

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.35-001.28-08-06:616-018-0
© Коллектив авторов, 2018

Ж.И. Терюшкова¹, В.С. Васильев², А.В. Важенин²,
С.А. Васильев², Г.П. Димов², П.Н. Попков², А.А. Стасюк²
**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОМАТЕРИАЛА ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ,
ИСПОЛЬЗУЕМОГО В ЛЕЧЕНИИ ПОСТЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ
ПРЯМОЙ КИШКИ**

¹МБУЗ «Городская клиническая больница № 8», г. Челябинск
²ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Челябинск

Повреждающее действие ионизирующего излучения не ограничивается воздействием на опухоль, а влияет и на здоровые ткани и органы, находящиеся в зоне облучения, что приводит к лучевым реакциям и поздним повреждениям. Жировая ткань рассматривается как альтернатива костному мозгу для получения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК). Присутствием ММСК в жировой ткани объясняется ее высокий регенераторный потенциал, что дает основание для использования липотрансплантата и клеточных продуктов на основе жировой ткани в регенеративной медицине.

Цель исследования – изучить морфологическую и иммунофенотипическую характеристику выделяемой стромально-васкулярной фракции (СВФ) жировой ткани, а также оценить ее пролиферативный потенциал. Выделение СВФ проводили посредством ферментативной обработки жировой ткани. Результаты исследования подтвердили наличие в липоаспирате, полученном путем аспирационной липосакции, жизнеспособных ММСК. Таким образом, клеточные продукты на основе жировой ткани являются перспективным материалом для дальнейшего исследования и внедрения в клиническую практику.

Ключевые слова: поздние лучевые повреждения, постлучевой влагалищно-прямокишечный свищ, жировая ткань, стромальные клетки жировой ткани, мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки.

Z.I. Teryushkova, V.S. Vasilyev, A.V. Vazhenin,
S.A. Vasilyev, G.P. Dimov, P.N. Popkov, A.A. Stasyuk
**THE STUDY OF ADIPOSE-DERIVED BIOMATERIAL USED
IN THE TREATMENT OF POST-RADIATION RECTAL LESIONS**

Ionizing radiation affects not only a tumor but also normal tissues and organs, which are inside the exposure area, and leads to late adverse effects of radiotherapy. Adipose tissue is considered to be an alternative to bone marrow as a source of multipotent mesenchymal stem cells (MMSCs). High regenerative potential of fatty tissue is due to presence of MMSCs in it, hence it is reasonable to use different products based on lipoaspirate in regenerative medicine.

The goal of this study is to analyze morphologic and immunophenotypic profile as well as proliferative potential of adipose-derived stromal vascular fraction (SVF). For SVF isolation enzymatic digestions was used. The results of the study proved the presence of vital MMSCs in lipoaspirate, obtained by aspirate liposuction. Thus, cell products based on adipose tissue is a promising material for future investigations and implementation into clinical practice.

Key words: late adverse effects of radiotherapy, radiation-induced rectovaginal fistula, adipose tissue, adipose-derived stromal cells, multipotent mesenchymal stem cells.

Лучевой терапии (ЛТ) принадлежит одно из ведущих мест среди методов лечения онкологических больных. Для лечения 40-80% больных используется ЛТ как в самостоятельном варианте, так и в комбинации с другими методами лечения. Основным принципом ЛТ больных злокачественными новообразованиями женских половых органов является подведение высоких опухолецидных доз к очагам поражения для полного уничтожения всех опухолевых клеток. При таком лечении интенсивному воздействию неизбежно подвергаются большие объемы нормальных тканей. К сожалению, повреждающее действие ионизирующего излучения часто не ограничивается воздействием на опухоль, а влияет и на здоровые ткани и органы, находящиеся в зоне облучения и приводит к лучевым реакциям и поздним осложнениям [2]

Большие перспективы в отношении лечения больных с постлучевыми повреждения-

ми прямой кишки обусловлены клеточными технологиями, позволяющими использовать живые клетки в качестве терапевтических средств, замещающих дефектные органы и ткани. Для этой цели была исследована возможность использования в качестве биологически активных компонентов стромальных клеток (СК) из жировой ткани, обладающих уникальными свойствами дифференцироваться в различные типы клеток и способствовать регенерации пораженных органов и тканей [4].

Жировая ткань рассматривается как одна из альтернатив костному мозгу для получения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) и последующего их применения в терапевтических целях. Подкожная жировая клетчатка как и костный мозг является производным мезенхимы и содержит строму, которая может быть легко изолирована. К тому же процедура взятия жировой ткани является

значительно менее травматичной и переносится пациентами значительно легче, чем пункция костного мозга. Жировая ткань, являясь относительно легко доступной в большом количестве, особенно привлекательна как источник ММСК для клинического использования [8,23].

