



ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВ КОЖИ

© Е.В. Зиновьев^{1,2}, В.Е. Юдин³, М.С. Асадулаев¹, В.Н. Цыган⁵, Д.В. Костяков⁵, А.С. Шабунин³, Н.В. Смирнова³, А.Е. Крюков^{3,4}, М.Б. Панеях¹, С.А. Лукьянов¹, И.В. Арцимович¹, И.М. Лопатин¹, В.В. Зубов¹, П.К. Крылов², Д.О. Вагнер², К.Ф. Османов⁵, Г.О. Багатурия¹

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России;

² ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург;

³ ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург;

⁴ ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук», Санкт-Петербург;

⁵ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Зиновьев Е.В., Юдин В.Е., Асадулаев М.С., др. Опыт применения стволовых клеток при лечении ожогов кожи // Педиатр. – 2018. – Т. 9. – № 4. – С. 12–27. doi: 10.17816/PED9412-27

Поступила в редакцию: 05.06.2018

Принята к печати: 03.08.2018

Приведены результаты трехлетних исследований по применению аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) при лечении ожогов кожи II–III степеней, в том числе в комплексе с раневыми покрытиями из нановолокон хитозана и сополиамида, гиалуроновой кислоты. Экспериментальная часть исследования выполнена с участием 48 крыс-самцов линии Wistar-Kyoto массой 230–250 г. Установлено, что при хирургической некрэктомии, введении МСК ЖТ и аппликации на поверхность дефектов покрытий из природных полимеров сроки заживления сокращаются на 89 % ($p < 0,05$). Изолированное введение МСК ЖТ способствует сокращению периода заживления не более чем на 5 % ($p > 0,05$). Совместное использование раневых покрытий из нановолокон хитозана и сополиамида с МСК ЖТ ускоряет процессы регенерации на 26 % ($p < 0,05$), при этом введение МСК ЖТ ускоряет развитие грануляционной ткани на 83 % ($p < 0,01$). Совместное использование раневых покрытий на основе гиалуроновой кислоты с МСК ЖТ сопровождается увеличением числа сосудов микроциркуляторного русла в области дефекта на 185 % ($p < 0,01$). Клиническая оценка эффективности препаратов со стволовыми клетками – геля для местного применения и суспензии МСК ЖТ для инъекционного введения – демонстрирует их способность стимулировать регенерацию в зоне ожога. Аппликация геля с МСК ЖТ ускоряет эпителизацию пограничных (дермальных) ожогов в 2,2–2,4 раза, при этом окончательный срок заживления сокращается на 59 % ($p < 0,01$) и частота нагноения снижается на 30 % ($p < 0,05$). В области введения МСК ЖТ уровень перфузии и амплитуда колебания кровотока в два раза выше величины показателей в зонах без введения клеток. Наряду с этим введение суспензии МСК ЖТ в зону глубокого ожога повышает частоту приживления аутотрансплантатов, стимулирует ангиогенез и пролиферацию фибробластов в поверхностных и глубоких слоях дермы. К 7-м суткам после инъекции МСК ЖТ экспрессия маркеров пролиферации эпителиальных и соединительнотканых клеточных линий достигает 460 % ($p < 0,05$) по сравнению с нормой, при этом экспрессии маркеров программированной клеточной гибели (апоптоза) не выявлено.

Ключевые слова: ожоги кожи; результаты лечения; регенерация ран; раневые покрытия; восстановление кожного покрова; новые технологии; мезенхимальные стволовые клетки; алифатический сополиамид; хитозан; нанофибриллы хитина; гиалуроновая кислота.

EXPERIENCE OF STEM CELL USE IN TREATMENT OF SKIN BURNS

© E.V. Zinovyev^{1,2}, V.E. Yudin³, M.S. Asadulaev¹, V.N. Tsygan⁵, D.V. Kostyakov⁵, A.S. Shabunin³, N.V. Smirnova³, A.E. Kryukov^{3,4}, M.B. Paneiakh¹, S.A. Lukyanov¹, I.V. Artsimovich¹, I.M. Lopatin¹, V.V. Zubov¹, P.K. Krylov², D.O. Vagner², K.F. Osmanov⁵, G.O. Bagaturia¹

¹ St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia;

² Saint Petersburg I.I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint Petersburg, Russia;

³ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia;

⁴ Institute of Macromolecular Compounds of RAS, Saint Petersburg, Russia;

⁵ S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: Zinovyev EV, Yudin VE, Asadulaev MS, et al. Experience of stem cell use in treatment of skin burns. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2018;9(4):12-27. doi: 10.17816/PED9412-27

Received: 05.06.2018

Accepted: 03.08.2018

The results of three-year research on the use of allogeneic mesenchymal stem cells of adipose tissue (AMSCs) in the treatment of skin burns of II-III degree are presented. In a complex with wounds dressing of nanofibers chitosan and copolyamide, hyaluronic acid. It was found that with surgical necrectomy, introduction of AMSCs and substitution of defects with natural polymer coatings, the healing time is reduced by 89% ($p < 0.05$). Isolated administration of MSC reduces the healing period by no more than 5% ($p > 0.05$). The combined use of wounds dressings of nanofibers chitosan and copolyamide with MSC accelerates the regeneration process by 26% ($p < 0.05$), with the introduction of AMSCs accelerating the development of granulation tissue by the fifth day of observation by 83% ($p < 0.01$). Joint use of wound coverings on the basis of hyaluronic acid with AMSCs is accompanied by an increase in the number of vessels of the microcirculatory bed in the defect area by 185% ($p < 0.01$). Clinical evaluation of the effectiveness of drugs with stem cells – a gel for topical application and a suspension of MSC LC for injection administration demonstrate their ability to optimize regeneration in the burn zone. Application of gel with AMSCs reduces the duration of epithelialization of border (dermal) burns by 2.2-2.4 times, with the final healing period being reduced by 59% ($p < 0.01$) and the suppuration frequency by 30% ($p < 0.05$). The introduction of a suspension of AMSCs into the zone of deep burn increases the frequency of engraftment of autografts, stimulates angiogenesis and proliferation of fibroblasts in the superficial and deep layers of the dermis. In the area of MSC administration, the LC perfusion level and the amplitude of blood flow fluctuation are twice as high as the values in the zones without the introduction of cells.

Keywords: skin burns; treatment results; wound regeneration; wound coverages; skin restoration; new technologies; mesenchymal stem cells; aliphatic copolyamide; chitosan; chitin nanofibrils; hyaluronic acid.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно в Российской Федерации регистрируют до полумиллиона пострадавших от ожогов, у каждого десятого из которых констатируют глубокие поражения, а у каждого седьмого-восьмого их площадь превышает 20 % поверхности тела. Летальность при глубоких ожогах не имеет тенденции к снижению и достигает 15 % [2].

Лечение данной категории пострадавших является одной из наиболее сложных задач хирургии. Несмотря на широкий перечень средств и методик, доступных комбустиологам, в настоящее время в подавляющем числе наблюдений (до 99 %) при восстановлении кожного покрова у таких пострадавших по-прежнему используются различные методы кожной пластики, которые подразделяют по

принципу ее осуществления с учетом вида трансплантатов и лоскутов [12].

Биотехнологическое восстановление кожного покрова постепенно внедряется в комбустиологическую практику как в нашей стране, так и за рубежом [1, 38, 39]. Аутологичные клетки кожи, выращенные *in vitro*, для заживления ран первым применил профессор P.R. Medawar [9, 37]. Дальнейшее развитие данного направления было реализовано в работах по трансплантациям культур кератиноцитов, фибробластов, дермальных эквивалентов, гистеобиопластических материалов, скаффолдов, а также культур как аллогенных, так и аутологичных стволовых клеток [1, 34]. Разработка и внедрение искусственных органов, тканей, скаффолдов — трехмерных матриц на основе при-

родных полимеров с живыми клетками, которые подвергаются медленной деструкции (резорбции), считается приоритетным направлением регенеративной медицины. Все вышеперечисленные методы ускоряют репаративную регенерацию в зоне трансплантации как за счет клеточных элементов (в первую очередь мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани), так и за счет продуктов деградации полимеров [11, 14].

Стволовые клетки представляют собой незрелые клеточные единицы, способные к делению и дифференцировке в специализированные клетки различных органов и тканей [18, 33]. По источнику можно выделить следующие типы стволовых клеток: эмбриональные (ЭСК) и тканеспецифические (мезенхимальные, эпидермальные и т. д.). Особенностью ЭСК является высокий дифференцировочный потенциал и способность быть источником практически всех типов клеток организма. Однако их получение связано с рядом сложностей, включая этические ограничения [11, 30]. Кроме того, сложности вызывает и контроль статуса ЭСК в контексте опасности их опухолевого перерождения. В настоящее время внимание исследователей привлекает возможность использования мезенхимальных стволовых клеток (МСК), выделенных из костного мозга, жировой ткани, печени, селезенки и др. Однако не все перечисленные источники МСК одинаково доступны, например, получение стволовых клеток красного костного мозга требует аспирационной биопсии — инвазивной и достаточно болезненной процедуры [25, 26, 28, 29].

