

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОЖИ ПРИ ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ

Алейник Д.Я.¹, Зорин В.Л.^{2,3}, Еремин И.И.³, Корсаков И.Н.³, Чарыкова И.Н.¹

¹ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (603155, Нижний Новгород, ул. Верхневолжская наб., 18/1), e-mail: info@nniito.ru,

²ОАО «Институт стволовых клеток человека», г. Москва (119333, Москва, ул. Губкина д.3, стр.2, а/я 373), e-mail: zorin@hsci.ru,

³ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (123182, Москва, ул. Живописная, д. 46), e-mail: fmbc-fmba@bk.ru

Одной из сложнейших и социально значимых проблем хирургии остается лечение ожоговых ран и их последствий. Прогресс последних десятилетий в этой области связан в значительной степени с технологиями регенеративной медицины, в частности, основанных на использовании культивированных клеток. В настоящее время многие технологии регенеративной медицины, предназначенные для восстановления дефектов кожи, апробированы в клинике и коммерциализированы. Однако, несмотря на достигнутые успехи, результаты применения клеточной терапии при ожоговой болезни, особенно при обширных и глубоких ожогах, остаются не всегда удовлетворительными. Поэтому внимание исследователей по-прежнему обращено к теме разработки и изучения свойств различных заменителей и «живых эквивалентов» кожи, поиску и изучению новых доступных источников клеточного материала. В настоящем обзоре рассматриваются методы клеточной терапии, используемые для восстановления дефектов кожи, существующие «эквиваленты кожи», принципы их применения, достоинства и недостатки.

Ключевые слова: ожоги, кератиноциты, фибробласты, эквиваленты кожи, клеточная терапия.

USE OF CELL TECHNOLOGIES FOR SKIN DAMAGE RECOVERY IN BURN INJURIES

Aleynik D.Y.¹, Zorin V. L.^{2,3}, Eremin I.I.³, Korsakov I.N.³, Charykova I.N.¹

¹Federal State Budgetary Institution «Privolzhsky Federal Research Medical Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: info@nniito.ru,

²Human Stem Cells Institute (P.O. box 373, Bld. 2, 3 Gubkina Str., Moscow 119333, Russia), e-mail: zorin@hsci.ru,

³State Research Center - Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency (123182, Moskva, Zhivopisnaya Str., d. 46), e-mail: fmbc-fmba@bk.ru

Therapy of burn injuries and their after-effects remains one of the hardest and socially important tasks in surgery. The progress of last decades in this sphere is largely related to regenerative medicine technologies, in particular, those based on the use of cultured cells. At present, many technologies of regenerative medicine meant for skin defect recovery have been clinically tested and commercialized. However, despite achieved success, the results of cell therapy in treating burn disease, particularly, in case of vast and deep burns, are not always satisfactory. Therefore, researches are still focused on developing and studying properties of various skin substitutes and "live equivalents", searching for and studying new obtainable sources of cell material. This survey investigates cell therapy methods used for skin defect recovery, existing "skin equivalents", principles of their use, advantages and disadvantages.

Keywords: burns, keratinocytes, fibroblasts, skin equivalents, cell therapy.

Ожоги занимают третье место среди травм мирного времени и составляют до 8 % от их общего количества [2, 17]. В год от ожогов в России страдает более 400 тысяч человек – 294 случая на 10 тысяч населения [4]. При этом число пострадавших в промышленных странах постоянно растет в связи с увеличением числа техногенных катастроф, террористических актов и стихийных бедствий. Лечение обожженных является сложным и высоко затратным процессом, а летальность остается на неприемлемо высоком уровне,

достигая у взрослых пациентов 8,6 % [1]. Высокая распространенность и неудовлетворительные результаты лечения тяжелых ожогов определяют актуальность проблемы поиска новых способов их лечения.