Большинство исследователей для выделения ММСК из жировой ткани используют методику, предложенную Р. Zuk [23], которая заключается в измельчении ткани, обработке ее коллагеназой, нескольких последовательных центрифугированиях и адгезии получен-

ного клеточного осадка на пластике. Получаемые при выделении из жира клетки называются мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками-предшественниками, выделенными из липоасpirата или жировой ткани.

В настоящее время в регенеративной медицине все большую популярность приобретают минимально манипулированные клеточные продукты. К таким продуктам относится стромально-васкулярная фракция (СВФ) жировой ткани [17] (рис. 1).

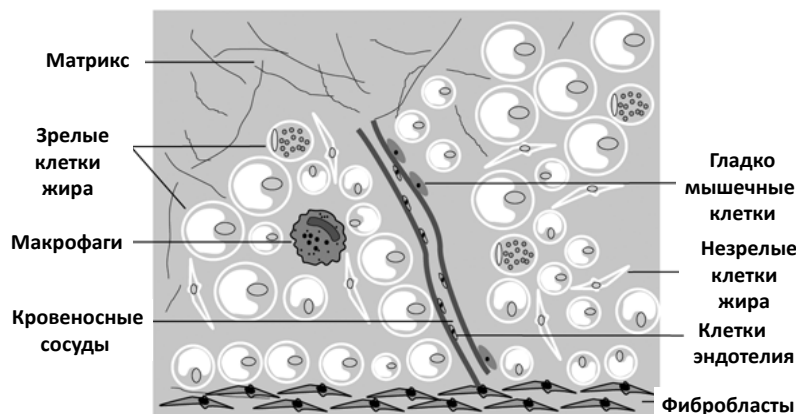


Рис. 1. Клеточные компоненты жировой ткани [17]

Жировая ткань состоит из зрелых адипоцитов, преадипоцитов, матрикса жировой ткани и стромально-васкулярной фракции. Макрофаги могут составлять от 10 до 50% всех клеток жировой ткани. Стромальные (мезенхимальные) клетки жировой ткани содержат высокий процент мультипотентных клеток, способных дифференцироваться *in vitro* в адипоциты, хондроциты, остеобласты, миоциты, нейральные клетки, кардиомиоциты, эндотелиальные клетки и гепатоциты [23]. Известны работы по изучению их терапевтического потенциала в регенеративной медицине: для повышения приживления и выживаемости полнослойных кожных трансплантатов [1]; для терапии фиброза печени [5], стриктур уретры [7], трофических язв ног [3], коррекции дефектов мягких тканей [6] и др.

Проведенные в последние годы исследования подтверждают точку зрения о том, что жировая ткань является самым эффективным источником ММСК с точки зрения биоэтической пригодности, доступности получения материала, степени пролиферативной активности, направленной дифференцировки, совместимости с биологическими носителями, перспективности использования в области клеточных технологий, а также тестирования средств медицинского назначения.

Как уже было отмечено, ММСК из жировой ткани могут дифференцироваться в

адипоциты, остеобласты, хондроциты и миоциты [20,21,23]. Таким образом, ММСК могут оказывать существенное влияние на репаративные процессы в зоне трансплантации: осуществлять неоангиогенез за счет дифференцировки в эндотелиальные клетки, активировать эндотелиальные прогениторные клетки и продуцировать проангиогенные факторы [14]. ММСК обладают значительной секреторной активностью и продуцируют широкий спектр проангиогенных факторов и факторов роста/цитокинов, таких как FGF, HGF, VEGF, TGF β , GM-CSF, SDF-1, IL-6, -8, -17, NGF, TIMP-1 и TIMP2, ангиогенин, ангиопоэтин1, плацентарный фактор роста [13], осуществляют регенерацию адипоцитов за счет своей антиапоптотической активности и дифференцировки в адипоциты, экспрессируют mRNA антиапоптотического фактора ICF, который также известен и как митоген, стимулирующий адипогенез в аутографте, влияют на модуляцию местных воспалительных реакций и заживление ран [22].

Результаты проведенных исследований продемонстрировали возможность получения СВФ из жировой ткани и ММСК из СВФ. Материал, полученный с помощью липосакции, содержит достаточное количество живых клеток для получения ММСК. Выход ММСК из липоасpirата составляет от 1 до 4×10^5 клеток/мл с уровнем их выживания и прикрепле-

ния не менее 50%. Проблему с малого содержания ММСК в липоаспирате можно решить за счет наращивания этих клеток *in vitro*.

Цель исследования – изучить морфологическую и иммунофенотипическую характеристику выделяемой СВФ жировой ткани, а также оценить ее пролиферативный потенциал.

Материал и методы

Получение жировой ткани в количестве 100-150 г проводили на передней брюшной стенке в операционной в стерильных условиях под местной инфильтрационной анестезией 0,01% раствором лидокаина. Отобранный материал переносился в специальный транспортный контейнер с транспортным термостатом при температуре 37°C.

