

Клеточные технологии в биологии и медицине



НАЦИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВО
РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР АКУШЕРСТВА,
ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМ. АКАД. В.И.КУЛАКОВА МЗ РФ
БАНК СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК
“КРИОЦЕНТР”
ЗАО “РЕМЕТАКС”

Главный редактор

Г.Т.Сухих

Зам. главного редактора

В.П.Чехонин

Ю.А.Романов

Д.В.Гольдштейн

Ответственный секретарь

К.Н.Ярыгин

Редакционная коллегия:

М.А.Александрова	С.В.Павлович
Е.Р.Андреева	И.Н.Сабурин
Л.Б.Буравкова	В.И.Селедцов
А.В.Васильев	Н.С.Сергеева
В.Б.Васильев	А.Г.Тоневицкий
А.М.Дыгай	М.В.Угрюмов
З.М.Закиян	Т.Х.Фатхудинов
С.Л.Киселев	
Федерико Буссолино (Италия)	
Вольф-Д. Гримм (Германия)	

Редакционный совет:

Председатель	В.И.Скворцова
Ю.Н.Беленков	М.А.Пальцев
Л.А.Бокерия	В.Г.Савченко
Е.И.Гусев	В.Н.Смирнов
И.И.Дедов	В.А.Ткачук
В.А.Козлов	Е.В.Шляхто
С.И.Колесников	

СОДЕРЖАНИЕ

Получение и тестирование клеток,
экспрессирующих флуоресцентные белки, для
исследования опухолевого микроокружения
методом интравитальной микроскопии

*Водопьянов С.С., Кунин М.А., Гаранина А.С.,
Гриненко Н.Ф., Власова К.Ю., Мельников П.А.,
Чехонин В.П., Сухинич К.К., Макаров А.В.,
Науменко В.А., Абакумов М.А., Мажуга А.Г. 3*

Влияние условий хранения на сохранность
микровезикул мультипотентных
мезенхимальных стромальных клеток
пупочного канатика человека

*Романов Ю.А., Волгина Н.Е., Дугина Т.Н.,
Кабаева Н.В., Сухих Г.Т. 12*

Влияние низкоинтенсивного лазерного
облучения на пролиферативную активность
мезенхимных стромальных клеток
вартонова студня пуповины

*Вахрушев И.В., Юсупов В.И., Раева О.С.,
Пятницкий М.А., Баграташвили В.Н. 17*

Сочетанная трансплантация островковых
клеток поджелудочной железы
с мезенхимными предшественниками
костного мозга на клеточных носителях
из никелида титана при аллоксановом диабете

*Кокорев О.В., Ходоренко В.Н., Серебров В.Ю.,
Дамбаев Г.Ц., Гюнтер В.Э. 22*

Мезенхимные стволовые клетки из жировой
ткани мышцы стимулируют рост опухолей

*Москалева Е.Ю., Семочкина Ю.П., Шуватова В.Г.,
Родина А.В., Крашенинникова А.А. 28*

Мультипотентные мезенхимные стромальные
клетки костного мозга у больных диффузной
В-клеточной крупноклеточной лимфомой

*Фастова Е.А., Магомедова А.У., Петинати Н.А.,
Сац Н.В., Капранов Н.М., Давыдова Ю.О.,
Дризе Н.И., Кравченко С.К., Савченко В.Г. 33*

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Научный журнал. Основан в 2004 г.

Заведующая редакцией **К.В.Мовсесян**
Редактор **Э.В.Петророва**
Корректор **Д.А.Малышева**
Оформление: **И.Е.Головина**

Редакция журнала

119021, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 9а

Тел.: (499) 246-87-67,
(499) 246-66-65

Свидетельство о регистрации издания:
ПИ № ФС77-50346 от 27.07.2012 г.

Издательство РАМН

Тел.: (499) 390-27-20

E-mail: bbm.ktbm@gmail.com

Internet <http://www.iramn.ru>

© Издательство РАМН, 2019

Охраняется Законом Российской Федерации
№ 5351-1 "Об авторском праве и смежных правах"
от 9 июля 1993 года и иными нормативно-пра-
вовыми актами. Воспроизведение всего издания,
а равно его части (частей) без письменного раз-
решения издателя влечет ответственность в
порядке, предусмотренном действующим зако-
нодательством.

Подписано в печать 04.02.19.
Формат 60×90¹/₈. Уч.-изд. л. 6.
Тираж 1000 экз.