Основные подходы к местному лечению ожоговых ран

Современная тактика хирургического лечения ожогов включает в себя полное иссечение некротизированных тканей с последующим ранним закрытием кожного дефекта аутологичным кожным лоскутом или другими материалами. Аутологичный кожный лоскут является наилучшим материалом для закрытия кожной раны, однако доступность донорской кожи может быть ограничена, например, при обширных поражениях. В таких случаях кожная рана может быть временно закрыта алло- или ксенографтом, которые, как правило, отторгаются в течение 1 недели. Алло- и ксенографты служат барьером между кожной раной и внешней средой, предохраняя рану от механических воздействий, снижая болевые ощущения, препятствуя инфицированию раны, а также потере тепла, жидкости и белка с ее поверхности [39]. Кроме того, аллогграфты, предположительно, выделяют ростовые факторы, положительно влияющие на течение раневого процесса [6].

Кожа была первой тканью, успешно конструированной в лаборатории, тканеинженерные заменители кожи широко используются в современной комбустиологии. Первыми были разработаны тканевые покрытия из коллагена и гликозаминогликанов, имеющие пористую структуру, которая делает возможными их васкуляризацию и проникновение в них клеток хозяина. Кроме того, подобные тканевые покрытия предотвращают сокращение раны, обуславливающее формирование деформирующего рубца. При использовании тканевых покрытий – аналогов дермы – сохраняется необходимость использования кожного аутографта для эпителизации раны. В настоящее время применяется широкий спектр бесклеточных аналогов дермы, как созданных искусственно (Integra®), так и полученных из алло- (Alloderm®, Glyaderm®) или ксенодермы (Permacol®, Strattice® и Xenoderm®) [28, 34].

Клеточные технологии местного лечения ожогов

Первым клеточным продуктом, используемым для покрытия кожных ран, стал культивированный эпителиальный аутографт (Epicell), получение которого стало возможным после разработки методики культивирования эпидермальных кератиноцитов [25, 31]. Продукт состоит из нескольких (2–8) слоев эпидермиса, что обусловило его хрупкость и сложность в использовании [26, 33]. Кроме того, продукт, как показал опыт его применения, имеет высокую склонность к инфицированию [29]. Результаты клинического использования данного препарата также оказались скорее разочаровывающими [22, 33], что, в сочетании с высокой стоимостью и длительным временем, необходимым для его процессинга,

ограничивает область применения препарата временным закрытием кожного дефекта у больных с обширными ожогами [40].

Для лечения ожоговых поражений кожи были разработаны и успешно применены способы, предполагающие использование аллогенных фибробластов, как в качестве самостоятельного средства, так и в сочетании с аутодермопластикой [11]. На основе применения данной технологии успешно пролечены тысячи пациентов в различных ожоговых центрах нашей страны [3,5,7,16,19]. Основным преимуществом указанной технологии является возможность ее раннего использования (практически с первых дней травмы), возможность создания банков охарактеризованных клеток, невысокая стоимость при высокой эффективности. В качестве источника клеток используют неонатальные фибробласты, постнатальные фибробласты крайней плоти, выделенные из биоптатов кожи, полученных при косметических операциях или операциях аутодермопластики. Также перспективным и доступным источником фибробластов служат ткани десны [12, 36]. Основным недостатком методов, основанных на применении культур фибробластов, является невозможность их эффективного самостоятельного применения при глубоких и обширных поражениях – только совместно с аутологичными трансплантатами или эпидермальными пластами.

Разработаны и внедрены в клиническую практику «эквиваленты кожи» – тканеинженерные конструкции, сочетающие резорбируемое пористое основание биологического или искусственного происхождения и культивированные алло- и/или аутологичные клеточные элементы. Условно эквиваленты кожи можно разделить на дермальные, эпидермальные и смешанного типа, в зависимости от типа клеток, которые в этих продуктах используются [40].