Выделение СВФ производилось в стерильных условиях с использованием ламинарного бокса и соответствующего расходного стерильного материала. Липоаспират переносили серологической пипеткой на 25 мл в стерильную пробирку на 50 мл (примерно 1/3 от объема пробирки) и добавляли раствор фосфатно-солевого буфера D-PBS (Панэко, Россия) с антибиотиками (пенициллин – стрептомицин; Панэко, Россия) и антимикотиком (амфотерицинВ; Панэко, Россия) до 50 мл. После встряхивания (промыывания липоаспирата в буфере) содержимое пробирки делили на 2 части, при этом на дне пробирки оставался буфер с эритроцитами, а в верхней части – липоаспират. После отбора со дна пробирки буфера с эритроцитами в пробирке остается чистый липоаспират. Процедуру промывания повторяли дважды. Далее в пробирку с липоаспиратом серологической пипеткой на 25мл добавляли 0,15% раствор коллагеназы 2-го типа (Панэко, Россия). Пробирку закрывали крышкой и помещали в термостат на 30 минут при 37 °С, периодически встряхивая 1 раз в 5-10мин. Через 30 минут проводили инактивацию коллагеназы с помощью среды DMEM (Панэко, Россия) в соотношении 1:1. Полученную суспензию клеток и частиц жировой ткани пропускали через клеточный фильтр с диаметром пор 100 мкм. Пробирку с полученной клеточной суспензией помещали в центрифугу и центрифугировали 5-7 минут при ускорении 300 g. Супернатант сливали при помощи пипетки на 25 мл. К полученному клеточному осадку пипеткой на 10 мл добавляли 30 мл среды DMEM и ресуспендировали. Производили отбор аликвот среды с клетками и подсчет количества ядро-содержащих клеток в гемоцитометре. Пробирку с клеточной суспензией вновь центрифугировали в течение 5-7 минут при ускоре-

нии 300 g. Супернатант сливали и клеточный осадок ресуспендировали в 10 мл полной среды (если в дальнейшем планировали культивирование) или в 10 мл D-PBS (если планировали применение СВФ).

После подсчета в камере Горяева полученные клетки помещали с плотностью (10^5 клеток/см²) в пластиковые чашки Петри. Культивирование проводили в среде DMEM с 10% FBS (Панэко, Россия), 2мМ глутамина (Панэко, Россия), 1% пенициллина и стрептомицина. Культивировали клетки в стандартных условиях при 37 °С и 5% CO₂. Через 24 часа среду заменяли на свежую, прикрепившиеся клетки оставляли на дорастивание, в дальнейшем среду меняли каждые 3-4 дня. Визуально оценивали морфологию на инвертированном микроскопе ЛабoМед (Россия), культуры фотографировали.

Анализ образцов жировой суспензии проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США) с использованием конъюгатов антител (США): CD14+-FITC, CD34+-FITC, CD44+-FITC, CD45+-FITC, CD49b+-PE, CD54+-FITC, CD105+-PE, CD117+-PE-Cy5.5, CD144+-PE, CDHLA-DR+-PE-Cy5.5. Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования панелей для одноцветных и многоцветных цитофлуориметрических исследований. Обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ NaviosSoftwarev.1.2 (BeckmanCoulter, США).

Результаты и обсуждение

Как известно, СВФ гетерогенна и представлена клетками крови, фибробластами, перицитами, эндотелиальными клетками и предипоцитами. Жировая ткань образуется из мезодермального зародышевого листка. Подкожная жировая клетчатка человека представляет собой одну из разновидностей жировой ткани – белую жировую ткань. Белая жировая ткань занимает в среднем 15% от всего объема тела у мужчин и 22% у женщин и является метаболическим хранилищем высокоэнергетических субстратов в форме триглицеридов, холестерина и жирорастворимых витаминов. Кроме того, это эндокринный орган, секретирующий различные адипокины (адипонектин, лептин, резистин), которые оказывают системное физиологическое и патофизиологическое действия на организм человека [11]. Белая жировая ткань представляет собой скопления жировых клеток, разделенных тяжами стромы, в которой присутствуют клетки, ретикулиновые волокна, мелкие кровеносные и лимфатиче-

ские сосуды. Зрелые белые жировые клетки (адипоциты) – это полигональные клетки, всю центральную часть которых занимает одна крупная жировая капля, оттесняя цитоплазму и ядро на периферию (рис. 2). Адипоциты являются практически не размножающимися терминально дифференцированными клетками, обновление клеток в жировой ткани происходит в течение 615 месяцев.

