

© Коллектив авторов, 2020

УДК 577.3

Богданенко Е.В.¹, Сергиевич Л.А.², Карнаухова А.В.², Карнаухова Н.А.², Лизунова И.А.², Карнаухова В.Н.²

Изучение регенеративного потенциала стволовых клеток цельного костного мозга для лечения механических травм кожи в модельных экспериментах на мышах

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8;

²Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пушкино Московской области, Россия, ул. Институтская, д. 3

Введение. Культивированные мезенхимальные стромальные стволовые клетки (МССК), выделенные из костного мозга (КМ), можно использовать для лечения обширных ран, однако это очень дорого, трудоёмко и возможно только через несколько дней после их получения. При этом цельный донорский КМ можно вводить системно непосредственно после травмы без выделения МССК, так как они содержатся в нём естественным образом. Это важно для предотвращения гибели и инвалидизации пострадавших. **Цель исследования** – изучение терапевтического потенциала цельного донорского КМ, пересаживаемого мышам-реципиентам после нанесения им механических травм. **Методика.** Эксперимент выполнен на 38 животных. На следующий день после облучения в дозе 6,5 Гр 18 мышам-реципиентам линии C57BL/6 наносили резаную рану в межлопаточной области спины, а затем вводили внутривенно 100 мкл суспензии клеток донорского цельного КМ, несущих маркерный ген зеленого флуоресцентного белка EGFP. Реципиентов забивали через 1, 2, 3, 7, 11, 14, 21, 28 и 35 сут после трансплантации. Под флуоресцентным микроскопом изучали участки кожи, прилегающие к ране, а также дно раны и струп. Скорость заселения этих зон сравнивали со скоростью заселения участков кожи без раны на пояснице данных реципиентов и в межлопаточной и поясничной областях (20) у облучённых животных-реципиентов без травмы. **Результаты.** Уже на следующий день после трансплантации в участках кожи, прилегающих к ране, и на дне раны обнаруживали донорские клетки. Через 7 сут наблюдалось массивное заселение раны флуоресцирующими клетками различных типов; в то же время в участках кожи без раны на пояснице данных реципиентов донорские клетки появились в существенных количествах только через 11 сут. Донорские клетки сохранялись в коже по меньшей мере 35 сут после трансплантации без всяких признаков элиминирования. У животных без травмы заселение кожи донорскими клетками происходило медленнее, чем у травмированных, с похожим типом заселения обеих изучаемых зон (межлопаточной и поясничной). **Заключение.** Полученные результаты позволяют предположить, что повреждённые ткани выделяют цитокины, обладающие способностью привлекать большинство донорских клеток именно к ране. МССК цельного КМ заращивали рану с очень большой скоростью, из чего можно предположить, что его трансплантация сразу после получения различных травм по эффективности может быть не хуже, чем лечение культивируемыми МССК, а по оперативности воздействия и экономичности намного его превосходить.

Ключевые слова: мыши, цельный костный мозг, стволовые клетки, облучение, раны, травмы, кожа, трансплантация, EGFP.

Для цитирования: Богданенко Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова А.В., Карнаухова Н.А., Лизунова И.А., Карнаухова В.Н. Изучение регенеративного потенциала стволовых клеток цельного костного мозга для лечения механических травм кожи в модельных экспериментах на мышах. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(1): 31-38.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.01.31-38

Для корреспонденции: Богданенко Елена Валентиновна, e-mail: lenabogdval@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.07.2019

Принята к печати 16.01.2020

Опубликована 25.02.2020

Bogdanenko E.V.¹, Sergievich L.A.², Karnaukhov A.V.², Karnaukhova N.A.², Lizunova I.A.², Karnaukhov V.N.²

The regenerative potential of stem cells from the whole bone marrow for the treatment of skin mechanical trauma in a murine model

¹Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russia;

²Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya Str. 3, Moscow Region, Pushchino 142290, Russia

Introduction. Cultured mesenchymal stromal stem cells (MSSC), isolated from the bone marrow (BM) may be used to treat extensive wounds, but this treatment is very expensive, time consuming and possible only in several days after the injury. However, donor whole BM can be systemically administered directly after an injury without isolating MSSC because they are naturally contained in the BM. This is important for preventing death and disability of accident victims. **The aim of the work** was to study the therapeutic potential of donor whole BM transplanted to recipient mice after inflicting a mechanical trauma. **Methods.** On the next day after irradiation at a dose of 6.5 Gy, recipient C57BL/6 mice were subjected to a cut wound in the interscapulum and then injected intravenously with 100 µl of cell suspension of the donor whole BM carrying a marker gene of the green fluorescent protein, EGFP. Recipients were sacrificed in 1, 2, 3, 7, 11, 14, 21, 28, and 35 days after transplantation. The bottom of the wound and the scab on it and also areas of the skin adjacent to the wound were examined by fluorescent microscopy. The rate of colonization of these zones was compared to the rate of colonization of non-injured lumbar skin areas of these recipients and interscapular and lumbar regions of irradiated recipients without traumas. **Results.** Already on the next day after transplantation, the donor cells were detected in skin areas adjacent to the wound and on the bottom of the wound. In 7 days, massive wound colonization with various types of fluorescent cells was observed; at the same time, substantial amount of donor cells appeared in the non-injured lumbar skin of these recipients only in 11 days. The donor cells remained in the skin for at least 35 days after transplantation without any signs of elimination. Colonization of skin with the donor cells was slower in animals without than with wounds with a similar type of colonization in both of the studied zones (interscapular and lumbar). **Conclusions.** The study results suggested that damaged tissues secrete cytokines that are capable of attracting the majority of donor cells specifically to the wound. MSSC of the whole BM healed the wound very fast, which indicated that the MSSC transplantation immediately after a trauma is not inferior in effectiveness to the treatment with cultured MSSC and may be much superior in both promptness of the effect and cost-efficiency.