Основные коммерческие продукты, выпускаемые в настоящее время

(no Shahriar Shahrokhii et al. 2014 [32], дополнено авторами)

Название продукта	Производитель	Краткая характеристика продукта	Показания
Dermagraft®	Advanced Biohealin, LaJolla, CA, USA	Аллогенные фибробласты человека из крайней плоти новорожденных, выращенные на сетчатой подложке из полиглактина (викрила). Толщина 0,19 mm	Ожоговые и длительно незаживающие раны
OrCel®	Forticell Bioscience, Inc., USA	Двухслойный матрикс из бычьего коллагена I типа на пористом матриксе; в пористом слое - аллогенные дермальные фибробласты из крайней плоти новорожденных, на непористом слое - эпидермальные кератиноциты. Толщина 1 mm	Ожоговые раны
Transcyte®	Advanced Tissue	Эквивалент, состоящий из силиконовой	Ожоговые

(Dermagraft-TC®)	Sciences, Inc. La Jolla, California, USA	мембраны, дермальных фибробластов из крайней плотности новорожденных и свиного коллагена	раны
Apligraf®	Organogenesis, Canton, MA, USA	Двухслойный эквивалент кожи, состоящий из дермального (аллогенные фибробласты крайней плотности новорожденных на коллагеновом гелевом матриксе) и эпидермального (кератиноциты, выращенные на дермальном слое) слоев. Толщина 0.4 – 0.75 mm	Ожоговые и длительно незаживающие раны
ReCell®	Avita Medical, UK	Девайс. Технология забора, процессинга и применения аутологичных клеток непосредственно по месту оказания врачебной помощи	Неглубокие ожоговые раны
Tiscover®	A-SKIN B.V., Amsterdam, Netherlands	Децеллюляризированная дерма человека с аутологичными фибробластами кожи. Толщина 1-2мм	Длительно незаживающие раны
HYALOMAT RIX®/ HYALOGRAF FT3D®	Fidia Advanced Biopolymers, Padua, Italy	Двухслойный эквивалент из гиалуроновой кислоты, силиконовой мембраны и аутологичных фибробластов. Толщина 1,2 мм	Ожоговые и длительно незаживающие раны
Epicel®	Genzyme Biosurgery, Cambridge, MA, USA	Многослойный пласт (2-8 слоев) аутологичных кератиноцитов	Глубокие ожоговые раны
MySkin™ CryoSkin™	Altrika, UK	Пласт аутологичных кератиноцитов на силиконовой подложке Замороженный пласт аллогенных кератиноцитов на силиконовой подложке	Ожоговые и длительно незаживающие раны

В дермальных эквивалентах в качестве клеточного компонента тканеинженерной конструкции представлены аллогенные фибробласты. Примером такого продукта является «Dermograft®» компании Advanced Biohalin (США), в котором использованы фибробласты крайней плотности новорожденных, обладающие высоким пролиферативным потенциалом, на биodeградируемом сетчатом скаффолде из викрила. Несмотря на то, что продукт является аллогенным и, следовательно, отторгается, результаты клинического применения свидетельствуют о его способности восстанавливать дерму и стимулировать миграцию кератиноцитов [6, 23].

Отечественными исследователями Института Цитологии РАН разработан дермальный эквивалент на основе коллагена, нанесенного на полилактидную матрицу и аллогенных фибробластов, который успешно апробирован при лечении трофических язв и ожоговых ран в клиниках Санкт-Петербурга [14,15].

Эпидермальные эквиваленты представляют собой композиты, состоящие из пласта культивированных кератиноцитов на подложках различного состава и структуры. В частности, к этой группе эквивалентов относятся такие коммерческие продукты, как

MySkin™ и CryoSkin™ (Altrika, Великобритания), состоящие из слоя аутологичных кератиноцитов на гибкой силиконовой мембране. В 2011 году оба препарата были успешно апробированы у пациентов с ожоговыми поражениями в ведущих ожоговых центрах Великобритании [38]. Однако эпидермальные эквиваленты характеризуются рядом существенных недостатков – длительным временем процессинга клеточной составляющей (не менее трех недель), высокой себестоимостью и особо тщательной подготовкой раневого ложа (что делает их достаточно неудобными в практическом применении). Кроме того, данные клеточные продукты успешно используются только при сохраненном дермальном слое или при сочетанном применении с дермальными эквивалентами.