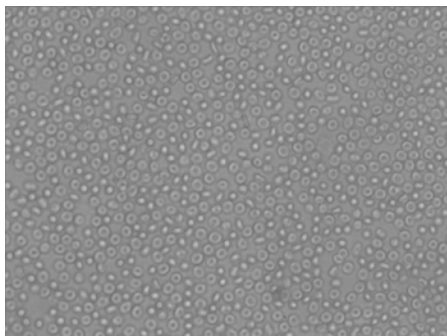
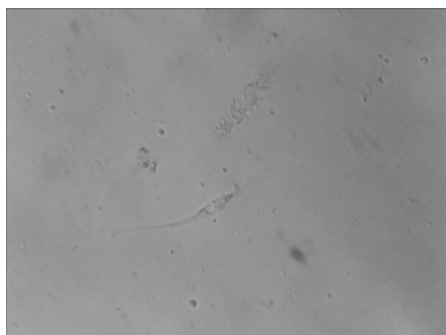


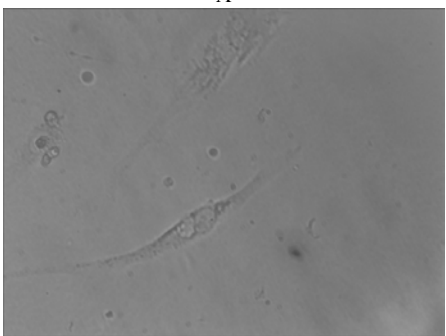
Рис. 2. Адипоциты (×40)

Стволовые клетки СВФ способны с высокой эффективностью прикрепляться к культуральному пластику, не покрытому белками внеклеточного матрикса. Процент свежесывлеленных адгезированных стволовых клеток зависит от доли эндотелиальных клеток и лейкоцитов, обладающих более низкой эффективностью прикрепления.

После культивирования СВФ в течение суток и удаления неадгезированных клеток в поле зрения появляются клетки с фибробластоподобной морфологией (рис. 3).



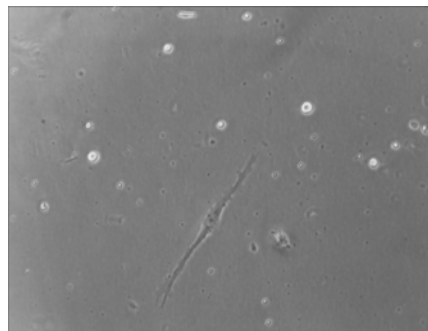
А



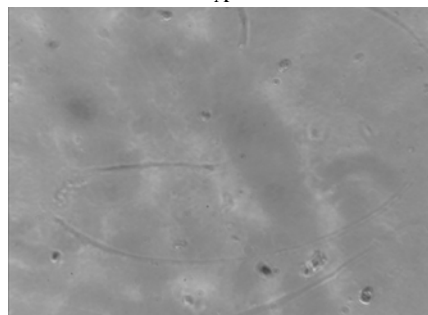
Б

Рис. 3. Адгезированные клетки СВФ через сутки культивирования: А – ×20; Б – ×40

Через трое суток культивирования (рис. 4) появляются различные по своей морфологии фибробластоподобные клетки.



А



Б

Рис. 4. Адгезированные фибробластоподобные клетки через трое суток культивирования: А – ×40; Б – ×20

Через трое суток культивирования адгезированные клетки начинают пролиферировать.

Через 6-7 дней пролиферирующие клетки начинают формировать небольшие кластеры (рис. 5), а через две недели инкубации начинают образовывать колонии и конфлюэнтный монослой (рис. 6).



Рис. 5. Адгезированные клетки на 6-е сутки культивирования (×40)

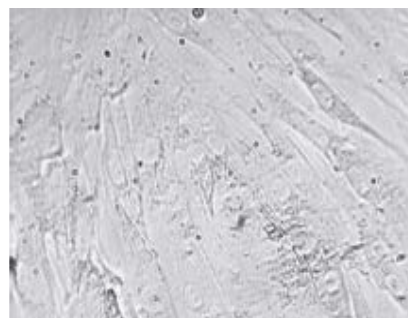


Рис. 6. Адгезированные клетки через 15 суток культивирования (×40)

Таким образом, на ранних сроках культивирования ядродержащие клетки из стромально-васкулярной фракции жировой ткани доноров достаточно гетерогенны, а в последующем за счет удаления не прикрепившихся к пластику клеток становятся гомогенными и приобретают веретенообразную форму, характерную для клеток мезенхимальной принадлежности.

Визуальный микроскопический анализ морфологии стромальных клеток показывает, что на ранних пассажах преобладают мелкие клетки, а поздние пассажи культуры представлены гомогенной популяцией одноядерных фибробластоподобных веретеновидных клеток иногда с небольшим количеством отростков (рис. 7). Наряду с фибробластоподобными клетками наблюдались также прикрепившиеся к культуральному пластику клетки крови, предположительно моноцитарно-макрофагального ряда.