Наиболее перспективным материалом для получения МСК является жировая ткань, которая служит безопасным и поверхностно расположенным источником клеточных культур [4, 5, 8]. Она широко распространена в организме человека и удобно расположена для малотравматичного одномоментного получения значительного количества мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ). Ее один грамм может содержать до $2 \cdot 10^6$ клеток, 90 % из которых представляет собой гетерогенную популяцию для культивирования *in vitro* и дифференцирования в клетки разных линий (адипогенные, остеогенные, хондрогенные, миогенные). В отличие от МСК из костного мозга, МСК ЖТ способны формировать на порядок (в десятки раз) больше колониеобразующих единиц [37].

Уникальный иммунный профиль МСК ЖТ также привлекателен для целей трансплантации. Их иммунологическая характеристика свидетельствует об отсутствии экспрессии молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса, что делает

их менее иммуногенными по сравнению с другими клеточными популяциями [24, 35]. Они демонстрируют иммуномодулирующие свойства, позволяющие снизить риск отторжения трансплантата в реакции «трансплантат против хозяина». Кроме того, можно отметить генетическую стабильность МСК ЖТ в течение длительных процедур культивирования [13, 21, 23, 24, 26, 36]. МСК ЖТ способны ингибировать пролиферацию активированных Т-цитотоксических лимфоцитов и регулировать продукцию провоспалительных цитокинов Т-хелперами [15–17, 27, 31].

Для доставки мезенхимальных стволовых клеток в зону дефекта тканей предложено как их местное, так и системное введение. Вопрос о введении стволовых клеток в сосудистое русло остается дискуссионным. В работах М. Muehlberg et al. при внутривенном введении МСК ЖТ мышам с индуцированной саркомой обнаруживали накопление этих клеток в области новообразования, причем они дополнительно ускоряли деление опухолевых клеток [25, 32]. В то же время имеются сообщения о том, что *in vivo* МСК ЖТ способны экспрессировать цитозиндезаминазу, обладающую супрессивным эффектом по отношению к клеткам опухоли [20].

Показано, что аллогенные мезенхимальные стволовые клетки (АМСК) с лечебной целью можно использовать как изолированно, так и в комбинации. Ряд работ, посвященных совместной трансплантации МСК ЖТ и островков Лангерганса при лечении сахарного диабета, демонстрирует, что первые эффективно способствуют приживлению и реваскуляризации донорских островков поджелудочной железы [14, 19]. Результаты всех вышеописанных исследований представляются крайне перспективными в рамках комбустиологии. Ряд авторов полагает, что совместное применение МСК ЖТ и алло- или ксенокожи в условиях дефицита донорских ресурсов может повысить эффективность пластики [3, 7].

Установлено, что МСК ЖТ способны стимулировать неоваскуляризацию в ответ на гипоксию [19]. Ангиогенный потенциал МСК ЖТ был продемонстрирован на модели ишемии конечности у животных, при этом внутривенное введение суспензии стволовых клеток приводило к ускоренному восстановлению тканей. Гистологическое исследование подтверждает увеличение количества микрососудов и снижение степени атрофии поперечно-полосатых миоцитов в зоне их введения [18].

Возможности и целесообразность применения МСК ЖТ и продуктов на их основе в комбустиологии

логии изучались рядом исследователей: Peng Liu, А.И. Колесниковой, К.В. Котенко, Liang Xue и др. [10, 22, 28]. В частности, А.И. Колесниковой и др. предложена композиция для регенерации, содержащая костномозговые мезенхимальные стволовые клетки человека в количестве по меньшей мере 10^5 кл/мл¹. Недостаток данного способа состоит в применении в качестве источника стволовых клеток красного костного мозга человека, процесс получения которого весьма сложен. Для лечения радиационных ожогов кожи разработан клеточный препарат на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, предназначенный для местного инфильтративного введения в зону дефекта [10].

Изучением раневых покрытий, содержащих МСК, в эксперименте на животных занимались Peng Liu et al. У крыс был воспроизведен глубокий ожог кожи, лечение которого осуществляли с применением МСК и при этом сравнивали с эффектом коллагенового скаффолда без стволовых клеток. Установлено, что использование МСК позволяет добиться контракции и сокращения площади раневого дефекта на 50 % в конце первого месяца наблюдения, тогда как в группе животных без лечения аналогичный показатель составил лишь 20 %. Результаты гистологического исследования продемонстрировали, что применение стволовых клеток стимулирует ангиогенез. К четвертой неделе наблюдения в биоптатах ран, лечение которых проводили с МСК, количество новообразованных микрососудов увеличилось на 21 % ($p < 0,05$) [22].

В исследованиях Liang Xue et al. МСК, выделенные из костного мозга, вводили в область ожога у мышей. Установлено, что в результате использования стволовых клеток раневая поверхность уменьшилась на 38 % ($p < 0,05$) уже к первой неделе исследования, при этом к концу второй недели общая площадь ожога сократилась на 68 % ($p < 0,05$). Авторы констатируют выраженный ангиогенез в зоне поражения на фоне введения МСК [28].

Можно заключить, что единого взгляда исследователей на целесообразность использования МСК в комбустиологии нет. Данный вопрос остается предметом дискуссий и служит побудительным мотивом для проведения дальнейших исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент выполнен с участием 48 крыс-самцов линии Wistar-Kyoto массой 230–250 г. Все манипуляции с животными осуществляли под ингаляционным (эфирным) наркозом в асептических условиях. Воспроизведение ожога кожи III степе-

ни (МКБ-10) площадью 10 % поверхности тела выполняли по собственной оригинальной методике².

Выделение и культивирование стволовых клеток проводили из подкожно-жировой клетчатки крыс в лаборатории полимерных материалов для тканевой инженерии и трансплантологии Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого. Для введения использовали пятый пассаж клеток.

Животные были разделены на шесть групп с учетом метода лечения. В I группе исследуемые средства применяли сразу после ожога, тогда как во II, III, IV и V группах этому предшествовала некрэктомия.

В I группе животных спустя 60 минут после ожога вводили 4 мл суспензии МСК ЖТ (1 млн/мл клеток) инъекционно под струпу (рис. 1).

Во II и III группах животным после некрэктомии под собственную фасцию спины вводили 4 мл суспензии клеток, дефект закрывали раневыми покрытиями на основе гидрогеля гиалуроновой кислоты («Джи-групп», РФ) или хитозана-сополиамида (Институт высокомолекулярных соединений РАН, РФ). В IV и V группах животных также использовали указанные раневые покрытия, но без предварительного введения МСК ЖТ. В VI группе лечение ран не проводили (контроль).

Эффективность избранных методик лечения оценивали ежедневно. Выполняли осмотр, фотографирование ран, отмечали характер отделяемого, наличие и вид грануляций, фиксировали сроки отторжения струпа и эпителизации. Планиметрическим методом Л.Н. Поповой определяли площадь раны и вычисляли индекс заживления. Биоптаты для гистологиче-

² Рационализаторское предложение ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ № 14287/1 от 19.01.2016.

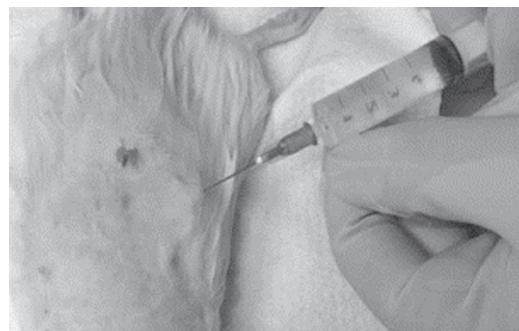


Рис. 1. Этап введения суспензии адипогенных мезенхимных стволовых клеток субфасциально в область ожога кожи III степени

Fig. 1. Stage of injection of a suspension of adipogenic mesenchymal stem cells subfascially in the area of skin burn of III degree

¹ Патент РФ № 2455354 от 29.12. 2010.

ского исследования отбирали на 3, 7, 12, 15, 21, 28, 60-е сутки. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином с дальнейшим их исследованием методом световой микроскопии.