В этой связи в настоящее время наиболее активно разрабатываются дермо-эпидермальные эквиваленты, содержащие клетки как эпидермиса, так и дермы. Одним из самых успешных представителей этой группы является коммерческий продукт Apligraf® (Organogenesis, США), представляющий собой биodeградируемую матрицу на основе бычьего коллагена I типа с аллогенными неонатальными фибробластами и аллогенными кератиноцитами. Показана эффективность данного продукта в лечении трофических язв нижних конечностей [24].

Описанные клеточные продукты достаточно широко используются для лечения трофических язв, длительно незаживающих ран и ограниченных ожогов (таблица 1). Однако данные препараты, несмотря на такое достоинство как значительное уменьшение числа перевязок при их использовании, не могут рассматриваться как замена аутологичному кожному лоскуту, их применение при глубоких ожогах целесообразно только в качестве средства для временного укрытия раны. Кроме того, практически все «живые эквиваленты» кожи отличает высокая стоимость, что делает данные продукты малодоступными для широкого применения.

Одним из направлений в разработке клеточных технологий для лечения кожных ран в настоящее время является использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК). ММСК могут быть выделены из различных источников, включая костный мозг, жировую ткань, пуповинную кровь и т.д. Одним из важнейших преимуществ ММСК является их малая иммуногенность, что позволяет использовать аллогенные ММСК без риска развития реакций отторжения [6]. Показана способность ММСК синтезировать коллаген, ростовые и ангиогенные факторы (некоторые из которых в существенно больших количествах, чем фибробласты), в ряде исследований продемонстрирована способность данных клеток ускорять заживление кожных ран различной этиологии [10,20,21,27,30,37,41]. Представленные данные свидетельствуют, что ММСК представляют собой перспективный клеточный материал для использования в препаратах, предназначенных для лечения кожных

ран, и, вне всякого сомнения, заслуживают дальнейшего изучения.

Перспективным направлением терапии кожных ран представляется также использование свежевыделенных клеточных продуктов. Примером может служить технология «ReCell» (Avita Medical, UK). Данная технология подразумевает ферментативную обработку аутологичного биоптата кожи с получением кератиноцитов, меланоцитов, фибробластов и клеток Лангерганса. Технология используется преимущественно для лечения неглубоких ожогов, при этом показан клинический эффект, сравнимый с пластикой расщепленным аутолоскутом [18,19]. В сочетании с дермальными эквивалентами «ReCell» может применяться и при более глубоких поражениях кожи [35]. Данная технология зарегистрирована для медицинского применения на территории Российской Федерации, проведена ее клиническая апробация в ряде ожоговых центров страны. По опыту отечественных врачей среди недостатков «ReCell» следует выделить высокую стоимость, увеличение времени нахождения пациента под наркозом и небольшие по площади и глубине ожоговые поражения, на которых данная технология эффективна. В этой связи заслуживает внимания технология лечения ожогов, разработанная сотрудниками Нижегородского ожогового центра (ФГБУ «ФПМИЦ» Минздрава России) [9]. В основе технологии лежит использование аутологичного материала пациента (лоскут кожи 1 см^2 , из которого можно получить клеточный препарат, достаточный для закрытия ожоговых дефектов площадью не менее 400 см^2) и фибринового клея, обеспечивающего надежную фиксацию клеточной суспензии [8,9]. Технология успешно апробирована в Нижегородском ожоговом центре у пациентов с ожогами 2-й и 3-й степени после ранней некрэктомии на площади $200\text{--}800\text{ см}^2$. По сравнению с технологией «ReCell» данная технология менее затратна, позволяет минимизировать время пребывания пациента под наркозом, дает возможность использовать ее в самые ранние сроки после травмы, а клеточного продукта достаточно для закрытия больших ожоговых дефектов.

