

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ

Клинические возможности применения аутогенных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани при лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей

Е.В. Баранов ¹, С.И. Третьяк ¹, И.Б. Василевич ², Е.С. Лобанок ², И.Д. Волотовский ²

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

The clinical application of autologous mesenchymal stem cells isolated from fat tissue for the treatment of patients with trophic ulcers of lower extremities

E.V. Baranov ¹, S.I. Tretyak ¹, I.B. Vasilevich ², E.S. Lobanok ², I.D. Volotovskiy ²

¹Belarus State Medical University, Minsk, Belarus

²Institute of Biophysics and Cell Engineering, NAS of Belarus, Minsk, Belarus

Представлены клинические данные о лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей с применением локальной трансплантации аутогенных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) жировой ткани, приводящей к полному закрытию раневых дефектов и восстановлению кожных покровов. Отработаны методы по забору жировой ткани, определены подходы к выделению клеток, оптимизации их культивирования и накоплению нужного количества с фенотипированием клеток, разработаны методы трансплантации в язвенные дефекты (количество клеток, кратность и способы введения).

Ключевые слова: трофические язвы нижних конечностей, мезенхимные стромальные клетки жировой ткани, трансплантация клеток.

The clinical data about treatment of patients with low intensity trophic ulcer of lower extremities by local transplantation of autologous multipotent mesenchymal stromal cells isolated from fat tissue were presented. The treatment has resulted in complete repair of wound defects, skin recovery. The approaches on fat tissue sampling, isolation, cultivation, expansion and phenotyping of cells and also the methods of cell transplantation into ulcer defects (cell amount, periodicity of transplantation, and mode of insertion) were elaborated.

Key words: trophic ulcers of lower extremities, multipotent mesenchymal stromal cells from fat tissue, cell transplantation.

Реабилитация пациентов с трофическими язвами (ТЯ) является важной и сложной медико-социальной проблемой. По данным ВОЗ в индустриально развитых странах в среднем 1,3–2 % взрослого населения и 4–5 % лиц пожилого возраста страдают ТЯ [1–3].

Чаще ТЯ возникают как результат нарушения локальной гемо- и лимфодинамики и, как следствие, трофики тканей. Кроме того, их причиной могут быть травмы кожи и мягких тканей, повреждение спинного мозга и периферических нервов, а также эндокринные заболевания [1, 2, 4]. Как правило, ТЯ длительно не заживают, многократно рецидивируют и существенно ухудшают качество жизни вплоть до получения инвалидности в 10–30 % наблюдений [1, 4, 5].

Лечение ТЯ комплексное — включает устранение причинного патогенетического фактора (основного заболевания), приводящего к трофическим нарушениям в коже, а также методы воздействия непосредственно на язвенный дефект, направленные на стимуляцию репаративного процесса. Однако

результаты лечения ТЯ, несмотря на большое количество предложенных ранее методов, сочетающих системную фармакотерапию и местное воздействие, являются недостаточно эффективными. Так, из 446 пациентов с ТЯ различной этиологии, проходивших стационарное лечение в последние 6 лет в гнойно-септическом отделении 9-й ГКБ г. Минска, в 64% случаев язвенный анамнез составил 2 и более года, заболевание имело рецидивирующий характер и резистентность к проводимым терапевтическим мероприятиям. В большинстве случаев при консервативном лечении процесс заживления язвы занимает многие месяцы и даже годы, особенно в случаях, когда оперативное лечение основного заболевания, приведшего к формированию ТЯ, противопоказано, например, из-за сопутствующей патологии.

В последние годы все более широкое распространение получают прикладные биомедицинские исследования в рамках клеточных технологий, в частности, связанных с использованием мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК).

e-mail: irina-vasilevich@yandex.ru

Большая часть работ находится на уровне доклинических исследований, которые свидетельствуют об эффективности использования ММСК на различных моделях, в том числе кардиоваскулярных, неврологических заболеваний, сахарного диабета, повреждений опорно-двигательного аппарата и др. [2, 6–10]. В связи с успешными результатами экспериментальных исследований, растет число клинических, возрастают мировые объемы финансирования на развитие данного направления, а также количество частных компаний, деятельность которых связана с исследованиями и разработками в области клеточных технологий, коммерциализацией их результатов [11, 12].