Keywords: mice, whole bone marrow, stem cells, irradiation, wounds, injuries, skin, transplantation, EGFP.

For citation: Bogdanenko E.V., Sergievich L.A., Karnaukhov A.V., Karnaukhova N.A., Lizunova I.A., Karnaukhov V.N. The regenerative potential of stem cells from the whole bone marrow for the treatment of skin mechanical trauma in a murine model. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(1): 31-38. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.01.31-38

For correspondence: Bogdanenko Elena Valentinovna, leading scientist, D.Sc., PhD, laboratory of the ecological and physical and chemical pathophysiology, e-mail: lenabogdval@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Information about authors:

Bogdanenko E.V., <http://orcid.org/0000-0002-3351-3316>

Received 10.07.2019

Accepted 16.01.2020

Published 25.02.2020

Введение

В последние годы одним из основных направлений в биомедицине является поиск эффективных методов восстановления патологически изменённых, травмированных или изношенных органов и тканей. Наряду с другими методами, использование с этой целью трансплантации цельного костного мозга (КМ) является весьма многообещающим. Её применение для лечения лейкозов является уже общеизвестным; в ряде стран созданы криохранилища для использования донорского аллогенного КМ в случаях, когда среди

родственников больного не находится совместимого донора КМ для его пересадки. Перспективными являются предложения использования трансплантации криосохранённого цельного КМ для продления жизни и половой функции женщин [1, 2]. Не так давно стало известно, что возможно использовать не только цельный костный мозг, но и одну из его фракций – мезенхимальные стромальные стволовые клетки (МССК). Показано, что МССК можно культивировать на подложке, а затем после отслаивания переса-

живать больным с обширными термическими ожогами кожи [3]. Кроме того, МССК способны дифференцироваться в остеогенном направлении, и это их свойство использовали для экспериментального лечения животных с дефектами костной ткани [4]. Инъекции или аппликации культивированных МССК ускоряли заживление ожоговых ран у мышей с индуцированным сахарным диабетом [5] и у людей с диабетическими трофическими язвами [6]. Успешность подобных операций не вызывает сомнения, однако методика выращивания клеток требует высокой стерильности, дорогостоящих питательных сред и посуды, участия квалифицированного высокооплачиваемого персонала. Кроме того, в течение нескольких дней ожоговый больной или человек с другими обширными травмами кожи оказывается уязвимым для инфекций и, в конечном счёте, может погибнуть раньше, чем мезенхимальные клетки будут выращены в объёме, необходимом для трансплантации. Поэтому представляется интересной идея использования для заживления ран кожи системного введения цельного КМ. С целью изучения эффективности такого метода мы проводили мониторинг заселения донорскими клетками и их распределения на мышах линии C57Bl/6, которым непосредственно после получения травмы вводили цельный КМ от доноров с геном EGFP.

Методика

Работа одобрена этическим комитетом ФГБНУ НИ-ИОПП. В эксперименте в качестве доноров использовались самки мышей в возрасте 6-10 мес., несущие ген зеленого флуоресцентного белка (Enhanced Green Fluorescent Protein – EGFP, Tg(ACTB-EGFP)10sb/J), разводимые на основе инбредной линии C57BL/6 EGFP^{-/-}. Этот белок использовался как витальная метка для определения приживаемости клеток донора в организме реципиента линии C57BL/6. Животных содержали в виварии ИБК РАН по 1-4 мыши в клетке на рационе из гранулированного корма с дополнительной подкормкой зерносмесью.

Для подавления возможной иммунной реакции проводилось общее однократное облучение мышей-реципиентов в дозе 6,5 Гр за 1 день до трансплантации костного мозга. Облучение животных проводилось на рентгеновской установке РУТ-250-15-2 (РУМ 17), I=15мА, U=200кВ, с фильтрами из меди и алюминия, толщиной по 1мм каждый, мощность излучения 1 Гр/мин.