Количественная и качественная
характеристика фагоцитарной
активности макрофагов эмбрионального
и костномозгового происхождения

Лохонина А.В., Макаров А.В., Ельчанинов А.В.,
Арутюнян И.В., Шмакова Т.В., Гринберг М.В.,
Усман Н.Ю., Суровцев В.В., Черников В.П.,
Фатхудинов Т.Х. 37

Клеточные пласты из мезенхимных стромальных
клеток эффективно стимулируют заживление
глубоких дефектов мягких тканей

Александрюшкина Н.А., Данилова Н.В.,
Григорьева О.А., Мальков П.Г., Попов В.С.,
Ефименко А.Ю., Макаревич П.И. 42

Изучение остеоиндуктивных свойств
полилактидных матриц,
модифицированных белками

Нащекина Ю.А., Александрова С.А., Никонов П.О.,
Иванькова Е.И., Юдин В.Е., Блинова М.И.,
Михайлова Н.А. 48

Взаимодействие НК-клеток, трофобласта
и эндотелиальных клеток при ангиогенезе

Белякова К.Л., Степанова О.И., Шевелева А.Р.,
Михайлова В.А., Соколов Д.И., Сельков С.А. 54

Фибробласты кожи как объект
для прижизненной диагностики
болезни Паркинсона у лиц разного возраста

Зуев В.А., Дятлова А.С., Линькова Н.С.,
Кветной И.М., Белушкина Н.Н., Пальцев М.А. 63

Действие нетермической газовой плазмы
на пролиферативную активность
и адгезивные свойства мультипотентных
стромальных клеток к матриксам,
разработанным для тканеинженерных
конструкций

Чайлахян Р.К., Грошева А.Г., Герасимов Ю.В.,
Воробьева Н.Н., Ермолаева С.А., Сысолятина Е.В.,
Казакова М.В., Акишев Ю.С., Петряков А.В.,
Сидорук К.В., Бурдуковский В.Ф., Тимашев П.С. 69

КЛЕТОЧНЫЕ ПЛАСТЫ ИЗ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭФФЕКТИВНО СТИМУЛИРУЮТ ЗАЖИВЛЕНИЕ ГЛУБОКИХ ДЕФЕКТОВ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

Н.А.Александровская^{1,2}, Н.В.Данилова³, О.А.Григорьева¹, П.Г.Мальков³,
В.С.Попов², А.Ю.Ефименко^{1,2}, П.И.Макаревич^{1,2}

¹Институт регенеративной медицины,

²факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, РФ;

³Отдел клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра
МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, РФ

На модели шинированного дефекта кожи и мягких тканей крысы проведено сравнительное исследование применения мезенхимных стромальных клеток в виде клеточных пластов и в суспензии для лечения ран кожи и подлежащих мягких тканей. Трансплантация мезенхимных стромальных клеток значительно ускорила заживление ран по сравнению с контролем. Закрытие дефекта в группе применения клеточных пластов из мезенхимных стромальных клеток наблюдалось к 28-м суткам, в группе применения суспензии клеток — к 35-м суткам, в группе контроля — после 49-х суток эксперимента. Гистологическая оценка полученных образцов ткани показала более ранние сроки образования грануляционной ткани и быстрое начало стадии фиброза в группах применения мезенхимных стромальных клеток. Доставка мезенхимных стромальных клеток в виде клеточных пластов показала высокую эффективность в восстановлении тканей, что позволяет рассматривать этот подход в качестве перспективного метода заживления ран кожи и мягких тканей.

Ключевые слова: клеточный пласт, мезенхимные стромальные клетки, раны кожи, ранозаживление, фиброзирование

Использование клеточных продуктов и технологий для стимуляции заживления дефектов мягких тканей различного генеза остается одной из наиболее актуальных областей биомедицины. Несмотря на внушительные результаты, полученные на этапе экспериментальной разработки, многие исследователи вынуждены констатировать, что перспективы применения клеток в клинической практике зачастую оказываются намного ниже ожиданий. В последнее десятилетие значительное внимание уделялось технологии “клеточных пластов” (cell sheets), которые изначально использовали для решения проблемы низкой эффективности доставки клеток с помощью инъекций. Клеточные пласты (КП) представляют собой жизнеспособные клетки в комплексе с наработанным ими внеклеточным матриксом (ВКМ), поэтому в качестве объекта для их получения большое внимание привлекали стромальные клетки, в частности мезенхимные стромальные клетки (МСК)

из жировой ткани и других источников. Полученные нами ранее результаты указывают на высокую выживаемость клеток при имплантации КП из МСК в организм животных с ишемической патологией [2,7]. Это позволило нам предположить, что КП из МСК могут быть использованы для стимуляции ранозаживления, учитывая высокую выживаемость клеток и содержание в них значительного количества белков ВКМ.