Прогнозируется, что в последующие 10 лет приоритетными направлениями медицины в лечении с применением клеточных препаратов и тканеинженерных медицинских изделий станут «регенеративная хирургия», терапевтическая кардиология, неврология, эндокринология [13, 14]. Особенно быстро развиваются клеточные технологии, объединенные с генетическими, физиологическими и клиническими подходами [15, 16]. Расширяется использование клеточных технологий при лечении повреждений кожных покровов [17]. В клеточной дерматопластике чаще всего используются культивированные аллогенные фибробласты и кератиноциты, ММСК как в виде суспензий (без носителей), так и дермальных эквивалентов, изготовленных с использованием различных матриц (из коллагенового, фибринового гелей и др.) [18–21].

ММСК содержатся во многих тканях человеческого организма. К наиболее перспективным в качестве источников ММСК тканям в постнатальном периоде онтогенеза относятся костный мозг, жировая ткань и ткани последа. В сравнении с другими типами прогениторных клеток взрослого организма ММСК жировой ткани более доступны и могут быть получены в большем количестве, достаточном для последующего использования при клеточной терапии. Иными словами, ММСК жировой ткани с меньшими ограничениями могут быть получены в наиболее безопасном и эффективном — аутогенном варианте. Использование аутогенных клеток нивелирует риски, связанные с возможным отторжением трансплантата и переносом инфекций от донора к реципиенту.

В настоящем исследовании аутогенные ММСК жировой ткани были использованы для лечения пациентов с трофическими язвами нижних конечностей различной этиологии. Данной работе предшествовали доклинические исследования, проведенные на крысах: была показана эффективность локального применения ММСК жировой ткани при лечении экспериментально созданных раневых дефектов кожных покровов [22].

Материал и методы

Клиническое исследование было одобрено комитетом по этике УЗ 9 ГКБ г. Минска (протокол № 11 от 03 ноября 2010 г.) и проводилось в рамках республиканской ГНТП «Лечебные и диагностические технологии».

Дизайн исследования

Исследование состояло из ряда последовательных этапов: включение пациентов с ТЯ в исследо-

вание, эксплантация жировой ткани, клеточный процессинг с получением культур аутогенных ММСК; подготовка ТЯ реципиента к трансплантации клеток (продолжительность предтрансплантационного периода зависела от стадии раневого процесса у больного); локальное введение ММСК в область ТЯ; посттрансплантационное наблюдение за динамикой раневого процесса.

Выделение и транспортировка жировой ткани

Эксплантацию жировой ткани проводили под местной и (или) с применением внутривенной анестезии путём липэктомии (иссечения) участка подкожной жировой клетчатки объёмом 5–10 мл в условиях операционной с соблюдением всех правил асептики. После забора фрагментированную жировую ткань помещали во флакон с забуференным физиологическим раствором, содержащим антибиотик (цефазолин).

В специальном контейнере биоматериал доставляли с учётом международных требований GTP (Good Tissue Practice) при температуре не ниже 4°C в течение не более 2 ч от времени эксплантации в лабораторию Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

Подготовка ММСК жировой ткани для трансплантации

Извлеченную из контейнера для перевозки жировую ткань гомогенизировали в слабо притертом гомогенизаторе и в течение не менее 30 мин при 37°C проводили ферментативную обработку в 0,1% растворе коллагеназы I типа (Sigma, США) в фосфатном буфере. Полученную клеточную суспензию фильтровали через капроновый фильтр, центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об/мин. После удаления супернатанта, осадок заливали питательной средой, содержащей 10% эмбриональную телячью сыворотку, 2 мМ L-глутамин, 0,01 мл базового раствора комплексного антибиотика-антимикотика. Клетки высевали в количестве 8×10^4 кл/мл на адгезионные пластиковые чашки Петри. Культивирование образцов проводили в CO₂-инкубаторе при 37°C во влажной атмосфере при постоянном давлении 5% CO₂. Полную смену ростовой среды проводили каждые 72 ч. Качество клеточного монослоя оценивали с помощью фазово-контрастной микроскопии при увеличении в 100 и более раз.

После достижения необходимого количества клеток на 2–4 пассажах их снимали со дна кульгуральных флаконов и переводили в суспензию обработкой смесью растворов трипсина (0,25%) и ЭДТА (0,02%) (Gibco, США). Клетки смывали со стенок сосуда легким пипетированием, что способствовало образованию гомогенной клеточной взвеси. Для оценки выхода жизнеспособных клеток использовали тест на исключение красителя. Количество живых и мертвых клеток подсчитывали в камере Горяева. Контроль стерильности клеточной суспензии на отсутствие бактерий, грибов и микоплазм проводили с применением микробиологических питательных сред в стерильных условиях. Суспензия клеток считалась стерильной, если ни в одной из засеянных пробирок не наблюдалось роста. При обнаружении хотя бы в одной пробирке микрофлоры, независимо от ее характера, суспензию признавали нестерильной и отбраковывали.

