинной крови образцы высокого качества, соответствующие предъявляемым требованиям.

В связи с проведенной работой получен патент на изобретение «Способ криоконсервации гематопозитических стволовых клеток пуповинной крови» - № 2416197, приоритет изобретения от 11 декабря 2009 г.