Костный мозг получали из бедренных костей донора, несущего ген EGFP. Для этого донора забивали дислокацией шейных позвонков, очищали кости от мягких тканей и растирали их в фарфоровой ступке в

600 мкл фосфатно-солевого буфера (ФСБ). Полученную массу фильтровали через капроновое сито с размером пор 70 мкм. Образовавшуюся суспензию довели буфером до нужного объёма (500 мкл). Костный мозг, полученный из двух бедренных костей одного донора, использовали для 3-4 реципиентов.

Перед трансплантацией реципиентам проводили общую анестезию введением внутривенно препарата «Авертин» в дозе 2 мг действующего вещества на 20 г массы животного, представляющего собой раствор 2,2,2-трибромэтанола в 2-метил-2-бутаноле. Затем в зоне между лопатками удаляли шерсть пинцетом, пока не получалась голая округлая площадка около 1,3 см в диаметре. Затем кожу приподнимали пинцетом и вырезали её глазными ножницами до фасции мышц так, чтобы срез имел форму двояковыпуклой линзы длиной около 1 см и максимальной шириной около 7 мм, по бокам которой оставалась голая кожа шириной 2-3 мм. После этого животному распаривали хвост в тёплой воде, чтобы сделать хорошо заметными кровеносные сосуды, и в боковую вену вводили суспензию клеток костного мозга донора в объёме 100 мкл (1,5x10⁷ клеток) инсулиновым шприцем. До полного просыпания реципиент находился в отдельной клетке с подогревом во избежание развития гипотермии.

При освещении светом с длиной волны в диапазоне 395–475 нм пересаженные реципиентам клетки донора с EGFP флуоресцировали в тканях реципиентов в зеленой области спектра с максимумом флуоресценции на длине волны 508 нм. В работе использовали флуоресцентный микроскоп Axio-Imager Z1 с цветной цифровой камерой AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Германия).

Мышей-реципиентов двух групп забивали дислокацией шейных позвонков в соответствии с инструкцией American Physiological Society (1995 г) через 1, 2, 3, 7, 11, 14, 21, 28 и 35 сут (животные с травмой) и через 1, 2, 3, 7, 11, 14, 21, 28, 35 и 50 сут (животные без травмы) после введения клеток КМ. Животных обеих групп перед трансплантацией КМ облучали.

Участки кожи без раны на пояснице животных-реципиентов с травмой являлись контролем для межлопаточного участка кожи этих же животных, а животные-реципиенты без травмы являлись контролем для животных-реципиентов с травмой. Наружные и внутренние поверхности кожи животных как с травмой, так и без неё, а также струп изучали без всякой фиксации, погружив в каплю ФСБ. Повреждённую кожу отрезали по контуру раны на расстоянии 2 мм от её края. Селезёнку исследовали, чтобы сравнить скорость её заселения клетками донора с таковой на участках повреждённой кожи.

Для этого селезёнку целиком помещали под микроскоп и просматривали при 50- и 100-кратном увеличении с двух сторон. После этого из её средней части вырезали лезвием поперечные слайсы, которые просматривали с 2-х сторон при таком же увеличении.

Результаты

После облучения животных, нанесения им травмы и трансплантации донорских клеток краевые участки кожи, прилегающие к ране, просматривали целиком и в нарезанном на слайсы с помощью лезвия виде в свете флуоресценции. Использование флуоресцентного микроскопа для этой цели явилось достаточным, так как позволило просматривать исследуемые участки, меняя только глубину резкости прибора. Для изучения динамики заселения донорскими клетками в каждый из указанных выше сроков после трансплантации забивали по 2 мыши из сравниваемых групп. Результаты заселения представлены в **таблице**. Уже через одни сутки после трансплантации в крае кожи, прилежащем к ране, обнаруживались как отдельно лежащие, так и в виде небольших групп флуоресцирующие недифференцированные клетки округлой формы и одиночные фибробласты. Единичные круглые недифференцированные донорские клетки обнаруживались также на дне раны. При этом селезёнка подопытных животных, которая предположительно должна была сконцентрировать в себе максимум донорских клеток, имела на своей поверхности чуть больше недифференцированных клеток, чем кожа вокруг ра-

ны, а на поперечном разрезе – единичные фибробластоподобные клетки. Через 2 суток после трансплантации у одного из двух реципиентов было обнаружено появление единичных светящихся клеток на наружной поверхности кожи вокруг раны, а на внутренней – фибробластов и множества пролиферирующих круглых клеток. Дно раны не показывало изменений в заселении по сравнению с первыми сутками.

Через 3 сут после трансплантации на внутренней поверхности кожи и дне раны у обоих реципиентов обнаруживались как круглые клетки, так и фибробласты различной формы, причём наблюдалось выстраивание последних в цепочки. Около волосяных луковиц наблюдались небольшие скопления светящихся клеток. Такие же клетки появлялись у обоих реципиентов на наружной поверхности кожи, вырезанной для исследований, вокруг раны и струпа. Однако их общее количество было невелико по отношению ко всем клеткам исследуемых участков и за первые трое суток после трансплантации их прирост был мало заметен, поэтому для того, чтобы лучше увидеть разницу в заселении с течением времени, перед следующим исследованием был сделан 4-х-дневный перерыв. В то же время в коже без раны с поясничной области этих животных светящихся клеток обнаружено не было.