Для того, чтобы установить принадлежность клеточной культуры к ММСК и их ближайшим дериватам, оценить ее гомогенность, проводили иммунофенотипический анализ с моноклональными антителами к антигенам CD44, CD90, CD105, CD29, CD45 и CD34.

Готовые клеточные препараты размещали в стерильных пенициллиновых флаконах и маркировали с указанием донора ММСК, названия культуры, характеристики (посевная доза), даты изготовления, условий хранения и срока годности. В специальном контейнере, поддерживающем температуру не менее 25°C, клеточные препараты транспортировали в специализированную клинику для проведения трансплантации.

Клиническое исследование

В настоящее исследование были включены 5 пациентов. У трех пациенток с трофическими язвами нижних конечностей венозной этиологии наблюдалось стойкое прогрессирование симптомов хронической венозной недостаточности (ХВН) с изменением мягких тканей голени (индурация, гиперпигментация) и наличием трофических язв (VI клинический класс классификации). Два пациента

имели нейротрофические язвы нижних конечностей (табл. 1).

Критериями включения пациентов в клиническое исследование являлись:

- длительность существования трофической язвы более 3 мес.;
- неэффективность стационарного и амбулаторного лечения в течение 6 мес.,
- рецидив язвы более 1 раза в год.

Критерии исключения:

- возраст более 73 лет;
- липодермосклероз нижних конечностей 2–3 степени;
- беременность;
- наличие онкологических, системных заболеваний соединительной ткани, грыж, рубцов, дефектов кожи в области живота;
- психические заболевания, алкогольная, наркотическая зависимость.

Окончательное решение о целесообразности включения пациента в исследование принимал врачебный консилиум. Все пациенты после полного объяснения им целей оперативного вмешательства и возможных осложнений подписывали информированное согласие.

Таблица 1. Характеристика пациентов, включённых в клиническое исследование, и особенности трансплантации ММСК

Диагноз	Возраст, пол	Количество язвенных дефектов. Общая площадь	Стадия раневого процесса на момент трансплантации	Кол-во введенных	Кол-во введенных клеток
Посттромбофлебитический синдром левой голени. ХВН 3 стадии (С4 класс по международной классификации CEAP). ТЯ левой голени	43, жен	1, 5,89 см ²	Грануляционная стадия	1	8×10 ⁵
Варикозная болезнь вен ног. ХВН 3 стадии (С6). Трофические язвы обеих голени. Поливалентная аллергия	56, жен	6 3 (левая нога), 41,21 см ² , 3 (правая нога), 13,74 см ²	На левой ноге – грануляционная стадия На правой ноге – стадия ремоделирования (эпителизации)	2 на левой ноге 1 на правой ноге	6,1×10 ⁶ 2,2×10 ⁶
Варикозная болезнь вен левой ноги в стадии декомпенсации. ХВН 3 стадии (С6) Обширные трофические язвы левой голени. Артериовенозная фистула левой голени (болезнь Паркса Вебера – Рубашова)	73, жен	2, 174,8 см ²	Грануляционная стадия	3	11×10 ⁶
Нейротрофическая язва левой голени	41, муж	1, 6,2 см ²	Грануляционная стадия	2	4,2×10 ⁶
Нейротрофическая язва подошвенной поверхности правой стопы	27, жен	1 (одна) – 5,2 см ²	Грануляционная стадия	3	7,5×10 ⁶

Подготовка к трансплантации ММСК

Предтрансплантационный период включал в себя многокомпонентную подготовку больного, направленную на купирование явлений острого воспаления в области язвенного дефекта с использованием физического (лаваж, сорбционные покрытия, лазеротерапия, фотодинамическая терапия и др.), ферментативного и аутолитического воздействий. Мероприятия были направлены на достижение фаз регенерации и ремоделирования. С этой целью использовались современные раневые покрытия разной направленности (в зависимости от стадии раневого процесса) и методы антибактериальной фотодинамической терапии.