Цель данной работы — провести сравнительное исследование эффективности доставки МСК в виде суспензии (инъекции) и КП (аппликации) для стимуляции заживления тканей на оригинальной животной модели глубокого дефекта мягких тканей у крысы.

Методика исследования

Животные. Для выделения МСК жировой ткани и моделирования глубокого шинированного дефекта кожи и мягких тканей использовали самцов крыс Вистар массой 300-400 г. Исследование одобрено этическим комитетом МГУ им. М.В.Ломоносова (протокол комиссии по биоэтике № 77-0 от 09.02.2017 г.).

Адрес для корреспонденции: n.alexandrushkina@gmail.com.
Александровская Н.А.



Выделение и характеристика МСК жировой ткани крысы. Животных ($n=3$) усыпляли летальной дозой CO_2 , полученные образцы подкожной жировой ткани измельчали в условиях ламинарного бокса и подвергали ферментативной обработке. Выделение МСК из подкожной жировой клетчатки крыс проводили по опубликованному ранее протоколу [7]. Клетки культивировали в полной среде DMEM (Gibco) с 10% ЭТС в стандартных условиях инкубатора. Анализ фенотипа осуществляли методом проточной цитофлуориметрии после мечения клеток антителами к CD34, CD44, CD45, CD90, CD105 (BD Pharmingen), конъюгированными с флуоресцентной меткой. Цитометрию выполняли с помощью проточного цитофлуориметра FACSAria (BD).

Получение и характеристика КП. Суспензию МСК 3-4 пассажа переносили на непокрытые культуральные планшеты (50 тыс. клеток/ cm^2) и культивировали в полной среде DMEM добавлением аскорбиновой кислоты (50 мкг/мл). Сборку КП осуществляли в течение 7 сут с заменой среды каждые 72 ч. КП открепляли с помощью раствора Версена по описанному протоколу [3]. Поперечные срезы КП толщиной 7-8 мкм фиксировали (4% формальдегид), пермеабилizировали (0.2% Тритон X-100) и после блокировки инкубировали в растворе первичных кроличьих поликлональных антител (Abcam) к коллагену I, фибронектину или ламинину (1:100); для детекции сигнала использовали вторичные антитела (1:800), конъюгированные с Alexa Fluor 594 (Abcam); ядра метили DAPI (Sigma).

Модель глубокой шинированной раны с дефицитом мягких тканей крысы и трансплантация клеточного материала. Животных наркотизировали внутримышечной инъекцией смеси золетила 100 и ксилазина из расчета 30 мг/кг . После удаления шерсти кожу в области холки обрабатывали раствором антисептика, иссекали кожно-фасциальный лоскут округлой формы площадью 5.5-6.0 см^2 и создавали дефект трапецевидных мышц спины. Для предотвращения контракции края раны фиксировали узловыми швами к внутреннему краю стерилизованного латексного кольца (внутренний диаметр 2.7 см). Животных перевязывали и помещали для восстановления в индивидуальные клетки. Трансплантацию клеточного материала проводили на 7-е сутки после моделирования раны. Суспензию МСК вводили в дно раневого дефекта (4 крысы) с помощью микроинъекций (1.5 млн МСК на 1 мл ФСБ, 5 микроинъекций по 200 мкл). КП открепляли непосредственно перед трансплантацией, переносили на рану и направляли с помощью пинцета (5 крыс). Контрольная группа (5 крыс) не получала специфического

лечения. Во избежание высыхания рану укрывали гидроколлоидной повязкой (Convatec), которую удаляли при следующей перевязке.

Макроскопическая и микроскопическая оценка скорости заживления кожного дефекта. Динамическую фотосъемку раневой поверхности проводили на 7, 14, 21, 28 и 35-е сутки после моделирования дефекта с использованием масштабного отрезка. Строили график зависимости уменьшения площади дефекта от времени и график Каплана—Мейера (критерием закрытия являлось уменьшение площади дефекта $<10\%$ от первоначальной). Для анализа процессов формирования зон грануляционной ткани и зоны фиброза парафиновые срезы тканей окрашивали гематоксилином и эозином или по Ван Гизону. Анализ микрофотографий в 3 случайных полях зрения проводили в программе ImageJ (NIH).