Спустя 1 нед после трансплантации количество донорских клеток в коже вокруг раны и струпе увеличивалось многократно. На дне раны имелись участки с целыми «вихрями» фибробластов (**рис. 1, а**). Между струпом и краем кожи образовывался вал, содержащий множе-

Таблица

Результаты детекции клеток донорского цельного КМ, несущих маркерный ген зеленого флуоресцентного белка EGFP, у мышей-реципиентов с резаной раной.

Типы клеток	Локализация	Количество суток после трансплантации					
		1	2	3	7	11	14
Круглые недифференцированные	кожа вокруг раны	+	+++	+++	+++	+++	+++
	дно раны	+	+	++	+++	+++	+++
	кожа на пояснице (без раны)	-	-	-	-	+++	+++
Фибробласты	кожа вокруг раны	+	+	++	+++	+++	+++
	дно раны	-	+	++	+++	+++	+++
	кожа на пояснице (без раны)	-	-	-	+	++	-
Дифференцированные различных типов	кожа вокруг раны	-	-	-	+	+	+++
	дно раны	-	-	-	+	+	+++
	кожа на пояснице (без раны)	-	-	-	-	-	+++

Примечание. Условные обозначения: - отсутствие клеток в поле зрения; + – единичные клетки в поле зрения; ++ – десятки клеток в поле зрения; +++ – сотни клеток в поле зрения.

ство светящихся клеток. В наружной части края кожи и струпа наблюдалось диффузное зелёное свечение, что говорило о заселении всей толщи этих участков. При этом в срезах неповреждённой кожи с поясницы флуоресцирующие клетки присутствовали в незначительных количествах (рис. 1, б). В период с 7-х по 11-е сут после трансплантации происходило экспоненциальное размножение донорских клеток, в результате которого различие в степени заселения ими раны и кожи на пояснице оказалось почти стёрто. В обеих зонах имелось множество клеток, однако на пояснице наблюдалось некоторое преобладание круглых недифференцированных клеток, а в области раны — фибробластов.

Через 2 нед после трансплантации заселение повреждённой и неповреждённой зон круглыми донорскими клетками ещё усилилось, но в неповреждённой зоне флуоресцирующие фибробласты обнаружены не были, в то время как на дне раны наблюдались множество таких клеток. В обеих зонах появились стержни волос, содержащие клетки донора, а вокруг раны — адипоциты. Через 3 нед после трансплантации раны почти затянулись; но если в повреждённой зоне преобладали фибробласты, причём сильно разветвлённые (рис. 1, в), то в неповреждённой — круглые клетки. Кроме того, в зоне раны наблюдались закладка флуоресцирующих потовых желёз (рис. 1, г) и наличие большого количества адипоцитов с EGFP. Через 28 сут после трансплантации в обеих зонах к этому прибавились флуоресцирующие миофибробласты (рис. 1, д) и кератиноциты. Донорские клетки появились в составе стенок кровеносных сосудов реципиентов (рис. 1, е). Зона раны заросла шерстью и стала незаметной. Через 35 сут наблюдалось массивное заселение кожи реципиентов флуоресцирующими клетками. Однако в неповреждённой коже концентрация круглых клеток и фибробластов была приблизительно в 5 раз ниже, чем в зоне раны.

У облучённых мышей без травмы через неделю после трансплантации и в межлопаточной, и в поясничной зонах наблюдались только единичные флуоресцирующие клетки (круглые и фибробласты), с типом заселения, схожим с тем, который был в коже без раны на пояснице травмированных мышей. Лишь к 11-м сут у животных без травмы заселение кожи донорскими клетками стало сравнимым с таковым у травмированных, но количество фибробластов было на порядок ниже, чем в области раны. Таким образом, скорость и характер заселения у нетравмированных животных отличались от тех, которые наблюдались у травмированных. Донорские клетки даже через 50 сут после трансплантации детектировались в коже этих животных, причём

давали такое мощное диффузное свечение, что со стороны волос с трудом можно было рассмотреть отдельные кератиноциты.

Обсуждение

Работ по поиску возможностей использования цельного КМ для заместительной терапии как средства неотложной помощи при больших потерях кожи, которая может привести к инвалидности или даже смерти, практически нет. В ряде работ для восстановления кожи после травм (ожогов) и радиационного поражения предлагается использование культивированных *in vitro* мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток [5, 7-10]. Однако цельный костный мозг естественным образом содержит такие клетки, и его использование без разделения на фракции и культивирование могло бы стать экономичной альтернативой при оказании неотложной помощи. Для культивирования необходимо несколько дней, а такие материалы, как биодеградируемые мембраны «ЭластоПОБ» [7], коллагеновый гель с фибробластами или пласт кератиноцитов [9], возможно наносить только на очищенную от некротизированных тканей поверхность, а не в глубь раны, т.е. её зарастание невозможно в нормальном порядке — снизу вверх, и идет с потерей времени.