Клинический раздел исследования включал два этапа изучения эффективности и безопасности биомедицинских клеточных продуктов с МСК ЖТ — коллаген-клеточный комплексный продукт (КККП) и мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК). Первый препарат представляет собой коллагеновый биодеградируемый гель, включающий взвесь мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека, его применяли для лечения ожогов II–III степеней двукратно в дозах 0,05 и 0,1 мл на 1 см². В исследовании участвовало 30 пострадавших с дермальными ожогами, которые были разделены на три группы по 10 пациентов: у I группы применяли гель в концентрации 0,05 мл/см², у II группы — гель в концентрации 0,1 мл/см², у III группы (контроль) — мазь левомеколь. Второй препарат содержит мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки человека, культивированные *in vitro*, в суммарной концентрации $(5,0 + 0,25) \cdot 10^6$ клеток. Препарат вводили двукратно тяжелообожженным пациентам после ранней некрэктомии и одномоментной аутодермопластики субфасциально по периметру раны, на глубину раневого дефекта, на равном расстоянии друг от друга, дробно, по 0,05 мл/см² площади

раны. Данная методика одобрена локальным этическим комитетом.

В динамике оценивали объективные и субъективные данные о состоянии пациентов (жалобы, термометрию, артериальное давление, частоту сердечных сокращений), лабораторные показатели (общий анализ крови и мочи, уровень глюкозы, билирубина, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, креатинина, мочевины). Исследовали сроки заживления, частоту нагноения ран и степень приживления кожных трансплантатов. Планиметрическим методом определяли площадь раневой поверхности, выполняли микробиологическое изучение посевов, гистологическое исследование биоптатов, гистохимический анализ маркеров пролиферации (EGFR, Ki-67) и апоптоза (bcl-2, p53). Методом доплеровской флоуметрии (аппарат ЛАКК, РФ) изучали состояние раны после трансплантации МСК ЖТ.

Полученные результаты обрабатывали в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики. Критерием достоверности считали величину $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты сравнительной оценки сроков окончательного заживления экспериментальных ран с учетом выбора методики их лечения приведены в табл. 1.

Таблица 1 (Table 1)

Планиметрическая оценка результатов лечения экспериментальных ран
Planimetric evaluation of treatment results for experimental wounds

Группы исследования / Groups of research	Срок заживления, сутки / Term of healing, days	Площадь рубца на 60-е сутки, см ² / Rumen area at 60 th day, cm ²
Контрольная группа (без лечения) / Control group (no treatment)	59,1 ± 2,3	4,5 ± 1,9
АМСК, без некрэктомии и аппликации раневых покрытий / AMSC without necrectomy and application of wound dressings	57,4 ± 1,9	3,0 ± 1,1
АМСК после некрэктомии, аппликации раневых покрытий хитозан-сополиамида / AMSC after necrectomy and application of chitosan-copolyamide wound dressings	44,3 ± 1,2 ^{1,2,3}	1,2 ± 0,7
АМСК после некрэктомии, аппликации раневых покрытий гиалуроновой кислоты / AMSC after necrectomy and application of hyaluronic acid wound dressings	47,2 ± 1,5 ^{1,2}	0,8 ± 0,9
Некрэктомия, аппликация раневых покрытий хитозан-сополиамида / Necrectomy and application of chitosan-copolyamide wound dressings	51,7 ± 1,7 ¹	2,5 ± 1,5
Некрэктомия, аппликация раневых покрытий гиалуроновой кислоты / Necrectomy and application of hyaluronic acid wound dressings	54,2 ± 1,1	2,0 ± 1,3

Примечание: ¹ достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (без лечения); ² достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с результатами введения АМСК без некрэктомии и аппликации раневых покрытий; ³ достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с результатами выполнения некрэктомии с аппликацией раневых покрытий гиалуроновой кислоты без АМСК; АМСК — адипогенные мезенхимальные стволовые клетки.

Note: ¹ significant ($p < 0.05$) in comparison with the control group (without treatment); ² significant ($p < 0.05$) in comparison with the results of the introduction of AMSC without necrectomy and application of wound dressings; ³ significant ($p < 0.05$) in comparison with results of performance of a necrectomy with application of wound dressings of hyaluronic acid without AMSC; AMSC – adipogenic mesenchymal stem cells

Результаты, приведенные в табл. 1, показывают, что минимальные сроки заживления ран констатированы в группе животных, лечение которых после некрэктомии, введения МСК ЖТ было дополнено аппликацией раневых покрытий на основе хитозан-сополиамида. Анализируемый показатель составил 47 суток, что на 12 суток меньше ($p < 0,05$) результата в контрольной группе. Площадь сформированного рубца у животных, которым проводили некрэктомию, введение МСК ЖТ и аппликацию раневых покрытий хитозан-сополиамида, к 60-м суткам оказалась наименьшей среди исследуемых групп и составила 0,8 см². В случае выполнения некрэктомии, введения МСК ЖТ и аппликации раневых покрытий на основе гиалуроновой кислоты или хитозан-сополиамида срок заживления был равен 47 и 44 суток соответственно, площадь рубца в этих группах на 60-е сутки составила 0,8 и 1,2 см² соответственно. Изолированное применение раневых покрытий гиалуроновой кислоты и хитозан-сополиамида без предварительного введения МСК ЖТ позволило обеспечить окончательное заживление ран к 54-м и 51-м суткам соответственно, что на 9 % ($p > 0,05$) и 13 % ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле, в котором раны заживали

лишь к 59-м суткам наблюдения с формированием рубца площадью 4,5 см².

При гистологическом исследовании биоптатов ран на 60-е сутки наблюдения установлено, что число кровеносных сосудов микроциркуляторного русла в грануляционной ткани у животных, лечение которых после некрэктомии осуществляли с помощью МСК ЖТ и покрытий на основе гиалуроновой кислоты, оказалось наибольшим и составило 37 микрососудов в поле зрения ($p < 0,05$) (табл. 2). Использование стволовых клеток и покрытий на основе хитозан-сополиамида после некрэктомии позволило увеличить число сосудов до 26, что на 260 % больше ($p < 0,05$) по сравнению с результатами изолированного введения МСК ЖТ. Аппликация лишь покрытий на основе природных полимеров (гиалуроновой кислоты и хитозан-сополиамида после некрэктомии) способствовала стимуляции ангиогенеза, по сравнению с контролем показатель в этих группах был выше примерно в 2 раза ($p < 0,05$). Наименьшее число сосудов в поле зрения (10 микрососудов) отмечено в группе животных, лечение которых проводили только с использованием МСК ЖТ без некрэктомии.

Таблица 2 (Table 2)

Число сосудов микроциркуляторного русла в грануляционной ткани на 60-е сутки
Number of vessels of microcirculatory bed in granulation tissue at 60th day

Группы исследования / Groups of research	Количество микрососудов, ед. в поле зрения / The number of microvessels, units in sight
Контрольная группа (без лечения) / Control group (no treatment)	13 ± 1
АМСК, без некрэктомии и аппликации раневых покрытий / AMSC without necrectomy and application of wound dressings	10 ± 2
АМСК после некрэктомии, аппликации раневых покрытий хитозан-сополиамида / AMSC after necrectomy and application of chitosan-copolyamide wound dressings	26 ± 3 ^{1,2}
АМСК после некрэктомии, аппликации раневых покрытий гиалуроновой кислоты / AMSC after necrectomy and application of hyaluronic acid wound dressings	37 ± 4 ^{1,2,3}
Некрэктомия, аппликация раневых покрытий хитозан-сополиамида / Necrectomy and application of chitosan-copolyamide wound dressings	26 ± 3 ^{1,2}
Некрэктомия, аппликация раневых покрытий гиалуроновой кислоты / Necrectomy and application of hyaluronic acid wound dressings	28 ± 1 ^{1,2}

Примечание: ¹ достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (без лечения); ² достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с результатами введения АМСК без некрэктомии и аппликации раневых покрытий; ³ достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с результатами выполнения некрэктомии с аппликацией раневых покрытий гиалуроновой кислоты без АМСК; АМСК — адипогенные мезенхимальные стволовые клетки.
Note: ¹ significant ($p < 0.05$) in comparison with the control group (without treatment); ² significant ($p < 0.05$) in comparison with the results of the introduction of AMSC without necrectomy and application of wound dressings; ³ significant ($p < 0.05$) in comparison with results of performance of a necrectomy with application of wound dressings of hyaluronic acid without AMSC; AMSC – adipogenic mesenchymal stem cells

Установлено, что толщина грубоволокнистой соединительной ткани в зоне рубца также зависела от избранного способа лечения (табл. 3). Наибольшая величина показателя выявлена в группе животных, лечение которых осуществляли лишь с МСК ЖТ без некрэктомии (2002,1 мкм). Применяя МСК ЖТ в комбинации с природными полимерами, удалось увеличить толщину грануляционной ткани в среднем на 166 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. При использовании лишь раневых покрытий на основе хитозан-сополиамида после некрэктомии толщина новообразованной грануляционной ткани составила 1676,2 мкм, что на 35 % больше, чем в контрольной группе животных.