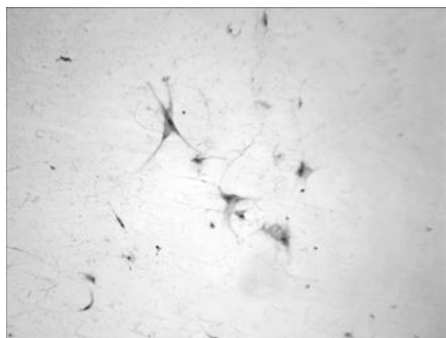


Рис. 7. Фибробластоподобные клетки с небольшим количеством отростков ($\times 40$)

Как известно, в первые 3 – 5 дней после посева размножение ММСК практически отсутствует (лаг-фаза) и наблюдаются единичные фибробластоподобные клетки, затем наступает фаза быстрого экспоненциального роста, появляются симметричные колонии клеток веретеновидной форм, после чего культура входит в стационарную фазу [10].

В стандартной среде, не содержащей индукторов дифференцировки, ММСК формируют слой адгезивных клеток с морфологией фибробластов. При низкой плотности посева они образуют клональные колонии (рис. 8). Известно, что даже в пределах одной культуры у разных клонов способность к экспансии сильно отличается, т.е. клетки гетерогенны по своим пролиферативным свойствам [9]. Популяция ММСК в культуре отличается высокой степенью морфологической гетерогенности. Она содержит узкие вытянутые клетки веретеновидной формы (рис. 4), и крупные и широкие распластанные клетки (рис. 5), а также округлые клетки небольшого размера с высо-

ким ядерно-плазменным отношением (рис. 9). По мнению ряда исследователей подобные различия в морфологии отражают неодинаковую степень зрелости клеток: крупные и широкие клетки являются более зрелыми, вступающими на путь дифференцировки, тогда как округлые и веретеновидные представляют собой молодые (предшественники) ММСК [16].

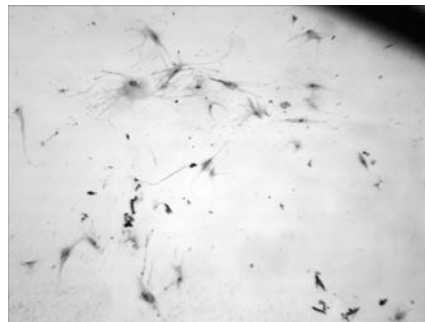


Рис. 8. Образование колоний ММСК на 6-е сутки культивирования ($\times 40$)



Рис. 9. ММСК с высоким ядерно-плазменным отношением на 6-е сутки культивирования ($\times 40$)

Проведенный анализ популяции свежeweделенных клеток жировой ткани с помощью проточного цитофлуориметра показал ее гетерогенность и высокое содержанием клеток, экспрессирующих маркер гемопоэтических стволовых клеток $CD34^+$. По мере культивирования наблюдалось обогащение популяции клетками, несущими маркеры мезенхимальных клеток, что соответствует литературным данным. Так, Е.В. Парфенова и др.[8] показали, что более 70% свежeweделенных стволовых клеток жировой ткани негативны по антигенам лейкоцитов ($CD45^+$) и эндотелиальных клеток ($CD144^+$), но экспрессируют $CD34^+$, характерный для гемопоэтических стволовых клеток, субпопуляций сосудистых эндотелиальных клеток и их предшественников. Кратковременное (18-24 часа) предкультивирование клеток на непокромтом пластике ведет к значительному снижению концентрации клеток моноцитарно-лейкоцитарной фракции ($CD14^-$ и $CD45^+$) и эндотелиальных клеток, но увеличивает содержание клеток, экспрессирующих $CD34$ (до 95%). Продолжи-

тельное культивирование клеток ведет к постепенному обогащению культуры ММСК (до 98%). Такая смена популяций клеток свидетельствует о возможности процессов обновления жировой ткани в течение жизни организма и восполнения ее после соответствующих потерь за счет функционирующих стволовых/прогениторных клеток. Предполагается, что стволовые клетки жировой ткани находятся в периваскулярной зоне мелких сосудов стромы жировой ткани и могут дифференцироваться по многим направлениям [23], что указывает на большое их сходство с мезенхимными стволовыми клетками костного мозга. Сравнительный анализ, проведенный различными исследователями, показал, что МСК из костного мозга и СВФ жировой ткани не отличаются по морфологии, иммунному фенотипу, способности к дифференциации. В то же время клеточный материал из жировой ткани более доступен для выделения и использования в клинике.