Тот факт, что в нашей работе уже через 1 сут после трансплантации количество донорских клеток в тканях раны сравнимо с их количеством в селезёнке, может означать, что этот орган кроветворения привлекает донорские клетки только незначительно сильнее, чем свежая рана. Вероятно, ткани раны выделяют цитокины, обладающие способностью привлекать донорские клетки в места повреждения. Поскольку установлено, что при наличии воспалительного процесса или ультрафиолетового облучения в коже синтезируются хемокины, способные привлечь к месту действия лейкоциты хозяина или предшественники клеток Лангерганса донора соответственно [11, 12], такое объяснение кажется вполне допустимым. В то же время оно противоречит утверждениям, что именно введение МССК может привлекать ранних эндотелиальных предшественников из кровяного русла и КМ хозяина благодаря выделяемым МССК цитокинам, ростовым факторам и хемоаттрактантам [5].

Присутствие донорских клеток в организме реципиентов уже через сутки после их введения, наблюдаемое в нашей работе, подтверждает данные об их обнаружении через такой же срок в мозге смертельно облучённых мышей [13]. Известны даже данные, что МССК могут обнаруживаться у реципиентов уже через 1 ч после внутривенного введения, причём без

применения облучения [14]. Массированное заселение донорскими клетками раны уже через 7 сут после их трансплантации и формирование за их счёт сначала адипоцитов и стержней волос, а затем потовых желёз, миофибробластов, кератиноцитов и даже стенок кровеносных сосудов говорит о высоком потенциале использования цельного КМ для неотложной заме-

стительной терапии, сопряжённом с относительной дешёвизной метода по сравнению с культивированием МССК. Полученные нами данные сравнимы с данными по трансплантации культивированных МССК в область вокруг ожоговых ран у мышей с индуцированным диабетом, которые вызывали развитие в них