При микробиологическом исследовании раневого отделяемого на 7-е сутки эксперимента установлено, что минимальный уровень вегетации микроорганизмов соответствовал группе животных, лечение которых после некрэктомии осуществляли с использованием МСК ЖТ и раневых покрытий на основе хитозана-сополиамида. Умеренный рост патогенной микрофлоры зафиксирован у животных, перенесших некрэктомию, введение МСК ЖТ в комбинации с покрытиями на основе гиалуроновой кислоты, а также среди особей с изолированным применением исследуемых раневых покрытий. Наибольший рост микрофлоры отмечен при изолированном использовании МСК ЖТ без предшествующей некрэктомии (табл. 4).

Первый этап клинического исследования включал углубленную оценку эффективности и безопасности геля с МСК ЖТ при его местном применении в зоне дермальных ожогов. Сроки окончательного заживления ожоговых ран являются одним из основных интегральных показателей эффективности избранного метода лечения. Результаты планиметрической оценки сроков эпителизации дермальных ожогов на фоне применения геля с МСК ЖТ в различных концентрациях, представленные в табл. 5, свидетельствуют о его высокой эффективности.

Полученные данные (см. табл. 5) позволяют заключить, что двукратное местное использование геля с МСК ЖТ в различных концентрациях дает возможность сократить срок заживления ожогов II–III степеней на 49–53 % ($p < 0,01$). Достоверных различий в сроках заживления таких ран при аппликации гелей КККП™ в изучаемых концентрациях (0,05 и 0,1 мл/см²) не выявлено. При их применении эпителизация дермальных ожогов завершалась к 5–6-м суткам, что на 59 % меньше ($p < 0,05$) показателя, зафиксированного в группе пациентов, которые использовали мазь левомеколь. В этой группе окончательная эпителизация ожоговых ран завершилась лишь к 10–11-м суткам.

Контаминация ожогов широким спектром патогенных микроорганизмов детерминирует высокую частоту их нагноения (рис. 2). В ходе ис-

Таблица 3 (Table 3)

Толщина новообразованных грануляций на 7-е сутки
Thickness of newly formed granulations at the 7th day

Группы исследования / Groups of research	Толщина ткани, мкм / Thickness of fabric, mkm
Контрольная группа (без лечения) / Control group (no treatment)	1090,4 ± 149,7
АМСК, без некрэктомии и аппликации раневых покрытий / AMSC without necrectomy and application of wound dressings	2002,1 ± 256,2 ^{1,2}
АМСК после некрэктомии, аппликации раневых покрытий хитозан-сополиамида / AMSC after necrectomy and application of chitosan-copolyamide wound dressings	1810,1 ± 181,5 ^{1,2}
АМСК после некрэктомии, аппликации раневых покрытий гиалуроновой кислоты / AMSC after necrectomy and application of hyaluronic acid wound dressings	1783,3 ± 195,7 ^{1,2}
Некрэктомия, аппликация раневых покрытий хитозан-сополиамида / Necrectomy and application of chitosan-copolyamide wound dressings	1676,2 ± 166,8 ¹
Некрэктомия, аппликация раневых покрытий гиалуроновой кислоты / Necrectomy and application of hyaluronic acid wound dressings	1273,4 ± 151,3

Примечание: ¹ достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (без лечения); ² достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с результатами выполнения некрэктомии, аппликации раневых покрытий гиалуроновой кислоты без АМСК; АМСК — адипогенные мезенхимальные стволовые клетки.
Note: ¹ significant ($p < 0.05$) in comparison with the control group (without treatment); ² significant ($p < 0.05$) in comparison with results of performance of a necrectomy with application of wound dressings of hyaluronic acid without AMSC; AMSC – adipogenic mesenchymal stem cells

Таблица 4 (Table 4)

Число колониеобразующих единиц в раневом экссудате на 7-е сутки (питательная среда – кровяной агар)
Number of colony forming units in wound exudate on day 7 (nutrient medium – blood agar) translation

Группы исследования / Groups of research	Рост микрофлоры, в + / Growth of microflora, in +
Контрольная группа (без лечения) / Control group (no treatment)	++++
АМСК без некрэктомии и аппликации раневых покрытий / AMSC without necrectomy and application of wound dressings	+++
АМСК после некрэктомии, аппликации раневых покрытий хитозан-сополиамида / AMSC after necrectomy and application of chitosan-copolyamide wound dressings	+
АМСК после некрэктомии, аппликации раневых покрытий гиалуроновой кислоты / AMSC after necrectomy and application of hyaluronic acid wound dressings	++
Некрэктомия, аппликация раневых покрытий хитозан-сополиамида / Necrectomy and application of chitosan-copolyamide wound dressings	++
Некрэктомия, аппликация раневых покрытий гиалуроновой кислоты / Necrectomy and application of hyaluronic acid wound dressings	++

Примечание. Рост микроорганизмов: + — слабый, ++ — умеренный, +++ — выраженный, ++++ — интенсивный; АМСК — адипогенные мезенхимальные стволовые клетки.
Note. The growth of microorganisms: + – weak, ++ – moderate, +++ – significant, ++++ – intensive; AMSC – adipogenic mesenchymal stem cells

Таблица 5 (Table 5)

Сроки заживления дермальных ожоговых ран на фоне применения геля с адипогенными мезенхимальными стволовыми клетками

Timing of healing of dermal burn wounds in case of the application of gel with AMSC

Группы исследования / Groups of research	Срок заживления, сутки / Term of healing, day
Мазь левомеколь / Levomecol ointment	10,1 ± 2,7
Гель КККП (0,05 мл на 1 см ²) / CCCP gel (0.05 ml per 1 cm ²)	5,2 ± 1,5 ¹
Гель КККП (0,1 мл на 1 см ²) / CCCP gel (0.1 ml per 1 cm ²)	4,8 ± 1,2 ¹

Примечание. ¹ достоверно ($p < 0,01$) по сравнению с использованием мази левомеколь; АМСК — адипогенные мезенхимальные стволовые клетки; КККП — коллаген-клеточный комплексный продукт.
Note. ¹ significant ($p < 0,05$) in comparison with the use of the levomecol ointment; AMSC – adipogenic mesenchymal stem cells; CCCP – collagen cell complex product

следования установлено, что при использовании геля КККПTM в различных концентрациях осложненное течение раневого процесса отмечено лишь в двух наблюдениях (не более 10 %). При применении мази левомеколь развитие гнойного воспаления в дермальных ранах отмечено почти в 40 % случаев.

На втором этапе исследований препарат ММСКTM (суспензия МСК) в дозе 0,05 мл/см² был использован для инфильтративного введения в зону глубоких ожогов после предшествующей ранней некрэктомии с одномоментной аутодермопластикой. Приводим клинические наблюдения.

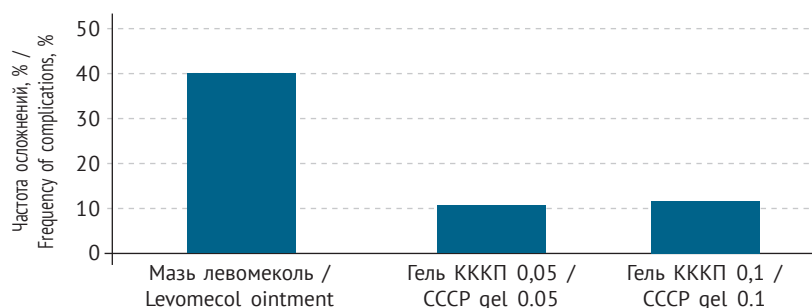


Рис. 2. Частота развития гнойного воспаления при применении геля с адипогенными мезенхимальными стволовыми клетками: КККП – коллаген-клеточный комплексный продукт

Fig. 2. The frequency of purulent inflammation in case of injection of gel with AMSC (adipogenic mesenchymal stem cells): CCCP – collagen cell complex product

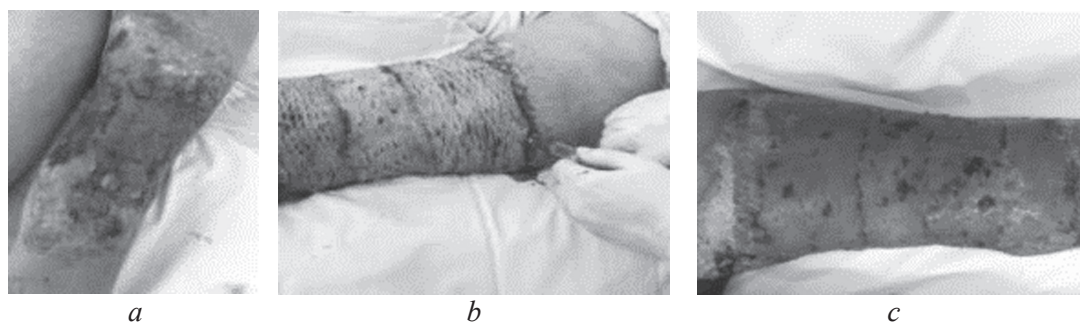


Рис. 3. Пациент А., 49 лет, ожог пламенем 6 % (5,5 %)/IIIa, б степени правого бедра, голени, коленного сустава: а – третьи сутки после ожога, перед операцией; б – интраоперационное введение мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани после некрэктомии и аутодермопластики; с – трансплантат на первой перевязке