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе GraphPad Prism 7.03. Нормальность распределения проверяли с помощью теста Шапиро—Уилка. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка среднего. Проверку различий между двумя группами выполняли с помощью t критерия Стьюдента или критерия Манна—Уитни. Для сравнения 3 групп использовали метод ANOVA и критерий Тьюки. В качестве непараметрического аналога ANOVA использовали критерий Крускала—Уоллиса и критерий Дана. Значимыми считали различия при $p < 0.05$.

Результаты исследования

Характеристика МСК и КП на основе МСК. Культура клеток, выделенных из подкожной жировой клетчатки крыс, адгезировала к непокрытому пластику, характеризовалась фибробластоподобной морфологией и характерным для МСК иммунофенотипом [4]. Цитометрический анализ показал, что $>97\%$ клеток несут поверхностные маркеры CD44, CD90 и CD105 и не экспрессируют или экспрессируют в малом количестве CD34 (38%) и CD45 (0.5%). Полученные КП откреплялись от поверхности культурального пластика и сохраняли свою целостность при манипулировании (рис. 1, а). Анализ поперечных срезов КП выявил многослойную (3-5 слоев) структуру пласта толщиной до 30 мкм , содержащую основные белки ВКМ — коллаген I, фибронектин и ламинин (рис. 1, б).

Доставка МСК ускоряет заживление глубокого дефекта мягких тканей. Наблюдение за животными и анализ фотографий (рис. 2, а) показал, что аппликация КП приводила к ускорению закрытия раневого дефекта по сравнению с контролем. На 14-е сутки после операции площадь дефекта в группе КП составляла $1.9 \pm 0.7 \text{ см}^2$ по срав-

нению с $5.3 \pm 0.2 \text{ см}^2$ в группе контроля. В группе МСК в этот же срок площадь раны ($3.4 \pm 1.3 \text{ см}^2$) была меньше, чем в контроле, однако статистически значимых различий между группами не об-

наружено. После аппликации КП медиана срока закрытия раны составила 28 сут, а после инъекции суспензии МСК — 35 сут; в группе контроля — 49 сут (рис. 2, б). К 28-м суткам полное закрытие

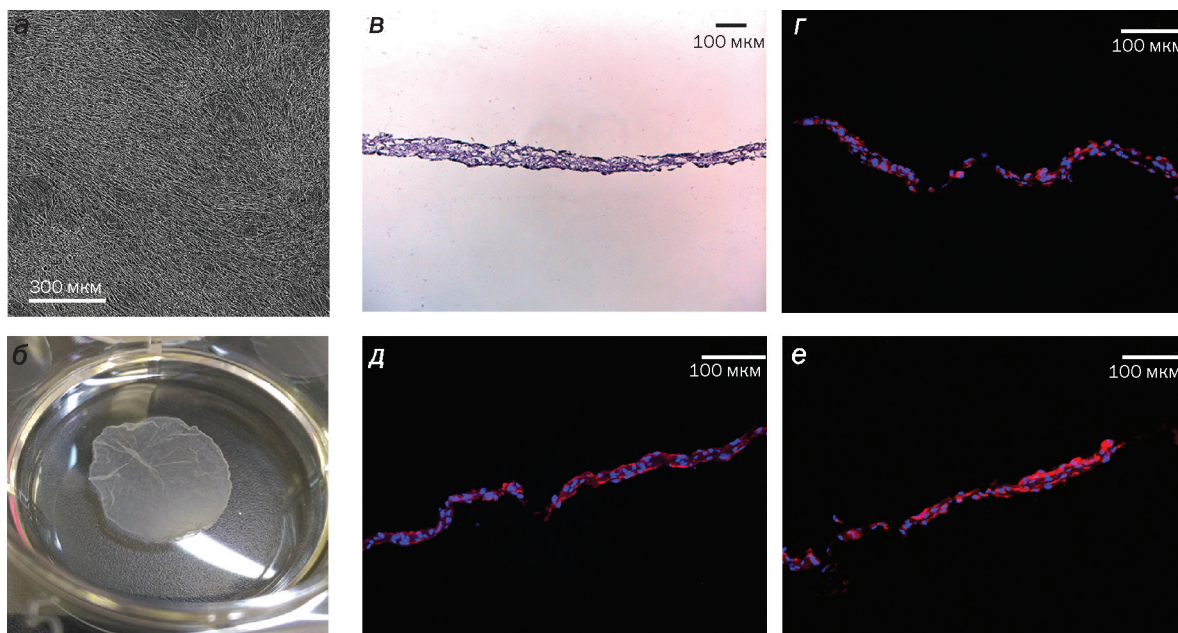


Рис. 1. КП из МСК на 7-е сутки сборки (а), после открепления от культурального пластика (б), окрашивание КП гематоксилином (в), иммунофлуоресцентное мечение белков матрикса в КП: коллаген I (г), фибронектин (д), ламинин (е). Фазовый контраст, $\times 100$ (а, в); флуоресцентная микроскопия, $\times 200$ (г-е).