Заключение

Разработке клеточных продуктов, предназначенных для лечения ожоговых и длительно незаживающих ран, во всем мире уделяется большое внимание, поскольку доказана существенная роль данных продуктов в восстановлении целостности кожи. К настоящему времени достигнуты определенные успехи – разработан и коммерциализирован целый ряд кожных эквивалентов, которые нашли широкое применение в мировой практике. Однако главная задача – создание тканеинженерной конструкции, способной полностью заменить аутологичный кожный лоскут – по-прежнему остается нерешенной, что требует продолжения интенсивных научных и практических изысканий, направленных, в том числе, на поиск наиболее эффективных клеточных популяций и оптимальных для них скаффолдов.

Список литературы

1. Алексеев А.А., Тюрников Ю.И. Анализ основных статистических показателей работы Российских ожоговых стационаров за 2009–2012 годы // IV съезд комбустиологов России: сб. науч. тр. – М., 2013. – С. 5-8.
2. Алексеев А.А., Шаповалов С.Г. Принципы оказания медицинской помощи пострадавшим от ожоговой травмы в чрезвычайных ситуациях // IV съезд комбустиологов России: сб. науч. тр. – М., 2013. – С. 9-11.
3. Аллофибробласты в лечении глубоких ожогов у детей / Г.Д. Саигдалин, П.В. Салистый, О.В. Панова, Д.А. Гриценко, Н.П. Глинских, А.А. Бахаров // Междунар. конгр. «Комбустиология на рубеже веков», 9–12 окт. 2000 г. – М., 2000. – С. 166.
4. Афоничев К.А. Профилактика и лечение рубцовых последствий ожогов у детей: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2010. – 40 с.
5. Будкевич Л.И. Современные методы хирургического лечения детей с тяжелой термической травмой: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1998. – 34 с.
6. Дermalные фибробласты для лечения дефектов кожи/ В.Л. Зорин, А.И. Зорина, О.С.Петракова, В.Р. Черкасов // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. – Т. 4, № 4. – С. 26-40.
7. Использование культивированных фибробластов при лечении ожоговых ран / В.П. Туманов, Е.В. Глущенко., С.С. Морозов, Д.С. Саркисов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1990. – Т. 109, № 4. – С. 400-402.
8. Использование фибринового клея для укрытия микрохирургических аутотрансплантатов свободной расщепленной кожей / Н. О. Миланов, Р.Т. Адамян, А.Б. Шехтер, А.Л. Истратов, Ю.Ш. Эюбов // Хирургия. – 2004. – № 12. – С. 4-9.
9. Карякин Н.Н., Докукина Л.Н., Алейник Д.Я., Аминев В.А., Квицинская Н.А., Соколов Р.А. Способ лечения глубоких ожогов на ранних этапах // Патент России № 2499603. 2013 Бюл. № 33..
10. Клеточные технологии в лечении радиационных ожогов: опыт ФМБЦ им. А.И. Бурназяна /К.В. Котенко, И.И. Еремин, Б.Б. Мороз, А.Ю. Бушманов, Н.М. Надежина, И.А. Галстян, О.С. Гринаковская, А.В. Аксиненко, Ю.Б. Дешевой, В.Г. Лебедев, Т.С. Свободина, Ю.А. Жгутов, С.Е. Лаук-Дубицкий, П.С. Еремин // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2012. – Т.7, № 2. – С. 97-102.
11. Лечение ожогов с использованием культивированных клеток кожи человека / Д.С. Саркисов, А.А. Алексеев, В.П. Туманов, Е.В. Глущенко, С.С. Морозов, А.А. Пальцын // Хирургия. – 1993. – №. 3. – С. 22-27.