Заключение

Проведенное исследование подтвердило наличие в липоаспирате, полученном путем аспирационной липосакции, жизнеспособных ММСК. Присутствием ММСК в жировой ткани, возможно, объясняется ее высокий регенераторный потенциал, что дает основание для использования липотрансплантата и клеточных продуктов на основе жировой ткани в регенеративной медицине. Относительная простота и широкая распространенность хирургической процедуры по получению подкожной жировой клетчатки, несложная методика энзиматического выделения ММСК из жировой ткани позволяют получить эти клетки в достаточном для клинического использования количестве.

Дальнейшие исследования использования СВФ и/или ММСК из жировой ткани при терапии ряда заболеваний, традиционное лечение которых недостаточно эффективно, являются актуальными.

Сведения об авторах статьи:

Терюшкова Жанна Ивановна – к.м.н., главный колопроктолог МЗ ЧО, зав. отделением колопроктологии МБУЗ ГКБ № 8. Адрес: 454000, г. Челябинск, ул. Горького, 28. Тел./факс: 8(351)772-88-33. E-mail: danil-porov97@mail.ru.

Васильев Вячеслав Сергеевич – к.м.н., ассистент кафедры пластической хирургии и косметологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. Адрес: 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 15/В. Тел./факс: 8(351)237-89-22. E-mail: b_b_c_@mail.ru.

Важенин Андрей Владимирович – д.м.н., профессор, академик РАН, гл. врач Челябинского областного клинического центра онкологии и ядерной медицины, зав. кафедрой онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. Адрес: 454087, г. Челябинск, ул. Блюхера, 42. E-mail: vav222@mail.ru.

Васильев Сергей Александрович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой пластической хирургии и косметологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. Адрес: 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 15/В. E-mail: vsergeia@yahoo.com.

Димов Георгий Павлович – к.м.н., научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. Адрес: 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64. Тел./факс: 8(351)232-74-74. E-mail: inlab.chelsma@gmail.com.

Попков Павел Николаевич – ст. преподаватель кафедры биологической химии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. Адрес: 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64. E-mail: kanzo@inbox.ru.

Стасюк Андрей Алексеевич – врач-травматолог МБУЗ «Городская клиническая поликлиника №8». Адрес: 454007, г. Челябинск, Проспект Ленина, 3. Тел./факс: 8(351)729-80-41. E-mail: nosferatu21.11@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Повышение приживления и выживаемости полнослойных кожных трансплантатов с помощью стромально-васкулярной фракции жировой ткани / А.В. Аксененко [и др.] // VI Ежегодный международный симпозиум «Актуальные вопросы генных и клеточных технологий»: тез. докл. – М., 2013. – С. 6-7.
2. Важенин, А.В. Радиационная онкология, организация, тактика, пути развития / А.В. Важенин. – М.: Изд-во РАМН, 2003. – 236 с.
3. О клеточных технологиях лечения трофических язв ног с использованием мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани / И.Б. Василевич [и др.] // 2-й Национальный конгресс по регенеративной медицине: материалы конгр. – М., 2015. – С. 240.
4. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани как альтернативный источник клеточного материала для регенеративной медицины / А.В. Веремеев [и др.] // Гены и клетки. – 2016. – Т. 11, №1. – С. 35-42.
5. Разработка экспериментальной модели терапии фиброза печени с помощью стромально-васкулярной фракции жировой ткани / П.С. Еремин [и др.] // VI Ежегодный международный симпозиум «Актуальные вопросы генных и клеточных технологий»: тез. докл. – М., 2013. – С. 22-23.
6. Зорина, А.И. Применение аутологичного жира, обогащенного стромально-васкулярной клеточной фракцией, для коррекции дефектов мягких тканей (краткий обзор исследований) / А.И. Зорина, В.Л. Зорин // Вестн. эстетической медицины. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 60-68.
7. Инновационный малоинвазивный способ лечения стриктур уретры с помощью регенеративных клеток жировой ткани / К.В. Котенко [и др.] // VI Ежегодный международный симпозиум «Актуальные вопросы генных и клеточных технологий»: тез. докл. – М., 2013. – С. 35-36.
8. Парфенова, Е.В. Стромальные клетки жировой ткани: молекулярная характеристика, ангиогенные свойства и перспективы использования для терапии сердечно-сосудистых заболеваний / Е.В. Парфенова, Д.О. Трактеув, В.А. Ткачук // Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М.А. Пальцева. – М.: Медицина, 2009. – Т. 2. – С. 4-35.
9. Паюшина, О.В. Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки: характеристика, потенции к дифференцировке и перспективы клинического использования / О.В. Паюшина, В.Н. Старостин, Н.Г. Хрущов // Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М.А. Пальцева. – М.: Медицина, 2009. – Т. 2. – С. 100-123.
10. Романов, Ю.А. Мезенхимальные стволовые клетки: биология и перспективы клинического применения / Ю.А. Романов, В.Н. Смирнов // Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М.А. Пальцева. – М.: Медицина, 2009. – Т. 1. – С. 193-205.
11. Терских, В.В. Биологические особенности и терапевтический потенциал стромальных клеток жировой ткани. Обзор / В.В. Терских, Е.В. Киселёва // Пластическая хирургия и косметология. – 2010. – № 4. – С. 613-621.
12. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells / A.J. Katz [et al.] // Stem Cells. – 2005. – Vol.3. – P. 412-423.