Fig. 3. Patient A., 49 years old, flame burn 6 % (5.5%)/IIIa-b degree of right thigh, lower leg, knee joint: a – the third day after the burn, before the operation; b – intraoperative injection of AMSC after necrectomy and autodermoplasty; c – graft on the first dressing

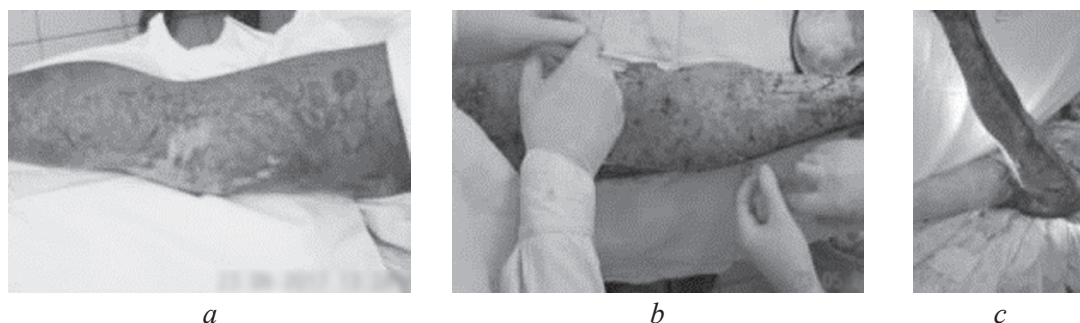


Рис. 4. Пациент Б., 37 лет, ожог пламенем 78 % (67 %)/IIIa, б степени головы, туловища, конечностей: а – третьи сутки после ожога, перед операцией; б – интраоперационное введение мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани после некрэктомии и аутодермопластики; с – трансплантат на первой перевязке

Fig. 4. Patient B., 37 years old, burn with a flame of 78 % (67%)/IIIa-b degree of the head, trunk, extremities: a – the third day after the burn, before the operation; b – intraoperative injection of AMSC after necrectomy and autodermoplasty; c – graft on the first dressing

Наблюдение 1. Пострадавший, 49 лет, госпитализирован по поводу глубокого ожога нижней конечности до 6 % поверхности тела (далее п.т.). Ранняя радикальная некрэктомия до фасции выполнена на 2-е сутки после травмы, вслед за одномоментной аутодермопластикой пациенту введены МСК ЖТ на площади до 1,5 % п.т. Констатировано отсутствие лизиса и полное приживление аутоаутодермопластиков уже на первой перевязке (рис. 3).

Наблюдение 2. Тяжелообожженный, 34 года, ожог пламенем 78 % (67 %) IIIa, б степени туловища, конечностей. Ингаляционное поражение I степени. Ожоговый шок III степени. На третьи сутки выполнена фасциальная некрэктомия нижней конечности на площади 15 % п.т. с одномоментной аутодермопластикой и введением МСК ЖТ в зону дефекта на площади 5 % п.т. В послеоперационном периоде констатировано развитие тяжелого сепсиса, значительные расстройства гомеостаза, рефрактерная гипотермия — до 32–33 °С. Несмо-

тря на столь неблагоприятные условия, наблюдалось отсутствие лизиса и приживление аутодермоаутодермопластиков (рис. 4).

Наблюдение 3. Пострадавший М., 46 лет, госпитализирован по поводу ожогов пламенем 36 % (16 %)/III а, б степени головы, шеи, туловища, верхних конечностей. Шок III степени. Клиническая смерть от 13.06.17 (рис. 5). Общее состояние пострадавшего с момента поступления крайне тяжелое, обусловлено особенностями медицинской помощи на догоспитальном этапе, постреанимационной болезнью, отсрочкой проведения противошоковой терапии, ранним развитием полиорганной недостаточности. Раны представлены обнаженной болезненной дермой, беловато-серым, местами коричневым струпом с отсутствующей болевой чувствительностью. Выполнена декомпрессионная некрэктомия в области верхних конечностей. В условиях реанимации пациенту осуществлена катетеризация центральных сосудов, проводилась

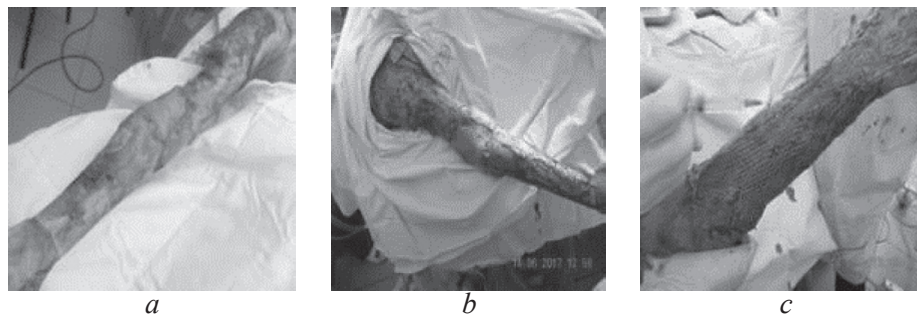


Рис. 5. Пациент В., 46 лет, ожог пламенем 36 % (16 %)/IIIa, б степени головы, шеи, туловища, верхних конечностей: *a* – третьи сутки после ожога, ранней хирургической некрэктомии; *b* – интраоперационное введение мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани после некрэктомии и аутодермопластики; *c* – трансплантат на первой перевязке

Fig. 5. Patient В., 46 years old, flame burn 36% (16%)/IIIa, b degree of the head, neck, trunk, upper limbs: *a* – the third day after the burn, early surgical necrectomy; *b* – intraoperative injection of AMSC after necrectomy and autodermplasty; *c* – graft on the first dressing

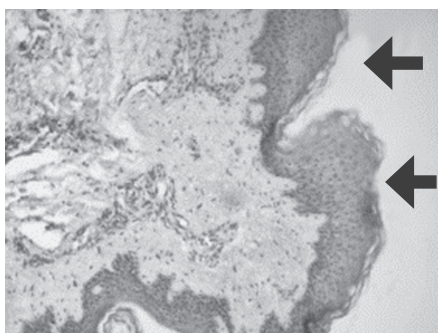


Рис. 6. Пациент Г., 34 года, 5-е сутки наблюдения. Активная краевая эпителизация. Широкая полоса формирующегося эпидермального слоя. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$

Fig. 6. Patient D., 34 year sold, 5th day of observation. Active marginal epithelization. A wide band of the forming epidermal layer. Color in gof hematoxylin-eosin. Zoom $\times 400$

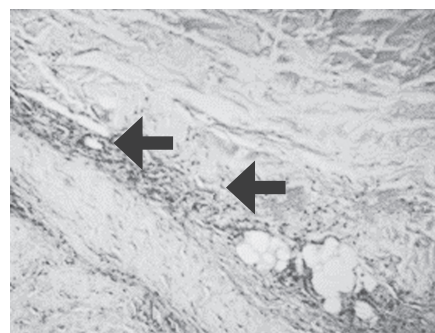


Рис. 7. Пациент Д., 49 лет, 5-е сутки наблюдения. Новообразованные сосуды с перифокальной пролиферацией фибробластов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$

Fig. 7. Patient E., 49 years old, 5th day of observation. Newly formed vessels with perifocal proliferation of fibroblasts. Color in gof hematoxylin-eosin. Zoom $\times 400$

интенсивная инфузионно-трансфузионная терапия, коррекция водно-электролитного баланса, антибактериальная, антисекреторная, антикоагулянтная, метаболическая, симптоматическая терапия, оказана нутриционная поддержка и проводились перевязки с растворами антисептиков, больной помещен на флюидизирующую установку. На 2-е сутки выполнена ранняя фасциальная некрэктомия в области правой верхней конечности на площади 8 % поверхности тела с одномоментной аутодермопластикой на площади 5 % п.т. с коэффициентом перфорации 1 : 3, субфасциальным введением суспензии аллогенных мезенхимальных стволовых клеток (20 млн кл. в 20 мл). Повторное введение той же дозы аллогенных мезенхимальных стволовых клеток в зону первичной трансплантации проведено при первой перевязке и на 5-е сутки после травмы. В послеоперационном периоде констатировано отсутствие лизиса и 100 % приживление аутодермотрансплантатов. Летальный исход

пострадавшего обусловлен тяжестью полученной травмы, особенностями оказания помощи, клинической смертью на догоспитальном этапе, прогрессированием полиорганной недостаточности, развитием септического шока, то есть не связан с успешным восстановлением участка кожного покрова.