12. Оптимизация условий для получения и ведения культур фибробластов кожи и десны человека / В.Л.Зорин., П.Б.Копнин, А.И. Зорина., И.И. Еремин, Н.Л. Лазарева, Т.С. Чаузова, Д.П., Самчук, А.П. Петрикина, П.С. Еремин, И.Н. Корсаков, О.С. Гринаковская, Е.В. Соловьева, К.В. Котенко, А.А. Пулин / *Гены& Клетки*. – 2014. – Т. 9, № 2. – С. 53-60.
13. Опыт получения и использования аллофибробластов при лечении ожоговых ран у детей./ Д.Я. Алейник, С.В. Смирнов, В.А. Жегалов, И.Н. Чарыкова // *Травматология и ортопедия России*. – 1996. – № 1. – С.19-22.
14. Опыт применения дермального эквивалента в лечении ожогов 3 степени / К.М. Крылов, Д.А. Козулин, А.В. Панов, М.И. Блинова // *III съезд комбустиологов России: сб. тез.* – М., 2010. – С. 174.
15. Применение дермальных фибробластов человека в комплексном лечении трофических язв венозной этиологии / В.В. Гриценко, М.И. Блинова, Г.П. Пинаев, В.В. Сабельникова, А.И. Прокопец, А.Ж. Мельцова, Е.К. Шулепова, Н.М. Юдинцев // *Амбулаторная хирургия*. – 2005. – № 3. – С. 34-36.
16. Применение культивированных клеток для закрытия дефектов кожи / Н.М. Кузнецов, О.Н. Мазка, Л.Н. Шанина Н.В. Белянский, С.А., Степанов, Г.С. Якунин, А.Н. Лукин, В.И. Пискунов, Л.П. Потемина // *Новые методы лечения ожогов с использованием культивированных клеток кожи: материалы II Междунар. симп.* – Саратов, 1998. – С. 20-23.
17. Эпидемиология ожогов и состояние помощи пострадавшим в России / В.В. Азолов, М.М. Попова, В.А. Жегалов, Т.М. Андреева // *Нижегород. мед. журн.* – 2004. – Прил. «Комбустиология». – С. 27-29.
18. A comparative study of spray keratinocytes and autologous meshed split-thickness skin graft in the treatment of acute burn injuries / R. Sood, D.E. Roggy, M.J. Zieger, M. Nazim, B.C. Hartman, J.T. Gibbs // *Wounds*. – 2015. – Vol. 27, N 2. – P. 31-40.
19. A randomized trial comparing ReCell system of epidermal cells delivery versus classic skin grafts for the treatment of deep partial thickness burns / G. Gravante, M.C. Di Fede, A. Araco, M. Grimaldi, B. De Angelis, A. Arpino, V. Cervelli, A. Montone // *Burns*. – 2007. – Vol. 33, N 8. – P. 966- 972.
20. Autologous bone marrow-derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds./ V. Falanga , S. Ivamoto, M. Chartier, T. Yufit, J. Butmare, N. Koultab, D. Shroyer, P. Carson// *Tissue Eng.* – 2007. – Vol. 13, N 6. – P. 1299–1312.
21. Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with one marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial /D. Lu, B. Chen, Z. Liang, W. Deng, Y.Jang, S. Li, J. Xu, Q.Wu, Z. Zhang, B.Xie,