Клиническими критериями готовности язвы к введению клеток являлись: отсутствие налёта фибрина, гнойного отделяемого, кровотечения и экссудации; уменьшение бактериальной обсеменённости язвы до уровня менее 10^3 микроорганизмов на 1 мм^3 ткани; уменьшение воспалительных изменений в ткани; активация репаративных процессов в тканях в зоне язвы (появление грануляций).

Подготовка ТЯ к клеточной трансплантации и клеточный процессинг *in vitro* осуществлялись параллельно. Между специалистами по клеточным технологиям и хирургами поддерживалась постоянная связь, что позволяло тем и другим получать информацию как о состоянии язв, так и о степени готовности клеточной культуры к трансплантации.

Трансплантация ММСК

Клеточные культуры, подготовленные для введения, в обязательном порядке подвергались типологическому, микробиологическому и вирусологическому тестированию [23].

Введение ММСК проводилось в асептических условиях с наложением специальной каркасной защитной повязки над дефектом. Трансплантация заключалась в локальном введении аутогенных ММСК в область трофического дефекта в виде суспензии, содержащей клетки в различном количестве, в зависимости от площади язвенного дефекта (см. табл. 1). Клеточный препарат вводился инъекционно по периферии язвенного дефекта (из 4 точек на расстоянии 1 см от края раневого дефекта). В некоторых случаях процедура выполнялась повторно с интервалом 7–10 сут. Трансплантация осуществлялась как в фазе пролиферации, так и ремоделирования. После выполнения процедуры накладывалась асептическая повязка, которая представляла собой прозрачную плёнку на основе полиуретана, закреплённую на впитывающем каркасе, и обладала некоторыми важными свойствами: обеспечение адекватного влаго- и газообмена раневой поверхности и в то же время непроницаемость для бактерий и вирусов. Поэтому такая повязка обеспечивала защиту раны и пересаженной культуры от инфицирования. Прозрачность покрытия позволяла визуально следить за ходом заживления раны в первый период после трансплантации.

Посттрансплантационное ведение

В течение 4–6 ч после трансплантации больные соблюдали строгий постельный режим. Первые 3–5 сут. перевязки не проводились. Периодичность замены повязок в дальнейшем периоде определялась количеством экссудата. При смене повязок локальную обработку язв не проводили. Кроме того, в комп-

лексном лечении пациентов применялась системная фармакологическая терапия, направленная на улучшение микроциркуляции, реологических свойств крови и тканевого обмена. Всем пациентам подбирались при необходимости адекватная компрессионная терапия (2–3 тип компрессии).

Эффективность лечения оценивалась по состоянию язвенного дефекта и динамике течения раневого процесса. При этом оценивались характер грануляционной ткани на дне язвы и площадь трофического дефекта с помощью планиметрии и цифровой фотографии с последующей компьютерной планиметрией с использованием программы Universal Desktop Ruler v2.6.1007. Учитывалось также состояние окружающих тканей (отёк, гиперемия, мацерация). Критериями эффективности служили сроки и скорость эпителизации.

Результаты и обсуждение

Характеристика клеточных культур

Для трансплантации использовались ММСК 3–4 пассажей. Количество трансплантируемых клеток было различным (от 8×10^5 до 11×10^6), определялось потребностью — площадью язвенного дефекта (см. табл. 1).

При иммунофенотипировании клеток к маркерам, специфичным для ММСК, с помощью проточного цитофлуориметра получены следующие данные. Количество клеток, экспрессирующих CD44 составило 93–95%, CD90 — 98–99%, CD105 — 97–98%, CD29 — 96–97%. Доля клеток, экспрессирующих гемопоэтические маркеры CD34 и CD45, не превышала 2%.

Результаты клеточной терапии

При применении ММСК не наблюдалось нежелательных и серьезных нежелательных явлений, что подтвердило безопасность технологии. У всех 5 включенных в исследование пациентов лечение с применением аутогенных ММСК завершилось стойким положительным эффектом. В результате проведенного лечения с применением клеточной терапии, кроме заживления раневого дефекта и полного восстановления кожных покровов, отмечалось увеличение всех показателей качества жизни, а именно существенное снижение болевых ощущений, увеличение физической активности в повседневной жизнедеятельности, снятие эмоционального дискомфорта.

Детально динамику клинического течения репаративного процесса и результаты лечения целесообразно проиллюстрировать на клиническом примере.