При гистологическом исследовании биоптатов из зоны трансплантации МСК ЖТ констатировано наличие выраженной васкуляризации с перифокальной пролиферацией фибробластов как в поверхностных, так и в глубоких слоях дермы (рис. 6, 7).

При иммуногистохимическом исследовании установлено, что использование МСК ЖТ сопровождается увеличением экспрессии маркеров пролиферации эпителиальных и соединительнотканых клеточных линий в зоне введения на 460 % ($p < 0,01$) (пролиферация 2,1–2,2), а также полностью подавляет активность процессов

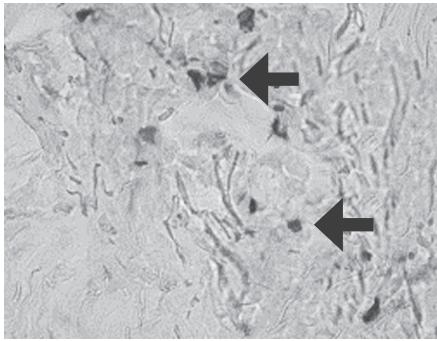


Рис. 8. Пациент Г., 34 года. Выраженная экспрессия маркера пролиферации Ki-67 клетками аутологичного кожного трансплантата на 5-е сутки после введения мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани. Увеличение $\times 600$

Fig. 8. Patient D., 34 years old. Significant expression of the proliferation marker of Ki 67 cells of an autologous cutaneous graft on the 5th day after the AMSC injection. Zoom $\times 600$

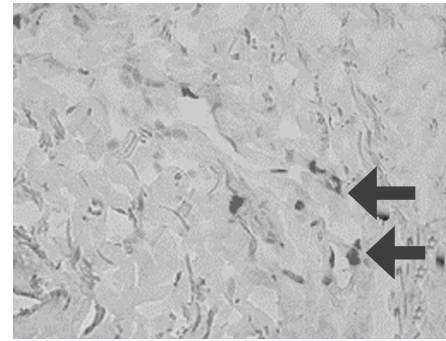


Рис. 9. Пациент Д., 49 лет. Выраженная экспрессия маркера пролиферации Ki-67 клетками аутологичного кожного трансплантата на 5-е сутки после введения мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани. Увеличение $\times 600$

Fig. 9. Patient E., 49 years old. Significant expression of the proliferation marker of Ki 67 cells of an autologous cutaneous graft on the 5th day after the AMSC injection. Zoom $\times 600$

Таблица 6 (Table 6)

Интенсивность микроциркуляции в зоне введения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток
Intensity of microcirculation in the area of MMCS injection

Область исследования / Research zone		ПМ	δ	KV, %
Зона трансплантации / Transplantation zone	МСК ЖТ / AMSC	9,17	0,68	7,39
	Центр трансплантата / Graft center	5,79	0,32	5,61
	Периферия трансплантата / Periphery of the graft	4,26	0,28	6,64
Здоровый симметричный участок / A healthy symmetrical site		4,24	0,55	13,00

Примечание. ПМ — показатель микроциркуляции; δ — среднее квадратичное отклонение амплитуды колебания кровотока; KV — коэффициент вариации; МСК ЖТ — мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани.
Note. ПМ – microcirculation index; δ – mean square deviation of blood flow fluctuation amplitude; KV – the coefficient of variation; AMSC – adipogenic mesenchymal stem cells

программированной клеточной гибели (апоптоза) (рис. 8, 9).

При оценке микроциркуляции в зоне введения стволовых клеток методом лазерной доплеровской флоуметрии на 7-е сутки после ранней некрэктомии, кожной пластики и введения ММСК было установлено, что средний уровень перфузии и среднее квадратичное отклонение амплитуды колебаний кровотока в два раза выше ($p < 0,05$) аналогичных показателей в зонах, где ММСК не применялись (табл. 6).

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что применение клеточных препаратов, содержащих МСК ЖТ, является перспективным

методом лечения пострадавших как с дермальными, так и с глубокими ожогами. При использовании геля КККП™ ускоряются процессы репаративной регенерации в ранах на 59 % ($p < 0,05$) и снижается частота инфекционных осложнений на 41 % ($p < 0,05$). Введение суспензии ММСК™ при оказании помощи пострадавшим с глубокими ожогами, в соответствии с данными гистологического, иммуногистохимического, флоуметрического методов исследования, достоверно стимулирует пролиферацию фибробластов и ангиогенез в области ран. Введение в повседневную практику средств, содержащих МСК ЖТ, позволит улучшить результаты лечения такой категории больных.

ВЫВОДЫ

Полученные предварительные результаты убедительны в отношении того, что введение МСК ЖТ может повысить эффективность местного лечения поверхностных ожоговых ран и методик хирургического восстановления кожного покрова при глубоких ожогах.

В эксперименте наилучшая эффективность, оцениваемая по скорости заживления, отмечена при лечении глубоких ожогов кожи, предусматривающем раннюю некрэктомию, введение МСК ЖТ и аппликацию покрытий на основе алифатического сополиамида и хитозана. У животных этих групп сроки заживления сократились на 89,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. В случае ранней некрэктомии с последующей аппликацией раневого покрытия на основе алифатического сополиамида и хитозана без использования МСК ЖТ сроки заживления ожоговой раны сократились лишь на 25 % ($p > 0,05$).

В анализируемых группах животных наименьшая площадь рубца наблюдалась в случае применения стволовых клеток и раневого покрытия на основе гиалуроновой кислоты (0,8 см²). Изолированное применение покрытий из природных полимеров позволило уменьшить общую площадь рубца до 2 см, что на 56 % меньше ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В группе животных, лечение ран которых не проводилось, размер рубца равнялся 4,5 см².

Результаты микробиологической оценки числа колониеобразующих единиц микроорганизмов в ранах на 7-е сутки эксперимента свидетельствуют, что минимальные значения анализируемого показателя зафиксированы в группе животных, где для лечения ран после некрэктомии была использована комбинация МСК ЖТ и раневых покрытий на основе полимеров. У животных, перенесших раннюю некрэктомию с последующим закрытием ран гиалуроновой кислотой или хитозан-сополиамидом, число колониеобразующих единиц патогенной микрофлоры не превышало 30 %.

Гистологическое исследование биоптатов ран, отобранных в анализируемых группах животных, позволило констатировать, что наибольшее развитие сети сосудов микроциркуляторного русла отмечается к исходу 4-й недели эксперимента среди особей, для лечения которых использовали сочетание ранней некрэктомии, введения стволовых клеток и аппликаций покрытий на основе гиалуроновой кислоты. В этой группе животных анализируемый показатель составил 37 единиц в поле зрения, что на 370 % больше ($p < 0,05$) в случае изолированного применения МСК ЖТ.

Экспериментальные исследования говорят о высокой эффективности совместного применения МСК ЖТ и раневых покрытий на основе природных полимеров, что может являться обоснованием для дальнейшего исследования в этом направлении, в том числе в разработке тканеинженерных конструкций с живыми клетками.

Клиническое исследование эффективности геля КККП™ показывает, что его аппликация позволяет не только сократить сроки заживления дермальных ожогов, но и снизить частоту инфекционных осложнений. На фоне применения геля АМСК в исследуемых концентрациях констатирована ускоренная эпителизация ожогов II–IIIa степеней уже к 5-м суткам (почти в два раза быстрее, чем в группе сравнения), при этом частота осложнений раневого процесса не превышала 10 % наблюдений (то есть была на 30 % меньше, чем в контроле).

Позитивные свойства препарата ММСК™ обусловлены способностью входящих в его состав МСК ЖТ дифференцироваться в клетки тканей мезенхимального происхождения и других зародышевых листков. Они продуцируют цитокины, в том числе интерлейкины, факторы роста, фибронектин, коллаген I и IV типов, ламинин, тромбопластин и другие вещества, суммарный эффект действия которых выражается в нормализации экспрессии провоспалительных цитокинов, стимуляции продукции факторов роста, снижении активности матриксной металлопротеиназы-9, а следовательно, в стимуляции процессов регенерации поврежденных тканей и формирования рубца. Данный тип клеток также обладает иммуносупрессивными свойствами и высокой гистосовместимостью [6].

Результаты клинической оценки эффективности препарата ММСК™ свидетельствуют, что его введение в зону глубокого ожога после выполнения ранней некрэктомии и одномоментной аутодермопластики позволяет ускорить формирование сосудов в новообразованных тканях, увеличить частоту приживления расщепленного кожного трансплантата, стимулировать эпителизацию раневой поверхности, оптимизировать течение процессов репаративной регенерации. Препарат не вызывает нежелательных явлений и изменений в клиническом, биохимическом анализах крови, а также в общем анализе мочи.