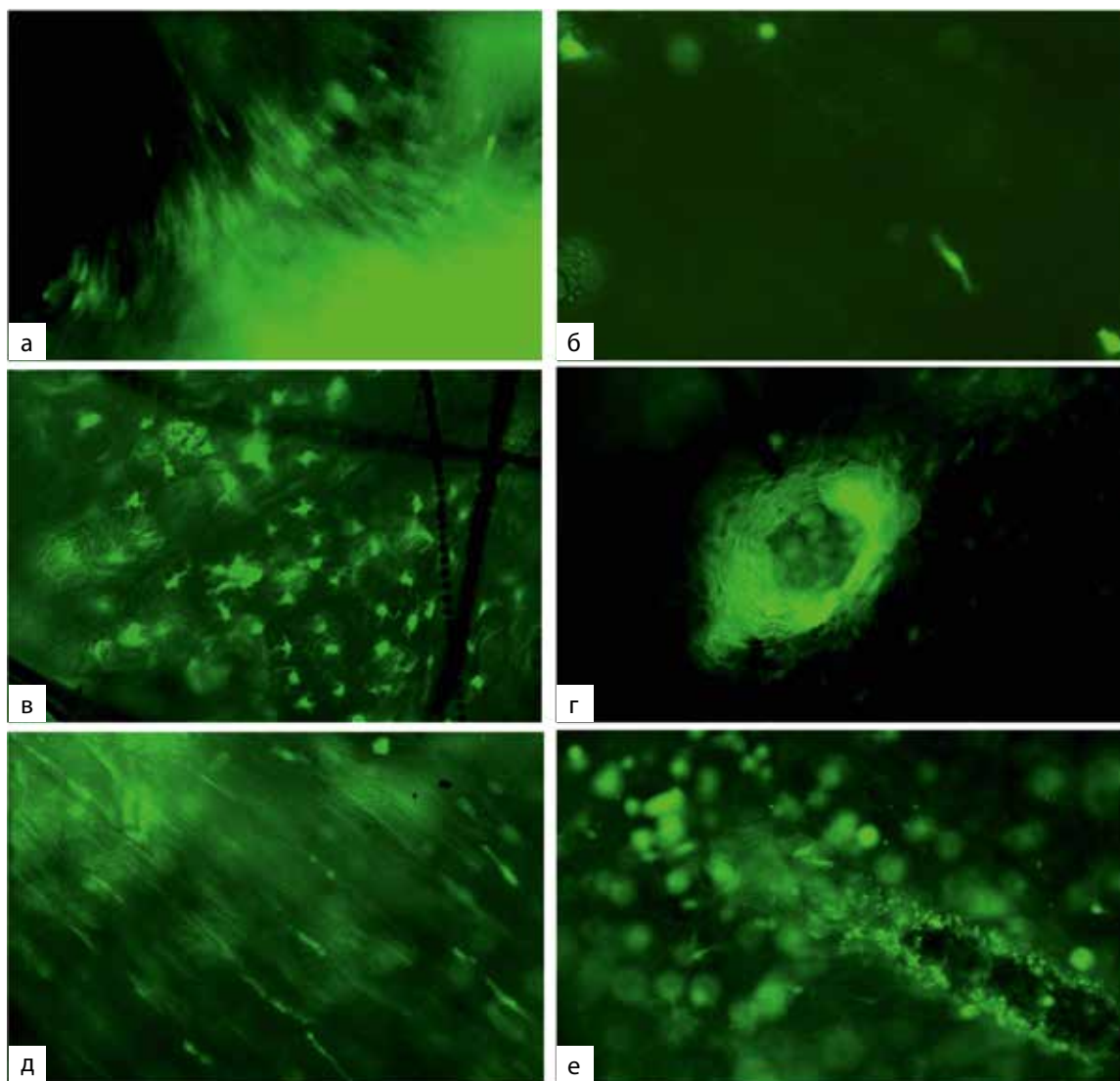


Рис. 1. Заселение кожи реципиента с резаной раной спины клетками EGFP⁺-донора:

- а – 1 нед после трансплантации – вихри фибробластов на дне раны;
 - б – 1 нед после трансплантации – кожа с пояса;
 - в – 3 нед после трансплантации – сильно разветвлённые фибробласты на месте заживления раны;
 - г – 3 нед после трансплантации – потовая желёза в восстановленном слое кожи;
 - д – 4 нед после трансплантации – миофибробласты;
 - е – 3 нед после трансплантации – кровеносные сосуды.
- а, б, в, д – ув. × 100, г, е – ув. × 200.

грануляционной ткани, формирование волосяных фолликулов и эпителизацию [5].

Кроме того, заселение ран донорскими клетками было устойчивым и наблюдалось нами в течение 5 нед (а заселение нетравмированной кожи — 50 сут). Принимая во внимание работы, в которых наблюдается заселение донорскими EGFP-клетками цельного костного мозга ряда органов и пожизненный устойчивый химеризм реципиентов [15], можно предположить, что эти клетки могут выполнять свою функцию до тех пор, пока она необходима организму. Работы, в которых заселение свежевыделенными МССК таких органов необлучённых животных, как тимус [16] и поджелудочная железа [14], продолжалось по меньшей мере 1 месяц, подтверждают такую возможность.

Выводы

1. Стволовые клетки цельного костного мозга способны активно заселять участок раны, начиная с первых суток после трансплантации.

2. Массовое заселение раны донорскими клетками происходит уже через 7 сут после трансплантации, что даёт быстрое заживление как с её краёв, так и с дна, т.е. осуществляется максимально естественным образом.

3. Первоочередное заселение раны, сравнимое с заселением такого кроветворного органа, как селезёнка, говорит о наличии механизмов привлечения к ней стволовых клеток донорского КМ, участвующих в заживлении.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Богданенко Елена Валентиновна

Сбор и обработка материала — Богданенко Елена Валентиновна, Сергиевич Лариса Анатольевна, Лизунова Ирина Анатольевна, Карнаухов Алексей Валерьевич

Статистическая обработка — Богданенко Елена Валентиновна, Сергиевич Лариса Анатольевна

Написание текста — Богданенко Елена Валентиновна, Сергиевич Лариса Анатольевна, Карнаухов Алексей Валерьевич, Карнаухова Наталья Алексеевна, Карнаухов Валерий Николаевич

Литература

1. Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова Н.А., Богданенко Е.В., Смирнов А.А. и др. Информационная теория старения: изучение влияния трансплантации костного мозга на продолжительность жизни мышей. *Биофизика*. 2014; 59(4): 790–5.
2. Богданенко Е.В., Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В., Сергиевич Л.А., Карнаухова Н.А., Манохина И.А. и др. Изучение возможностей клеточной терапии для продления женской половой