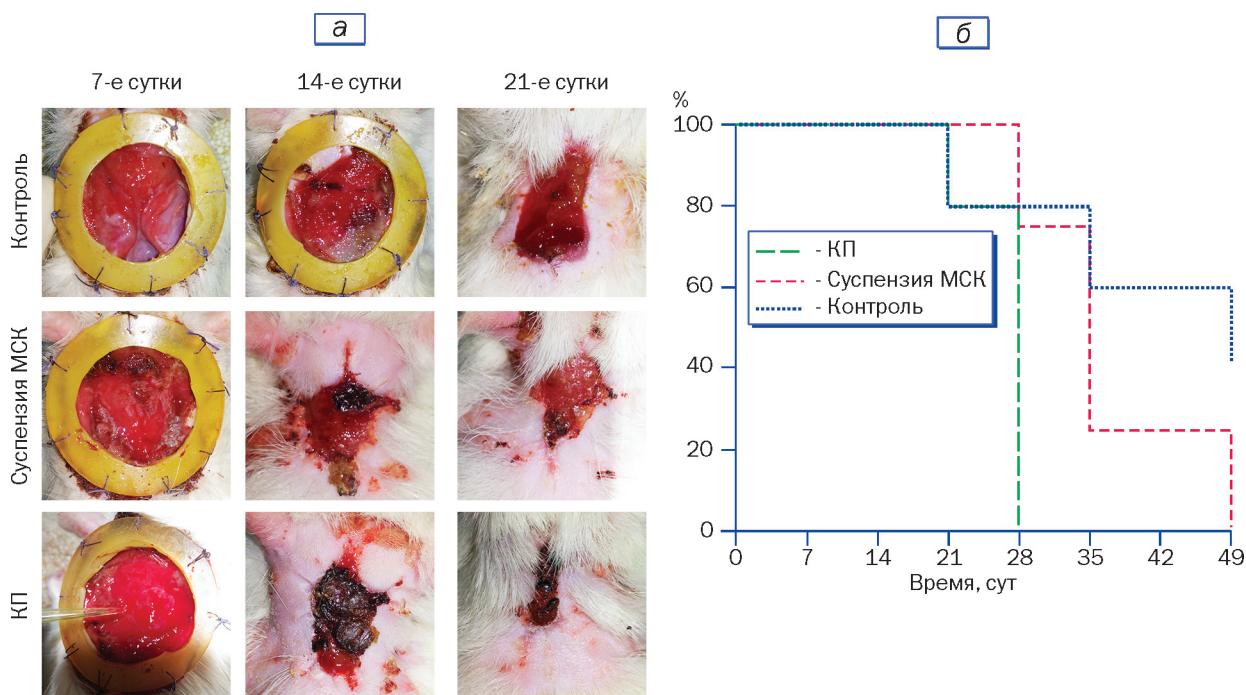


Рис. 2. Раневой дефект (а), кривая Каплана–Мейера, отражающая сроки полного закрытия кожного дефекта (б). Статистическую значимость устанавливали методами анализа выживаемости и лог-рангового критерия для сравнения кривых. $p < 0.05$ между парами групп КП и контроль, КП и суспензия МСК.



дефекта наблюдалось у 100% животных в группе КП, в то время как в группе контроля этот показатель составил всего 20%.

Гистологическая оценка процессов ранозаживления. Анализ срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, показал, что трансплантация МСК в виде суспензии или КП приводила к значимому уменьшению площади грануляционной ткани в период с 14-х по 21-е сутки, при этом в группе контроля значимого уменьшения обнаружить не удалось (рис. 3, а). Хотя значимые межгрупповые различия не были выявлены, в группах МСК явно прослеживалась тенденция к ускорению процесса созревания грануляционной ткани по сравнению с контролем. Кроме того, морфометрия срезов, окрашенных по Ван Гизону, показала, что площадь коллагеновых депозитов в период с 14-х по 21-е сутки эксперимента увеличивалась в группах МСК, причем наибольший прирост наблюдался после имплантации КП (рис. 3, б).