Препараты, содержащие МСК ЖТ (гель КККП™ и суспензия ММСК™), могут достоверно улучшить результаты лечения больных как с дермальными, так и с глубокими ожоговыми поражениями.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 14-33-00003.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аканов Ж.А. Перспективы применения стволовых клеточных технологий в медицине // Медицина и экология. – 2010. – № 2. [Akanov ZA. Perspectives of stem cell techniques application in medicine. *Meditsina i ekologiya*. 2010;(2). (In Russ.)]
2. Алексеев А.А. Организация медицинской помощи пострадавшим от ожогов в Российской Федерации // Сборник тезисов IX съезда травматологов-ортопедов России; Саратов, 15–17 сентября 2010 г. – Саратов, 2010. – С. 15–16. [Alekseev AA. Organizatsiya meditsinskoj pomoshchi postradavshim ot ozhogov v rossiyskoj federatsii. In: Proceedings of the 9th congress of traumatologists-orthopedists of Russia; Saratov, 15-17 Sep 2010. Saratov; 2010. P. 15-16. (In Russ.)]
3. Алексеева И.С., Волков А.В., Кулаков А.А., Гольдштейн Д.В. Клинико-экспериментальное обоснование использования комбинированного клеточного трансплантата на основе мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани у пациентов с выраженным дефицитом костной ткани челюстей // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2012. – Т. 7. – № 1. – С. 97–105. [Alekseeva IS, Volkov AV, Kulakov AA, Goldshtein DV. Clinical and experimental study on the use of combined cell transplant on the basis of multipotent mesenchymal stromal cells of adipose tissue in patients with severe deficiency of jaws bone tissue. *Cellular transplantology and tissue engineering*. 2012;7(1):97-105. (In Russ.)]
4. Баранов Е.В., Третьяк С.И., Василевич И.Б., и др. Клинические возможности применения аутогенных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани при лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2013. – Т. 8. – № 2. – С. 79–84. [Baranov EV, Tretyak SI, Vasilevich IB, et al. The clinical application of autologous mesenchymal stem cells isolated from fat tissue for the treatment of patients with trophic ulcers of lower extremities. *Cellular transplantology and tissue engineering*. 2013;8(2):79-84. (In Russ.)]
5. Бондаренко Н.А., Лыков А.П., Казаков О.В., и др. Изменения функциональных свойств мезенхимальных стволовых клеток под влиянием эритропоэтина // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 6. [Bondarenko NA, Lykov AP, Kazakov OV, et al. Changes in functional properties of mesenchymal stem cells under the influence of erythropoietin. *Modern problems of science and education*. 2017;(6). (In Russ.)]
6. Брюховецкий И.С., Брюховецкий А.С., Мищенко П.В., Хотимченко Ю.С. Роль системных механизмов миграции и хоуминга стволовых клеток в развитии злокачественных опухолей центральной нервной системы и разработке новых методов противоопухолевой терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12. – № 4. – С. 3–12. [Bryukhovetskiy IS, Bryukhovetskiy AS, Mischenko PV, Khotimchenko YS. The role of systemic migration and homing mechanisms of stem cells in the development of malignant tumors of the central nervous system and the development of new cancer therapies. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2013;12(4):3-12. (In Russ.)]
7. Венгерович Н.Г., Хрипунов А.К., Рузанова Э.А., и др. Регенеративная терапия тканевыми протекторными цитокинами в составе раневых покрытий на основе бактериальной целлюлозы // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11 «Медицина». – 2016. – Т. 11. – № 1. – С. 36–46. [Vengerovich NG, Khripunov AK, Ruzanova EA, et al. Regenerative therapy by tissue-protective cytokines as a component of bacterial cellulose based wound dressings. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 11 "Meditsina"*. 2016;11(1):36-46. (In Russ.)]
8. Зиновьев Е.В., Цыган В.Н., Асадулаев М.С., и др. Экспериментальная оценка эффективности применения адипогенных мезенхимальных стволовых клеток для лечения ожогов кожи III степени // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2017. – № 1. – С. 137–141. [Zinovev EV, Tsygan VN, Asadulaev MS, et al. Experimental evaluation of the effectiveness of adipogenic mesenchymal stem cells for the treatment of skin burns of III degree. *Vestnik Rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii*. 2017;(1):137-141. (In Russ.)]
9. Киселева Е.П., Гаин М.Ю. Эффективность применения мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в восстановлении дефектов кожи в эксперименте // Вестник Национальной академии наук Белоруссии. Серия «Медицинские науки». – 2013. – № 2. – С. 75–81. [Kiseleva EP, Gain MY. Effectiveness of use of mesenchymal stem cells of the adipose tissue for skin defect restoration in experiment. *Vestnik Natsional'noy akademii nauk Belorussii. Seriya "Meditsinskie nauki"*. 2013;(2):75-81. (In Russ.)]
10. 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. – Т. 7. – № 2. – С. 97–102. [Kotenko KV, Eremin II, Moroz BB, et al. Cell technologies in the treatment of radiation burns: experience Burnasyan Federal Medical Biophysical Centre. *Cellular transplantology and tissue engineering*. 2012;7(2):97-102. (In Russ.)]
11. Никольский Н.Н., Габай И.А., Сомова Н.В. Эмбриональные стволовые клетки человека. Проблемы и перспективы // Цитология. – 2007. – Т. 49. – № 7. –

- C. 529–537. [Nikolskiy NN, Gabay IA, Somova NV. Human embryonic stem cells problems and perspectives. *Cell and tissue biology*. 2007;49(7):529-537. (In Russ.)]
12. Подойницына М.Г., Цепелев В.Л., Степанов А.В. Применение физических методов при лечении ожогов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. [Podoinitsyna MG, Tsepelev VL, Stepanov AV. The use of physical methods in the treatment of the skin burn. *Modern problems of science and education*. 2015;(5). (In Russ.)]
 13. Bassi EJ, Moraes-Vieira PM, Moreira-Sa CS, et al. Immune regulatory properties of allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells in the treatment of experimental autoimmune diabetes. *Diabetes*. 2012;61(10):2534-2545. doi: 10.2337/db11-0844.
 14. Cavallari G, Olivi E, Bianchi F, et al. Mesenchymal stem cells and islet cotransplantation in diabetic rats: improved islet graft revascularization and function by human adipose tissue-derived stem cells preconditioned with natural molecules. *Cell Transplant*. 2012;21(12):2771-2781. doi: 10.3727/096368912X637046.
 15. Cui L, Yin S, Liu W, et al. Expanded adipose-derived stem cells suppress mixed lymphocyte reaction by secretion of prostaglandin E2. *Tissue Eng*. 2007;13(6):1185-1195. doi: 10.1089/ten.2006.0315.
 16. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res*. 2007;100(9):1249-1260. doi: 10.1161/01.RES.0000265074.83288.09.
 17. Gonzalez-Rey E, Gonzalez MA, Varela N, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells reduce inflammatory and T cell responses and induce regulatory T cells *in vitro* in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):241-248. doi: 10.1136/ard.2008.101881.
 18. Kang Y, Park C, Kim D, et al. Unsorted human adipose tissue-derived stem cells promote angiogenesis and myogenesis in murine ischemic hindlimb model. *Microvasc Res*. 2010;80(3):310-316. doi: 10.1016/j.mvr.2010.05.006.
 19. Kim Y, Kim H, Cho H, et al. Direct comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissues and bone marrow in mediating neovascularization in response to vascular ischemia. *Cell Physiol Biochem*. 2007;20(6):867-876. doi: 10.1159/000110447.
 20. Kucerova L, Altanerova V, Matuskova M, et al. Adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells mediated prodrug cancer gene therapy. *Cancer Res*. 2007;67(13):6304-6313. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4024.
 21. Kuo YR, Chen CC, Goto S, et al. Modulation of immune response and T-cell regulation by donor adipose-derived stem cells in a rodent hind-limb allotransplant model. *Plast Reconstr Surg*. 2011;128(6):661e-672e. doi: 10.1097/PRS.0b013e318230c60b.
 22. Xue L, Xu YB, Xie JL, et al. Effects of human bone marrow mesenchymal stem cells on burn injury healing in a mouse model. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6(7):1327-1336.
 23. Meza-Zepeda LA, Noer A, Dahl JA, et al. High-resolution analysis of genetic stability of human adipose tissue stem cells cultured to senescence. *J Cell Mol Med*. 2008;12(2):553-563. doi: 10.1111/j.1582-4934.2007.00146.x.
 24. Mitchell JB, McIntosh K, Zvonic S, et al. Immunophenotype of human adipose-derived cells: temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers. *Stem Cells*. 2006;24(2):376-385. doi: 10.1634/stemcells.2005-0234.
 25. Muehlberg FL, Song YH, Krohn A, et al. Tissue-resident stem cells promote breast cancer growth and metastasis. *Carcinogenesis*. 2009;30(4):589-597. doi: 10.1093/carcin/bgp036.
 26. Advances in Stem Cell Therapy. Bench to Bedside. Ed by E. Nagwa. Cham: Humana Press; 2017. doi: 10.1007/978-3-319-29149-9.
 27. Niemeyer P, Vohrer J, Schmal H, et al. Survival of human mesenchymal stromal cells from bone marrow and adipose tissue after xenogenic transplantation in immunocompetent mice. *Cytotherapy*. 2008;10(8):784-795. doi: 10.1080/14653240802419302.
 28. Liu P, Deng Z, Han S, et al. Tissue-engineered skin containing mesenchymal stem cells improves burn wounds. *Artif Organs*. 2008;32(12):925-931. doi: 10.1111/j.1525-1594.2008.00654.x.
 29. Pittenger MF. Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Science*. 1999;284(5411):143-147. doi: 10.1126/science.284.5411.143.
 30. Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation*. 2004;109(5):656-663. doi: 10.1161/01.CIR.0000114522.38265.61.
 31. Puissant B, Barreau C, Bourin P, et al. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Br J Haematol*. 2005;129(1):118-129. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05409.x.
 32. Safford KM, Hicok KC, Safford SD, et al. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;294(2):371-379. doi: 10.1016/s0006-291x(02)00469-2.
 33. Seo MJ, Suh SY, Bae YC, Jung JS. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage *in vitro* and *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;328(1):258-264. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.12.158.