Пациентка Г. 56 лет находилась на лечении в гнойно-септическом отделении 9ГКБ с клиническим диагнозом: варикозная болезнь вен обеих ног в стадии декомпенсации, хроническая венозная недостаточность 3 стадии (С6 класс по международной классификации CEAP), трофические язвы обеих голей, поливалентная аллергия (рис. А). Длительность существования язв: 4 года на левой голени и 8 мес. — на правой. Безуспешный период лечения (период за который язвы не закрывались) составил около 2 лет и 8 мес., соответственно. В нижней трети левой голени на наружной и медиальной поверхностях имелись 3 язвы общей площадью $41,21 \text{ см}^2$, в нижней трети правой голени — 3 трофических дефекта общей площадью $13,74 \text{ см}^2$.



С учётом выраженных гемодинамических и трофических нарушений на левой нижней конечности после предварительного купирования явлений острого воспаления и уменьшения микробной обсемененности была выполнена флебэктомия комбинированным способом с целью ликвидации как вертикального, так и горизонтального патологического сбросов в венозной системе. Эксплантация жировой ткани для получения клеточного материала была выполнена одновременно. Оперативное лечение на правой ноге было запланировано после заживлений имеющихся трёх трофических дефектов.

Уровень бактериальной обсеменённости трофических дефектов у этой пациентки находился на уровне 10^5 – 10^7 микробных тел на 1 г ткани.

Для более качественной санации ран помимо стандартной локальной терапии применялась антибактериальная фотодинамическая терапия с использованием фотосенсибилизатора «Фотолон» и светодиодных излучателей повышенной мощности и современных раневых повязок.

Через 2 нед. после купирования острого воспаления и уменьшения микробного обсеменения сначала была проведена трансплантация ММСЖ в область трофических язв левой голени.

На 9-е сут. была выполнена повторная трансплантация ММСЖ в область язв левой голени, а также введение клеток в дефекты правой голени, находящиеся в стадии эпителизации.

Посттрансплантационный период протекал без осложнений. Уже через 4 сут. после первичной

пересадки отмечалась активация репаративных процессов, в дальнейшем в течение 3–4 сут. – видимая перестройка грануляций. Пациентка отметила снижение зуда и интенсивности болевого синдрома на 2-е сут. после трансплантации до полного исчезновения к 4 сут. На протяжении 2-недельного периода наблюдения отмечалась умеренная экссудация, с прекращением к 12-м сут. (рис. Б). После прекращения экссудации в основном применяли современные раневые покрытия. В последующем в дне ТЯ формировалась грануляционная ткань ро-

зового цвета, мелкозернистая, с высоко адгезивной поверхностью, без патологических налётов. При динамическом наблюдении были выявлены и изменения в околоязвенных тканях, которые проявлялись в уменьшении индурации и отёка, изменение цвета кожных покровов (от тёмно-коричневого до более светлых оттенков). Новообразованная грануляционная ткань была достаточна для распространения эпителия, в результате чего отмечалась активация процесса эпителизации (рис. В, табл. 2).

Таблица 2. Динамика заживления трофических язв левой (А) и правой (В) голени, пациентка Г.

Интервал времени	Через 14 сут.		Через 28 сут.		Через 39 сут.	
	А	В	А	В	А	В
Средняя динамика заживления – уменьшения площади язвы в сут., %	4,36	3,63	3,03	3,02	2,51	–
Уменьшение площади язвы за все время наблюдения, %	60,99	50,86	84,78	84,69	97,9	–

С учётом полной эпителизации язв, которые локализовались на правой голени, через 1,5 мес. пациентке была выполнена операция на правой ноге: комбинированная флебэктомия с целью коррекции венозной гемодинамики. Результаты лечения были прослежены через 1 и 4 мес. после проведения лечения (рис. Г, Д).

Таким образом, на основании клинических данных, полученных при лечении пациентов с трофическими

язвами нижних конечностей с использованием культивированных аутогенных ММСК, можно сделать вывод, что локальное введение ММСК жировой ткани является безопасным и эффективным методом при незаживающих трофических язвах, способствует полному закрытию ран и восстановлению кожных покровов. Трансплантация оказалась эффективной при отсутствии положительных результатов от предшествовавшей стандартной терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