Применение клеточных технологий при утрате или дисфункции органов и тканей основывается на предположении, что ускорение заживления и эффективного восстановления структуры и функции ткани можно добиться, восполнив пул определенных клеток. При этом доставка клеток в суспензии требует этапа обработки ферментами, прохождения через иглу и введения клеток в неблагоприятное воспалительное окружение, что

значимо (на 30-60%) снижает их количество и эффективность терапии [1]; кроме того, массивная гибель клеток неблагоприятно влияет на клетки, сохраняющие жизнеспособность. Это поставило вопрос об альтернативных способах доставки, что привело к появлению носителей химического и/или биологического происхождения, обеспечивающих интеграцию введенных клеток в состав ткани и способствующих более эффективному восстановлению ее структуры. В фундаментальном плане этот подход основывается на том, что в ткани клетка существует в контексте окружения, состоящего из других клеток, растворимых факторов и ВКМ, выполняющего опорную, коммуникативную и сигнальную функцию.

Следует отметить, что при заживлении кожных ран исход определяется процессом отложения ВКМ, продуцируемого стромальными клетками (в основном фибробластами и миофибробластами кожи). Стромальные клетки (в том числе МСК) обеспечивают контракцию раны, продукцию белков соединительной ткани и в конечном счете формирование рубца. Известно, что регенеративный потенциал МСК заключается в высокой паракринной активности и способности к стимуляции роста сосудов и нервов [6]. Кроме того, МСК в большом количестве продуцируют белки ВКМ. При длительном культивировании это приводит к формированию КП — многослойных комплексов,

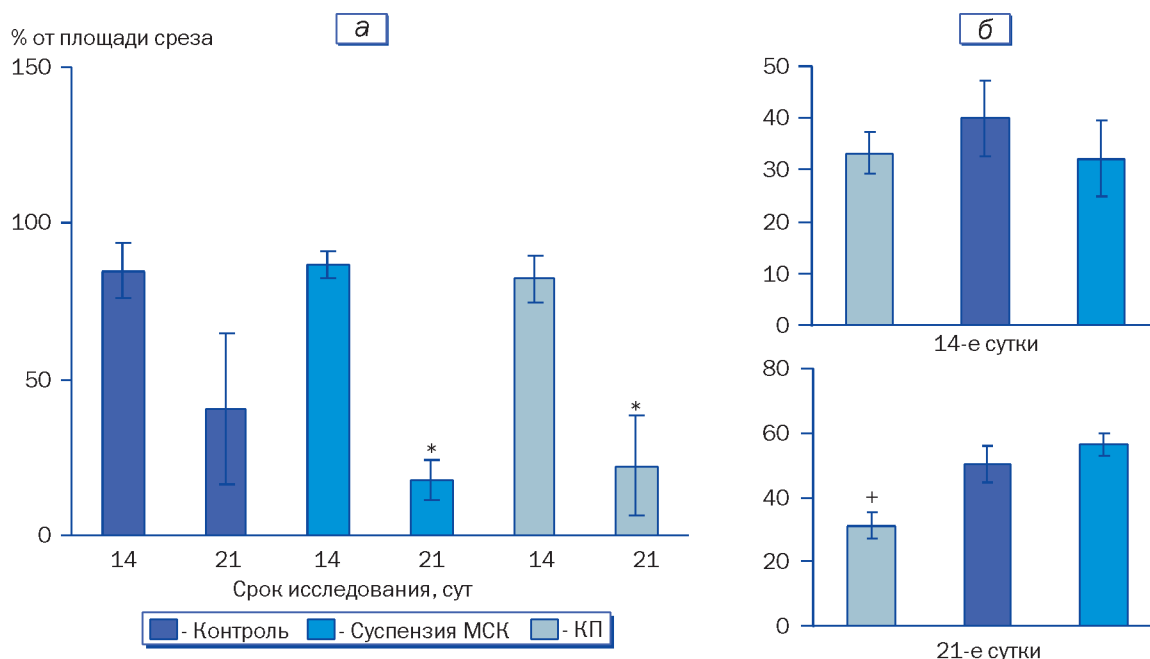


Рис. 3. Относительная площадь грануляционной ткани (а) и относительная площадь коллагеновых депозитов (б) на 14-е и 21-е сутки после операции.

* $p < 0.05$ по сравнению с соответствующим значением на 14-е сутки, * $p < 0.05$ по сравнению с суспензией МСК и контролем.