- S. Chen // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2011. – Vol. 92, N. 1. – P. 26-36.
22. Cost-efficacy of cultured epidermal autografts in massive pediatric burns / J.P. Barret , S.E. Wolf, M.H. Desai, D.N. Herndon D.N.// *Ann. Surg.* – 2000. – Vol. 231, N 6. – P. 869-876.
23. Dermagraft Diabetic Foot Ulcer Study Group. The efficacy and safety of Dermagraft in improving the healing of chronic diabetic foot ulcers: results of a prospective randomized trial / W.A. Marston, J. Hanft, P. Norwood, R. Pollak // *Diabetes Care.* – 2003. – Vol. 26, N 6. – P. 1701-1705.
24. Falanga V. Apligraf treatment of of venous ulcers and other chronic wounds // *J. Dermatol.* – 1998. – Vol. 25. – P. 812-817.
25. Green H., Kehinde O., Thomas J. Growth of cultured human epidermal cells into multiple epithelia suitable for grafting // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* – 1979. – Vol. 76, N 11. – P. 5665-5668.
26. Lack of long term durability of cultured keratinocyte burn wound coverage a case report / M.H. Desai , J.M. Mlakar, R.L. Mc Cauley, K. M. Abdullah, R.L. Rutan, J. P. Waymack, M.C. Robson, D.N. Herndon // *J. Burn Care Rehabil.* – 1991. – Vol. 12, N 6. – P. 540–545.
27. Mesenchymal stem cells for chronic wounds therapy / P. Zahorec, J. Koller, L. Danisovic, M. Bohac // *Cell Tissue Bank.* – 2015. – Vol. 16, N 1. – P. 19-26.
28. Nyame T.T., Chiang H.A., Orgill D.P. Clinical applications of skin substitutes // *Surg. Clin. North Am.* – 2014. – Vol. 94, N 4. – P. 839-850.
29. Paddle-Ledinek J.E., Cruickshank D.G., Masterton J.P. Skin replacement by cultured keratinocyte grafts: an Australian experience // *Burns.* – 1997. – Vol. 23, N 3. – P. 204-211.
30. Potential of human bone marrow stromal cells to accelerate wound healing in vitro / S.K. Han, T.H. Yoon, D.G. Lee, M.A. Lee, W.K Kim // *Ann. Plast. Surg.* – 2005. – Vol. 55, N 4. – P. 414-419.
31. Rheinwald J.G., Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells // *Cell.* – 1975. – Vol. 6, N 3. – P. 331-343.
32. Shahrokhi S., Arno A., Jeschke M.G The use of dermal substitutes in burn surgery: acute phase // *Wound Repair. Regen.* – 2014. – Vol.22, N 1. – P.14-22.
33. Still J.M., Orlet H.K., Law E.J. Use of cultured epidermal autografts in the treatment of large burns // *Burns.* – 1994. – Vol. 20, N 6. – P: 539-541.
34. Supp D.M., Boyce S.T. Engineered skin substitutes: practices and potentials // *Clin. Dermatol.* – 2005. – Vol. 23, N 4. – P. 403-412.
35. The use of a non-cultured autologous cell suspension and Integra dermal regeneration template to repair full-thickness skin wounds in a porcine model: a one-step process / F.M. Wood., M.L. Stoner, B.V. Fowler, M.W. Fear // *Burns.* – 2007. – Vol. 33, N 6. – P. 693-700.

36. Therapeutic potential of gingival fibroblasts for cutaneous radiation syndrome: comparison to bone marrow-mesenchymal stem cell grafts./ C. Linard, F. Tisedre, E. Busson, V. Holler, T. Leclere, C. Strup-Perrot, L. Couty, B. Lhomme, M. Benderitter, A. Lafont, J.J. Lataillad, B. Coulomb // *Stem. Cells Dev.* – 2015. – Vol. 24, N 10. – P. 1182-1193.
37. Tissue-engineered skin containing mesenchymal stem cells improves burn wounds / P.Liu, Z. Deng, S. Han, T. Liu, N. Wen, W. Lu, S. Huang, Y. Jin // *Artif. Organs.* – 2008. – Vol. 32, N 12. – P. 925- 931.
38. Translation Regenerative Medicine: Market Prospects 2012-2022. Document ID 0000-16CB-119AB-0001316B www.visiongain.com
39. Treatment of burns – established and novel technology / L.K. Branski., M. Dibildox, S. Shahrokhi., M. G. Jeschke.// *Handbook of burns. Vol. 1: Acute burn care* /ed. by Jeschke M.G., Kamolz L-P., Sjöberg F., Wolf S.E. – Wien: Springer-Verlag, 2012. – P. 311-325.
40. Wood F.M., Kolybaba M.L., Allen P. The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn injuries: a critical review of the literature // *Burns.* – 2006. – Vol. 32, N 4. – P. 395-401.
41. Wound therapy by marrow mesenchymal cell transplantation / T.Yoshikawa, H. Mitsuno, I. Nonaka, Y. Sen, K. Kavanishi, Y. Takakura, K. Okueshi, A. Nomomura // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2008. – Vol. 121, N. 3. – P. 860–877.

Рецензенты:

Мухина И.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии и центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, г. Нижний Новгород;

Волова Л.Т., д.м.н., профессор, директор Института экспериментальной медицины и биотехнологий ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, г. Самара.