- функции в модельных экспериментах на мышах. *Патогенез*. 2015; 3: 13–7.
3. Rasulov M.F., Vasilchenkov A.V., Onishchenko N.A., Krashenninikov M.E., Kravchenko V.I., Gorshenin T.L. et al. First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. *Cell Technologies in Biology and Medicine*. 2005; 1: 141–4.
4. Зорин В.Л., Зорина А.И., Еремин И.И., Бозо И.Я., Соловьёва Е.В., Хромова Н.В. и др. Сравнительный анализ остеогенного потенциала мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток слизистой оболочки полости рта и костного мозга. *Гены и Клетки*. 2014; 9(1): 50–7.
5. Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Миллер Т.В., Повещенко А.Ф., Суровцева М.А. и др. Перспективность использования клеточного продукта для терапии кожных дефектов при сахарном диабете. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2017; 3: 175–7.
6. Максимова Н.В., Лյондуп А.В., Крашенинников М.Е., Помыткин И.А., Гадаев И.Ю., Мельниченко Г.А. Клинические случаи применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в лечении язв при синдроме диабетической стопы нейропатической формы. В кн: *Сахарный диабет: макро- и микрососудистые осложнения. Сборник тезисов II Всероссийской конференции с международным участием*. 2017: 51.
7. Мороз Б.Б., Онищенко Н.А., Лебедев В.Г., Дешевой Ю.Б., Сидорович Г.И., Лырщикова А.В. и др. Влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга на течение местных лучевых поражений у крыс после локального β-облучения. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2009; 49(6): 688–93.
8. Расулов М.Ф., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Зайденов В.А., Зорин В.Л., Богатырев С.Р. Фибробластоподобные мезенхимальные стволовые клетки костного мозга подобно эмбриональным фибробластам стимулируют заживление поверхностных ожоговых ран. *Вестн. транспл. и искусств. органов*. 2003; 3: 46–9.
9. Мельникова Е.В., Меркулова О.В., Борисевич И.В., Меркулов В.А. От клеточных технологий к биомедицинским клеточным продуктам: опыт использования препаратов на основе жизнеспособных клеток человека в Российской Федерации. *Цитология*. 2018. 60(4): 231–40.
10. Котенко К.В., Мороз Б.Б., Надежина Н.М., Галстян И.А., Онищенко Н.А., Еремин И.И., Дешевой Ю.Б., Лебедев В.Г. Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток при лечении лучевых поражений кожи. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2011; 55(1): 20–6.
11. Katou F., Ohtani H., Nakayama T., Ono K., Matsushima K., Saaristo A. et al. Macrophage-derived chemokine (MDC/CCL22) and CCR4 are involved in the formation of T lymphocyte-dendritic cell clusters in human inflamed skin and secondary lymphoid tissue. *Am. J. Pathol.* 2001; 158: 1263–70.
12. Dieu-Nosjean M.C., Massacrier C., Homey B., Vanberlivet B., Pin J.J., Vicari A. et al. Macrophage inflammatory protein 3α is expressed at inflamed epithelial surfaces and is the most potent chemokine known in attracting Langerhans cell precursors. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 705–18.
13. Hess D.C., Abe T., Hill W.D., Studdard A.M., Carothers J., Masuya M. et al. Hematopoietic origin of microglial and perivascular cells in brain. *Experimental Neurology*. 2004; 186: 134–44.
14. Миллер Т.В., Повещенко А.Ф., Лыков А.П., Повещенко О.В., Бондаренко Н.А., Петровская И.Ф. и др. Сравнительный анализ миграционной активности популяций клеток костного мозга в лимфоидные и нелимфоидные органы в норме и на моде-

- ли сахарного диабета. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 2: 137-143.
15. Сергиевич Л.А., Карнаухова Е.В., Карнаухова А.В., Карнаухова Н.А., Богданенко Е.В., Лизунова И.А. и др. Влияние криоконсервирования клеток костного мозга мышшей-доноров, несущих ген *egfp*, на продолжительность жизни мышшей при сингенной трансплантации. *Биофизика*. 2018; 63(3): 517–27.
 16. Porritt H.E., Gordon K., Petrie H.T. Kinetics of Steady-state Differentiation and Mapping of Intrathymic-signaling Environments by Stem Cell Transplantation in Nonirradiated Mice. *J. Exp. Med.* 2003; 198: 6957–62
 7. Moroz B.B., Onischenko N.A., Lebedev V.G., Deshevoy Yu.B., Sidorovich G.I., Lirshikova A.V. et al. The influence of multipotent mesenchymal stromal cells of bone marrow on process of local radiation injury in rats after local β -irradiation. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2009; 49(6): 688–93 (in Russian)
 8. Rasulov M.F., Onischenko N.A., Krashennnikov M.E., Zaidenov V.A., Zorin V.L., Bogatirev S.R. Both embryonic fibroblasts and fibroblast-like mesenchymal bone marrow stem cells stimulate the regeneration of superficial burn wounds. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2003; 3: 46–9. (in Russian)
 9. Melnikova E.V., Merkulova O.V., Borisevich I.V., Merkulov V.A. From cellular technologies to biomedical cell products: practice in the use of drugs based on viable human cells in the Russian Federation. *Cytologiya*. 2018. 60(4): 231–40. (in Russian)
 10. Kotenko K.V., Moroz B.B., Nadezhina N.M., Galstyan I.A., Onischenko N.A., Eremin I.I. Mesenchymal stem cells transplantation in the treatment of radiation skin lesions. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya*. 2011; 55(1): 20–6. (in Russian)
 11. Katou F., Ohtani H., Nakayama T., Ono K., Matsushima K., Saaristo A. et al. Macrophage-derived chemokine (MDC/CCL22) and CCR4 are involved in the formation of T lymphocyte-dendritic cell clusters in human inflamed skin and secondary lymphoid tissue. *Am. J. Pathol.* 2001; 158: 1263–70.
 12. Dieu-Nosjean M.C., Massacrier C., Homey B., Vanbervliet B., Pin J.J., Vicari A. et al. Macrophage inflammatory protein 3 α is expressed at inflamed epithelial surfaces and is the most potent chemokine known in attracting Langerhans cell precursors. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 705–18.
 13. Hess D.C., Abe T., Hill W.D., Studdard A.M., Carothers J., Masuya M. et al. Hematopoietic origin of microglial and perivascular cells in brain. *Experimental Neurology*. 2004; 186: 134–44.
 14. Miller T.V., Poveshchenko A.F., Lykov A.P.I., Poveshchenko O.V., Bondarenko N.A., Petrovskaya I.F. et al. Comparative analysis of the migratory activity of populations of bone marrow cells in lymphoid and non-lymphoid organs in norm and in experimental models of diabetes. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016; 2: 137-43. (in Russian)
 15. Serгиевич Л.А., Карнаухова Е.В., Карнаухова А.В., Карнаухова Н.А., Богданенко Е.В., Лизунова И.А., Карнаухова В.Н. A Study of the Regenerative potential of bone marrow cells of donor mice that carry the *egfp* gene in irradiated mice. *Biophysics*. 2018; 63(1): 84–92.
 16. Porritt H.E., Gordon K., Petrie H.T. Kinetics of Steady-state Differentiation and Mapping of Intrathymic-signaling Environments by Stem Cell Transplantation in Nonirradiated Mice. *J. Exp. Med.* 2003; 198: 6957–62.