состоящих из клеток и наработанного ими ВКМ. КП представляют собой легко получаемую конструкцию, находящуюся “на стыке” клеточной терапии и тканевой инженерии. Учитывая нативность матрикса КП, который МСК продуцируют “сами для себя”, а также интактность клеток, поверхностных рецепторов и межклеточных контактов при трансплантации без ферментативной обработки, они могут составить конкуренцию многим существующим методам регенеративной медицины.

В данной работе мы использовали МСК из доступного источника — подкожной жировой клетчатки, которые по своим свойствам и иммунофенотипу отвечали консенсусному определению МСК [4]. Культивирование МСК в течение 7 сут в высокой плотности давало им возможность наработать достаточное количество матрикса и сформировать плотный манипулируемый КП, а добавление аскорбиновой кислоты в культуру позволило получить КП с большим количеством ВКМ, что совпадает с данными о положительном действии витамина С на продукцию и сшивку белков ВКМ (в частности, коллагенов) [8].

При гистологическом исследовании мы показали, что КП являются многослойными конструкциями толщиной до 30 мкм, несущими в своем составе основные белки ВКМ — коллаген I, ламинин и фибронектин. Наличие мажорных белков ВКМ в составе КП может говорить о том, что МСК в культуре пытаются воссоздать физиологичное микроокружение, которое является необходимым элементом правильного функционирования клеток в ткани. Наличие ВКМ в составе КП обеспечивает структурную целостность конструкции и поддерживает жизнеспособность и активность клеток [5].

Эффективность КП в заживлении раны кожи и мягких тканей была исследована нами на модели шинированного дефекта кожи и подлежащих мягких тканей у крысы, которая имитирует плохо заживающий, глубокий дефект, затрагивающий не только кожу, но и подлежащие мышцы дорсальной поверхности тела. Мы наблюдали выраженное ускорение закрытия тяжелого раневого дефекта в группе КП (на 1 нед раньше группы МСК и на 2 нед раньше контроля) и ярко выраженную контракцию раны в первые дни после трансплантации КП. Следует также отметить, что только в группе контроля в конечной точке (49-е сутки) были животные с незажившим дефектом. Столь значительный эффект КП объясняется не только увеличением количества МСК, но и доставкой нативного ВКМ с заякоренными в нем факторами роста и цитокинами. Несомненно, сам по себе матрикс может обладать сильнейшим регенеративным потенциалом, лежащим в основе использования децеллюляризованных тканей, однако

это не умаляет наличия жизнеспособных и паракринно активных МСК в составе конструкции. Трансплантированные в составе КП клетки сохраняются в ткани реципиента [7], отвечая на окружающие стимулы и продуцируя факторы, способствующие ускорению заживления.

По данным морфометрии процесс ранозаживления в опытных группах был значительно ускорен: площадь грануляционной ткани в группах суспензии МСК и КП в 1-ю неделю заметно снижалась по сравнению с контролем, в то время как площадь фиброза увеличивалась, отражая начальные стадии формирования рубца. При этом качественно процесс заживления раны в группах суспензии МСК и КП не отличался от контроля, и основные стадии ранозаживления последовательно сменяли друг друга в исследованных временных точках. Данные, полученные при анализе количества коллагеновых депозитов в биоптатах раны, коррелируют с результатами оценки площади грануляционной ткани. Показатели в группах МСК (как КП, так и суспензии) превышали значения в контроле, и наибольшая площадь, занятая коллагеновыми волокнами, наблюдалась в группе КП как на 14-е, так и на 21-е сутки. Таким образом, введение МСК вызывало быстрый переход от стадии грануляции к формированию депозитов коллагена и фиброзированию, причем в группе КП это было особенно выражено, возможно, за счет присутствия белков ВКМ, служащих “опорой” для миофибробластов и других клеток, участвующих в заживлении. Однако остается под вопросом, происходит ли это за счет активации (мио)фибробластов, их миграции и контракции раны с быстрым замещением грануляционной ткани соединительной, или действие МСК в большей степени направлено на ранние стадии раневого процесса за счет противовоспалительного действия и стимуляции ангиогенеза. Второй механизм может вызывать снижение воспалительного ответа с быстрым формированием грануляционной ткани и ростом сосудов, что также будет приводить к быстрому переходу в стадию фиброзирования. Скорее всего, оказываемые эффекты МСК реализуются не только за счет прямого действия на компоненты системы, но и в регуляции их взаимодействия между собой.