- Орловский П.Ю., Гриценко В.В., Мельцова А.Ж. и др. Трофические язвы нижних конечностей. Санкт-Петербург: СПбГМУ; 2004.
- Мельцова А.Ж., Гриценко В.В., Орловский П.Ю. и др. Применение дермальных фибробластов в комплексном лечении больных с трофическими язвами венозной этиологии. Вестник хирургии имени И. И. Грекова 2007; 166(1): 72–7.
- Седов В.М., Андреев Д. Ю., Смирнова Т.Д. и др. Клеточная терапия в лечении трофических язв нижних конечностей. Вестник хирургии имени И. И. Грекова 2006; 165(2): 90–4.
- Васютков В.Я., Проценко В.В. Трофические язвы стопы и голени. М.: Медицина; 1993.
- Косенков А.Н., Мизаушев Б.А., Царенко И.А. Патогенез и диагностика хронической венозной недостаточности нижних конечностей с трофическими нарушениями. Хирургия 2005; 5: 60–4.
- Пальцев М.А. Биология стволовых клеток и клеточные технологии. М.: Медицина; 2009.
- Miyazaki M., Zuk P.A., Zou J. et al. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue and bone marrow for ex vivo gene therapy in rat spinal fusion model. Plast. Reconstr. Surg. 2008; 33(8): 863–9.
- Caplan A.I. Links mesenchymal stem cells. J. Orthop. Res. 1991; 9: 641–50.
- Prockop D.J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. Science 1997; 276: 71–4.
- Fathke C., Wilson L., Hutter J. et al. Contribution of bone marrow-derived cells to skin: collagen deposition and wound repair. Stem Cells 2004; 22: 812–22.
- Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В.Р. Анализ зарубежного рынка клеточных технологий. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2009; 4: 68–78.
- Зорин В.Л., Черкасов В.Р., Зорина А.И. и др. Характеристика мирового рынка клеточных технологий. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2010; 5(3): 96–115.
- Иванов А.А. Перспективы применения стволовых клеток в медицине. В: Биология стволовых клеток и клеточные технологии, М.А. Пальцев, редактор. Т.1. М.: Медицина; 2009. с. 31–42.
- Романов Ю.А. Смирнов В.Н. Мезенхимальные стволовые клетки: биология и перспективы клинического применения. В: Био-

логия стволовых клеток и клеточные технологии, М.А. Пальцев, редактор. Т.1. М.: Медицина; 2009. с. 193–205.

15. Wobus A., Boheler K. Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy. Phys. Rev. 2005; 85: 635–78.

16. Космачева С.М., Исайкина Я.И., Зафранская М.М. и др. Пролиферативный и дифференцировочный потенциал стволовых клеток человека in vitro. Достижения медицинской науки Беларуси 2007; XII: 37–9.

17. Сысоева В.Ю., Рубина К.А., Калинина Н.И. и др. Аутологичные фибробласты дермы: перспективы применения в медицине. В: Аутологичные стволовые клетки. Экспериментальные исследования и перспективы клинического применения, В.А. Ткачук, редактор. М.: Литтерра; 2009. с. 222–35.

18. Шумаков В.И., Расулов М.Ф., Крашенинников М.Е. и др. Сравнительная оценка эффективности применения аллогенных эмбриональных фибробластов и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для терапии глубоких ожоговых ран. Вестник трансплантологии и искусственных органов 2002; 4: 7–11.

19. Смирнов С.В., Киселев И.В., Васильев А.В. и др. Современные методы клеточной терапии при лечении ожогов. Хирургия 2003; 12: 58–62.

20. Badiavas E.V., Falanga V. Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells. Arch. Dermatol. 2003; 139(4): 510–6.

21. Sivan-Loukianova E., Awad O.A., Stepanovic V. et al. CD34⁺ blood cells accelerate vascularization and healing of diabetic mouse skin wounds. J. Vasc. Res. 2003; 40(4): 368–77.

22. Сахаб Хайдар А., Третьяк С.И., Баранов Е.В. и др. Противовоспалительный эффект мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани при лечении инфицированных ран в эксперименте. Медицинский журнал 2012; 1: 77–81.

23. Квачева З.Б., Вотяков В.И., Игнатьев Г.М. и др. Экспресс-метод оценки контаминации микроорганизмами (бактерии, грибы, микоплазма, вирусы) культур мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и пуповинной крови, предложенного РНПЦ эпидемиологии и микробиологии МЗ РБ. Инструкция по применению «Методы контроля контаминации микроорганизмами культур мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и пуповинной крови», рег. № 167-1208, утв. МЗ РБ 25.12.2010.

Поступила 19.02.2013