References

1. Karnaukhov A.V., Karnaukhova E.V., Serгиевич Л.А., Karnaukhova N.A., Bogdanenko E.V., Smirnov A.A. et al. Information theory of ageing: Studying the effect of bone marrow transplantation on the life span of mice. *Biophysics*. 2014, 59(4): 646-50.
2. Bogdanenko E.V., Karnaukhov A.V., Karnaukhova E.V., Serгиевич Л.А., Karnaukhova N.A., Manokhina I.A. et al. Study of cell therapy possibilities for renewal of feminine sexual function on mouse model experiments. *Patogenez*. 2015; 3: 13-7. (in Russian)
3. Rasulov M.F., Vasilchenkov A.V., Onishchenko N.A., Krashennnikov M.E., Kravchenko V.I., Gorshenin T.L. et al. First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. *Cell Technologies in Biology and Medicine*, 2005; 139(1): 141-4.
4. Zorin V.L., Zorina A.I., Eremin I.I., Bozo I.Y., Solovieva E.V., Hromova N.V. Comparative analysis of osteogenic potential of multipotent mesenchymal stromal cells derived from oral mucosa and bone marrow. *Geny i kletki*. 2014; 9(1): 50-7. (in Russian)
5. Lykov A.P., Bondarenko N.A., Poveshchenko O.V., Miller T.V., Poveshchenko A.F., Surovtseva M.A. et al. Prospect of using cell product for the therapy of skin defects in diabetes mellitus. *Cell Technologies in Biology and Medicine*. 2017; 3: 266-8.
6. Maksimova N.V., Lyundup A.V., Krashennnikov M.Y., Pomytkin I.A., Gadayev I.Y., Mel'nichenko G.A. *Clinical cases of the use of autologous mesenchymal stem cells of the bone marrow in the treatment of ulcers in diabetic foot syndrome of a neuropathic form. In: Diabetes mellitus: macro- and microvascular complications. Collection of theses of the 2nd all-russian conference with international participation. [Klinicheskie sluchai primeneniya autologichnykh mezenkhimalnykh stvolovykh kletok kostnogo mozga v lechenii yazv pri sindrome diabeticheskoy stopyi neyropaticheskoy formy. V kn: Saharnyy diabet: makro- i mikrososudistyye oslozhneniya. Sbornik tezisev II Vserossiyskoy konferentsii s mezhdunarodnyim uchastiem]*. 2017: 51. (in Russian)

Сведения об авторах:

Богданенко Елена Валентиновна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. физико-химической и экологической патофизиологии, e-mail: lenabogdval@mail.ru;

Сергиевич Лариса Анатольевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. микроспектрального анализа клеток и клеточных систем, e-mail: larserg@mail.ru;

Карнаухов Алексей Валерьевич, канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотр. лаборатории микроспектрального анализа клеток и клеточных систем, e-mail: AlexeyKarnaukhov@yandex.ru;

Карнаухова Наталья Алексеевна, ст. науч. сотр. лаб. микроспектрального анализа клеток и клеточных систем, e-mail: nakarnauhova@mail.ru;

Лизунова Ирина Анатольевна, мл. науч. сотр. лаб. микроспектрального анализа клеток и клеточных систем, e-mail: Iri-man@mail.ru;

Карнаухов Валерий Николаевич, канд. биол. наук, зав. лаб. микроспектрального анализа клеток и клеточных систем, e-mail: nakarnauhova@mail.ru