13. Autologous adipose stromal cells seeded on a human collagen matrix for dermal regeneration in chronic wounds: clinical proof of concept / A. Lafosse [et al.] // *Plast Reconstr Surg.* – 2015. – Vol.136, №2. – P. 279-295.
14. Fibroblast growth factor-2 and vascular endothelial growth factor mediated augmentation of angiogenesis and bone formation in vascularized bone allotransplants / M. Larsen [et al.] // *Microsurgery.* – 2014. – Vol. 34, № 4. – P. 301-307.
15. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure / B. Parekkadan [et al.] // *PLoS One.* – 2007. – Vol.2, №9. – P. e941.
16. Prockop, D.J. Isolation and characterization of rapidly self-renewing stem cells from cultures of human marrow stromal cells / D.J. Prockop, I. Sekiya, D.C. Colter // *Cytherapy.* – 2001. – Vol.3. – P. 393-396.
17. Ryabinin, V.E. Problems and Prospects of Creation of Extracorporeal Systems for Support of the Functional State of the Liver / V.E. Ryabinin // *Biochemistry (Moscow) Supplement series B: Biomedical Chemistry.* – 2015. – Vol.9, №1. – P. 30-44.
18. Functional characterization of human mesenchymal stem cell-derived adipocytes / M. Rydén [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2003. – Vol.2. – P. 391-397.
19. Schäffler, A. Mechanisms of Disease: adipocytokines and visceral adipose tissue-emerging role in intestinal and mesenteric diseases / A. Schäffler, J. Schölmerich, C. Büchler // *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology.* – 2005. – № 2. – P. 103-111.
20. The enhanced performance of bone allografts using osteogenic-differentiated adipose-derived mesenchymal stem cells / T. Schubert [et al.] // *Biomaterials.* – 2011. – Vol.32, №34. – P. 8880-8891.
21. Reversal of mouse hepatic failure using an implanted liver-assist device containing ES cell-derived hepatocytes / A. Soto-Gutiérrez [et al.] // *Nat Biotechnol.* – 2006. – Vol.24, №11. – P. 1412-1419.
22. The effects of insulin-like growth factor-1 gene therapy and cell transplantation on rat acute wound model / F. Talebpour Amiri [et al.] // *Iran Red Crescent Med J.* – 2014. – Vol.16, №10. – P. e16323.
23. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells / P.A. Zuk [et al.] // *Molecular biology of the cell.* – 2002. – Vol.13. – P. 4279-4295.