Таким образом, на модели шинированного дефекта кожи и подлежащих мягких тканей крысы нами показана высокая эффективность применения минимальных тканеинженерных конструкций (КП) на основе МСК подкожной жировой клетчатки по сравнению с использованием диспергированных клеток и естественным заживлением. Положительное влияние трансплантированных КП заключалось в выраженной контракции



раневого дефекта, что приводило к быстрому закрытию и рубцеванию ран. В то же время на уровне ткани сохранялась стадийность раневого процесса (гемостаз, воспаление, пролиферация и миграция, ремоделирование), но с ускоренным созреванием грануляционной ткани и ее замещением соединительной тканью. Клеточные пласты из МСК способны стимулировать процессы заживления глубоких ран кожи и дефектов подлежащих тканей, а их применение может считаться перспективным для регенеративной медицины. Клеточные и молекулярные механизмы, лежащие в основе эффекта КП, станут предметом наших дальнейших исследований.

Авторы выражают благодарность д-ру М.А.Щедрина (Медицинский научно-образовательный центр МГУ им. М.В.Ломоносова) за помощь при отработке экспериментальной модели, использованной в исследовании, а также Р.Ю.Еремичеву (лаборатория генно-клеточной терапии Института регенеративной медицины) за помощь в подготовке статьи и анализе результатов.

Работа выполнена при поддержке программы "Научные основы создания национального банка-депозитария живых систем" (соглашение РНФ № 14-50-00029) и РФФИ (грант № 17-04-01452; опыты на животных).

Литература

1. Aguado B.A., Mulyasmita W., Su J., Lampe K.J., Heilshorn S.C. Improving viability of stem cells during syringe needle flow through the design of hydrogel cell carriers // *Tissue Eng. Part A*. 2012. Vol. 18, N 7-8. P. 806-815.
2. Dergilev K., Tsokolaeva Z., Makarevich P., Beloglazova I., Zubkova E., Boldyreva M., Ratner E., Dyikanov D., Menshikov M., Ovchinnikov A., Ageev F., Parfyonova Y. c-Kit cardiac progenitor cell based cell sheet improves vascularization and attenuates cardiac remodeling following myocardial infarction in rats // *Biomed. Res. Int.* 2018. Vol. 2018. ID 3536854. doi: 10.1155/2018/3536854.
3. Dergilev K.V., Makarevich P.I., Tsokolaeva Z.I., Boldyreva M.A., Beloglazova I.B., Zubkova E.S., Menshikov M.Y., Parfyonova Y.V. Comparison of cardiac stem cell sheets detached by Versene solution and from thermoresponsive dishes reveals similar properties of constructs // *Tissue Cell*. 2017. Vol. 49, N 1. P. 64-71.
4. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D.J., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy*. 2006. Vol. 8, N 4. P. 315-317.
5. Hamdi H., Furuta A., Bellamy V., Bel A., Puymirat E., Peyrard S., Agbulut O., Menasché P. Cell delivery: intramyocardial injections or epicardial deposition? A head-to-head comparison // *Ann. Thorac. Surg.* 2009. Vol. 87, N 4. P. 1196-1203.
6. Kalinina N., Kharlampieva D., Loguinova M., Butenko I., Pobeguts O., Efimenko A., Ageeva L., Sharonov G., Ischenko D., Alekseev D., Grigorieva O., Sysoeva V., Rubina K., Lazarev V., Govorun V. Characterization of secretomes provides evidence for adipose-derived mesenchymal stromal cells subtypes // *Stem Cell Res. Ther.* 2015. Vol. 6. ID 221. doi: 10.1186/s13287-015-0209-8.
7. Makarevich P.I., Boldyreva M.A., Gluhanyuk E.V., Efimenko A.Y., Dergilev K.V., Shevchenko E.K., Sharonov G.V., Gallinger J.O., Rodina P.A., Sarkisyan S.S., Hu Y.C., Parfyonova Y.V. Enhanced angiogenesis in ischemic skeletal muscle after transplantation of cell sheets from baculovirus-transduced adipose-derived stromal cells expressing VEGF165 // *Stem Cell Res. Ther.* 2015. Vol. 6. ID 204. doi: 10.1186/s13287-015-0199-6.
8. Wei F., Qu C., Song T., Ding G., Fan Z., Liu D., Liu Y., Zhang C., Shi S., Wang S. Vitamin C treatment promotes mesenchymal stem cell sheet formation and tissue regeneration by elevating telomerase activity // *J. Cell. Physiol.* 2012. Vol. 227, N 9. P. 3216-3224.

Получено 23.11.18