34. Timper K, Seboek D, Eberhardt M, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;341(4):1135-1140. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.01.072.
35. Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation*. 2003;75(3):389-397. doi: 10.1097/01.TP.0000045055.63901.A9.
36. Yanez R, Lamana ML, Garcia-Castro J, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have *in vivo* immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease. *Stem Cells*. 2006;24(11):2582-2591. doi: 10.1634/stemcells.2006-0228.
37. Zhu X, Shi W, Tai W, Liu F. The comparison of biological characteristics and multilineage differentiation of bone marrow and adipose derived Mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res*. 2012;350(2):277-287. doi: 10.1007/s00441-012-1453-1.
38. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(12):4279-95. doi: 10.1091/mbc.e02-02-0105.
39. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211-228. doi: 10.1089/107632701300062859.

◆ Информация об авторах

Евгений Владимирович Зиновьев — д-р мед. наук, профессор, профессор, кафедра госпитальной хирургии с курсами травматологии и ВПХ. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: evz@list.ru.

Владимир Евгеньевич Юдин — д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий лабораторией, кафедра медицинской физики, лаборатория полимерных материалов для тканевой инженерии и трансплантологии. Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций, ФГАУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург. E-mail: yudinve@gmail.com.

Марат Сергеевич Асадулаев — лаборант-исследователь, научно-исследовательский центр, лаборатория экспериментальной хирургии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: marat.asadulaev@yandex.ru.

Василий Николаевич Цыган — д-р мед. наук, профессор, заведующий, кафедра патологической физиологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург. E-mail: vn-t@mail.ru.

Денис Валерьевич Костяков — канд. мед. наук, ассистент, кафедра патологической физиологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург. E-mail: kosdv@list.ru.

Антон Сергеевич Шабунин — лаборант-исследователь, кафедра медицинской физики, лаборатория полимерных материалов для тканевой инженерии и трансплантологии. Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций, ФГАУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург. E-mail: anton-shab@yandex.ru.

Наталья Владимировна Смирнова — канд. биол. наук, научный сотрудник, кафедра медицинской физики, лаборатория полимерных материалов для тканевой инженерии и трансплантологии. Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций, ФГАУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург. E-mail: nvsmirnoff@yandex.ru.

◆ Information about the authors

Evgeny V. Zinovyev — MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Department of Hospital Surgery with Traumatology and Military Surgery Courses. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: evz@list.ru.

Vladimir E. Yudin — DrSci, Professor, Head, Department of Medical Physics, Laboratory of Polymeric Materials for Tissue Engineering and Transplantology. Institute of Physics, Nanotechnology and Telecommunications, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: yudinve@gmail.com.

Marat S. Asadulaev — Laboratory Assistant-Researcher, Research Center, Laboratory of Experimental Surgery. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: marat.asadulaev@yandex.ru.

Vasily N. Tsygan — MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head, Department of Pathological Physiology. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: vn-t@mail.ru.

Denis V. Kostyakov — MD, PhD, Assistant Professor, Department of Pathological Physiology. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: kosdv@list.ru.

Anton S. Shabunin — Laboratory Assistant-Researcher, Department of Medical Physics, Laboratory of Polymeric Materials for Tissue Engineering and Transplantology. Institute of Physics, Nanotechnology and Telecommunications, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: anton-shab@yandex.ru.

Natalia V. Smirnova — PhD, Researcher, Department of Medical Physics, Laboratory of Polymeric Materials for Tissue Engineering and Transplantology. Institute of Physics, Nanotechnology and Telecommunications, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: nvsmirnoff@yandex.ru.

◆ Информация об авторах

Артем Евгеньевич Крюков – лаборант-исследователь, кафедра медицинской физики, лаборатория полимерных материалов для тканевой инженерии и трансплантологии, Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций, ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург; лаборант-исследователь, ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук», Санкт-Петербург. E-mail: kryukov14@gmail.com.

Моисей Бениаминович Панеях – ассистент, кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: moisey031190@gmail.com.

Сергей Андреевич Лукьянов – лаборант-исследователь, научно-исследовательский центр, лаборатория экспериментальной хирургии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: Sergey.lukyakov95@yandex.ru.

Илья Валерьевич Арцимович – лаборант-исследователь, научно-исследовательский центр, лаборатория экспериментальной хирургии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: enerdgezer@yandex.ru.

Иван Михайлович Лопатин – лаборант-исследователь, научно-исследовательский центр, лаборатория экспериментальной хирургии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: forlopatin@yandex.ru.

Виктор Владимирович Зубов – лаборант-исследователь, научно-исследовательский центр, лаборатория экспериментальной хирургии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: viktorzubo@mail.ru.

Павел Константинович Крылов – канд. мед. наук, заведующий, ожоговое отделение. ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург. E-mail: krilov_pk@mail.ru.

Денис Олегович Вагнер – канд. мед. наук, хирург, ожоговое отделение. ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург. E-mail: 77wagner77@mail.ru.

Камил Фахрутдинович Османов – лаборант-исследователь, кафедра патологической физиологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург. E-mail: ikamilo26@gmail.com.

Георгий Отариевич Багатурия – д-р мед. наук, профессор, заведующий, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: geobag@mail.ru.

◆ Information about the authors

Artem E. Kryukov – Laboratory Assistant-Researcher, Department of Medical Physics, Laboratory of Polymeric Materials for Tissue Engineering and Transplantology, Institute of Physics, Nanotechnology and Telecommunications, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia; Institute of Macromolecular Compounds of RAS, Saint Petersburg, Russia. E-mail: kryukov14@gmail.com.

Moisei B. Paneiakh – Assistant Professor, Department of Pathological Anatomy at the Rate of Forensic Medicine. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: moisey031190@gmail.com.

Sergey A. Lukyanov – Laboratory Assistant-Researcher, Research Center, Laboratory of Experimental Surgery. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Sergey.lukyakov95@yandex.ru.

Ilya V. Artsimovich – Laboratory Assistant-Researcher, Research Center, Laboratory of Experimental Surgery. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: enerdgezer@yandex.ru.

Ivan M. Lopatin – Laboratory Assistant-Researcher, Research Center, Laboratory of Experimental Surgery. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: forlopatin@yandex.ru.

Viktor V. Zubov – Laboratory Assistant-Researcher, Research Center, Laboratory of Experimental Surgery. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: viktorzubo@mail.ru.

Pavel K. Krylov – MD, PhD, Head, Department of Burn Injuries. I.I. Dzhanelidze Saint Petersburg Research Institute of Emergency Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: krilov_pk@mail.ru.

Denis O. Vagner – MD, PhD, Surgeon, Department of Burn Injuries. I.I. Dzhanelidze Saint Petersburg Research Institute of Emergency Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: 77wagner77@mail.ru.

Kamil F. Osmanov – Laboratory Assistant-Researcher, Department of Pathological Physiology. S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. E-mail: ikamilo26@gmail.com.

Georgiy O. Bagaturia – MD, Dr Med Sci, Professor, Chief of Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: geobag@mail.ru.