REFERENCES

1. Aksenenko A.V., Eremin I.I., Eremin P.S. et al. Increasing engraftment and survival of full-thickness skin grafts with use of stromal-vascular fraction derived from adipose tissue. *Kletchnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya.* 2013; 8 (3): 6-7. (In Russ).
2. Vazhenin A.V. Radiatsionnaya onkologiya, organizatsiya, taktika, puti razvitiya (Radiation Oncology, organization, tactics, ways of development). Moscow, RAMN, 2003, 236 p. (In Russ).
4. Vasilevich I.B., Baranov E.V., Pinchuk S.V. et al. O kletochnykh tekhnologiyakh lecheniya troficheskikh yazv nog s ispol'zovaniem mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok zhirovoi tkani (About cellular technologies of treatment of trophic ulcers of feet with use of mesenchymal stem cells of adipose tissue). 2-i Natsional'nyi Kongress po regenerativnoi meditsine : materialy kongr. Moscow, 2015, p. 240. (In Russ).
5. Veremeev A.V., Bolgarin R.N., Petkova M.A., Katz N., Nesterenko V.G. Adipose-derived stromal vascular fraction as an alternative source of cells for the regenerative medicine. *Genes and cells*, 2016, vol. 11, №1, p. 35-42. (In Russ)
6. Eremin P.S. et al. Razrabotka eksperimental'noy modeli terapii fibroza pecheni s pomoshh'yu stromal'no-vaskulyarnoy fraktsii zhirovoj tkani (Development of an experimental model of liver fibrosis therapy using stromal-vascular fraction of adipose tissue) VI Ezhegodnyy mezhdunarodnyy simpozium «Aktual'nye voprosy gennykh i kletochnykh tekhnologiy» : tez. dokl. Moscow, 2013, p. 22-23. (In Russ)
7. Zorina A.I., Zorin V.L. Application of autologic fat enriched with stromal-vascular cell fraction for soft tissues defects correction (short review of the researches). *Vestnik ehsteticheskoy meditsiny*, 2012, vol. 11, № 4, p. 60-68. (In Russ)
8. Kotenko K.V. et al. Innovatsionnyy maloinvazivnyy sposob lecheniya striktur uretry s pomoshh'yu regenerativnykh kletok zhirovoj tkani (Innovative minimally invasive method of treatment of urethral strictures with regenerative cells of adipose tissue). VI Ezhegodnyy mezhdunarodnyy simpozium «Aktual'nye voprosy gennykh i kletochnykh tekhnologiy» : tez. dokl. – M., 2013. – S. 35-36. (In Russ)
9. Parfenova E.V., Traktuev D.O., Tkachuk V.A. Stromal'nye kletki zhirovoj tkani: molekulyarnaya kharakteristika, angiogennye svoystva i perspektivy ispol'zovaniya dlya terapii serdechno-sosudistykh zabolevaniy (stromal cells of adipose tissue: molecular characteristics, angiogenic properties and prospects of use for the treatment of cardiovascular diseases). *Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii.* Moscow, Meditsina, 2009, vol. 2, p. 4-35. (In Russ)
10. Payushina O.V., Starostin V.N., Khrushchov N.G. Mul'tipotentnye mezenkhimnye stromal'nye kletki : kharakteristika, potentsii k differentsirovke i perspektivy klinicheskogo ispol'zovaniya (Multipotent mesenchymal stromal cells: characteristics, potencies to differentiation and prospects of clinical use). *Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii.* Moscow, Meditsina, 2009, vol. 2, p. 100-123. (In Russ)
11. Romanov YU.A., Smirnov V.N. Mezenkhimal'nye stvolovye kletki: biologiya i perspektivy klinicheskogo primeneniya. *Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii.* Moscow, Meditsina, 2009, vol. 1, p. 193-205. (In Russ)
12. Startseva O.I., Melnikov D.V., Zakharenko A.S., Kirillova K.A., Ivanov S.I., Pischikova E.D., Dashtoyan G.E. Mesenchymal stem cells of adipose tissue: a modern view, the relevance and prospects of application in plastic surgery. *Issled. prakt. med. (Research'n Practical Medicine Journal)*. 2016; 3(3): 68-75. DOI: 10.17709/2409-2231-2016-3-3-7 (In Russ)
13. Katz A.J. et al. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells. *Stem Cells*, 2005, Vol.3, P. 412-423. (In Eng)
14. Lafosse A. et al. Autologous adipose stromal cells seeded on a human collagen matrix for dermal regeneration in chronic wounds: clinical proof of concept. *Plast Reconstr Surg.*, 2015, Vol.136, №2, P. 279-295. (In Eng)
15. Larsen M. et al. Fibroblast growth factor-2 and vascular endothelial growth factor mediated augmentation of angiogenesis and bone formation in vascularized bone allotransplants. *Microsurgery.* 2014, Vol. 34, № 4, P. 301-307. (In Eng)
16. Parekkadan B. et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One.* 2007, Vol.2, №9, P. e941. (In Eng)
17. Prockop, D.J., Sekiya I., Colter D.C. Isolation and characterization of rapidly self-renewing stem cells from cultures of human marrow stromal cells. *Cytherapy*, 2001, Vol.3, P. 393-396. (In Eng)
18. Ryabinin, V.E. Problems and Prospects of Creation of Extracorporeal Systems for Support of the Functional State of the Liver. *Biochemistry (Moscow) Supplement series B: Biomedical Chemistry*, 2015, Vol.9, №1, P. 30-44. (In Eng)
19. Rydén M. et al. Functional characterization of human mesenchymal stem cell-derived adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003, Vol.2, P. 391-397. (In Eng)
20. Schäffler, A. Schölmerich J., Büchler C. Mechanisms of Disease: adipocytokines and visceral adipose tissue-emerging role in intestinal and mesenteric diseases. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology.* 2005, № 2, P. 103-111. (In Eng)
21. Schubert T. et al. The enhanced performance of bone allografts using osteogenic-differentiated adipose-derived mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, 2011, Vol.32, №34, P. 8880-8891. (In Eng)
22. Soto-Gutiérrez A. et al. Reversal of mouse hepatic failure using an implanted liver-assist device containing ES cell-derived hepatocytes. *Nat Biotechnol.* 2006, Vol.24, №11, P. 1412-1419. (In Eng)
23. Talebpour Amiri F. et al. The effects of insulin-like growth factor-1 gene therapy and cell transplantation on rat acute wound model. *Iran Red Crescent Med J.*, 2014, Vol.16, №10, P. e16323. (In Eng)
24. Zuk P.A. et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular biology of the cell*, 2002, Vol.13, P. 4279-4295. (In Eng)