

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616-001.4-039.22-013.395-018.46-06:576.32

**САХАБ**  
**Хайдар Али Нур**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ  
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК  
ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ  
ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.17 – хирургия

Минск 2013

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный медицинский университет»

**Научный руководитель:** **Третьяк Станислав Иванович**, доктор медицинских наук, профессор, лауреат Государственной премии Республики Беларусь, заслуженный деятель науки Республики Беларусь, заведующий 2-й кафедрой хирургических болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет»

**Официальные оппоненты:** **Жидков Сергей Анатольевич**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач Республики Беларусь, профессор кафедры военно-полевой хирургии УО «Белорусский государственный медицинский университет»

**Дундаров Залимхан Анварбегович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней № 2 с курсом детской хирургии УО «Гомельский государственный медицинский университет»

**Оппонирующая организация:** ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Защита диссертации состоится 16 апреля 2013 года в 13.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.05 при УО «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел.: 272-55-98, e-mail: [rector@bsmu.by](mailto:rector@bsmu.by).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций  
доктор медицинских наук, доцент



А.С. Ластовка

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема лечения длительно незаживающих инфицированных ран как проблема восстановления утраченного кожного покрова при заболеваниях и повреждениях различной этиологии представляет собой актуальную и до конца не решённую проблему современной хирургии во всем мире (Л.А. Блатун, 2007; А.В. Гавриленко и др., 2008).

Распространенность длительно незаживающих ран среди населения (от 1 до 4%), временная утрата трудоспособности и частая инвалидизация пациентов, продолжительность течения болезни, склонность к рецидиву с необходимостью постоянного проведения дорогостоящей терапии обуславливают значительный социально-экономический ущерб, наносимый от длительно незаживающих ран. Все это указывает на необходимость поиска альтернативных методов лечения, предлагающих более экономичное решение и позволяющих сократить сроки лечения (И.Н. Гришин и др., 2005; А.В. Гавриленко и др., 2008; М.Н. Кудыкин и др., 2008).

В настоящее время лечение длительно незаживающих ран включает общую и местную лекарственную терапию и хирургическое лечение. Использование антибактериальной терапии, фотодинамической терапии, местных антисептиков, сорбционных повязок и других методов не всегда позволяет получить желаемый эффект.

Широко распространенная ранняя свободная аутодермопластика также нередко мало эффективна из-за отторжения или некроза кожного лоскута (Я.Й. Крыжановский и др., 2003; В.В. Иващенко, 2003). Именно поэтому многие вопросы в лечении пациентов с длительно незаживающими ранами по-прежнему остаются нерешенными.

В последние годы появляется все больше публикаций, указывающих на возможность применения во многих направлениях регенеративной медицины мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из жировой ткани (ЖТ). Это стало возможным благодаря их доступности, безопасности получения, высокому потенциалу дифференцировки и уникальным иммунологическим свойствам. (D.A. De Ugarte et al., 2003; J.M. Gimble, 2003; H. Mizuno, 2003; J.J. Mao et al., 2006). Однако в литературе практически не нашлось сообщений о применении мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в лечении длительно незаживающих ран, поэтому существует ряд вопросов, требующих экспериментального изучения, а именно: определение противовоспалительного действия мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и их влияния на течение раневого процесса, что и нашло отражение в настоящей работе.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами.** Диссертационная работа выполнена в рамках проекта по ГНТП «Лечебные и диагностические технологии», подпрограмма «Хирургия» по теме «Разработать и внедрить метод лечения трофических язв с использованием аутологичных стволовых клеток из жировой ткани» № государственной регистрации 20093541 от 23.12.2009 г., сроки выполнения – 2009–2011 гг., а также в рамках научно-исследовательской работы 2-й кафедры хирургических болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет» по теме «Экспериментальное обоснование эффективности применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении длительно незаживающих инфицированных ран» (№ государственной регистрации 2008365 от 11.01.2008 г.).

### **Цель и задачи исследования**

**Целью исследования** явилось экспериментальное обоснование и разработка методики использования мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении инфицированных ран.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**:

1. Усовершенствовать экспериментальную модель инфицированных ран.
2. Получить из жировой ткани лабораторных животных мезенхимальные аллогенные и аутологичные стволовые клетки.
3. Определить особенности регенерации инфицированных ран у экспериментальных животных при использовании традиционных методов лечения.
4. Оценить противовоспалительное действие мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани у экспериментальных животных при лечении инфицированных ран.
5. Установить особенности регенерации инфицированных ран у экспериментальных животных при использовании в их лечении локальной трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани.
6. Провести сравнительный анализ эффективности традиционных методов лечения и локальной трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении инфицированных ран.

**Объект исследования:** суспензия *Staphylococcus aureus*, асептические и инфицированные раны, жировая ткань, культура мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, плазма крови и цельная кровь белых половозрелых крыс линии Wistar.

**Предмет исследования:** клинико-морфологические, биохимические, гематологические и микробиологические показатели инфицированных ран в комплексном лечении с использованием мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани.

Выбранные объекты и предметы исследования позволяют адекватно оценить эффективность применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении моделированных инфицированных ран.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Усовершенствована экспериментальная модель инфицированных ран путем использования эталона при формировании раны. С целью усложнения задачи лечения в момент моделирования иссекалась кожа, подкожная жировая клетчатка и фасции. Суспензия *Staphylococcus aureus* вводилась непосредственно в мышечную ткань.

2. Клетки, полученные из жировой ткани, являются мезенхимальными стволовыми клетками, что подтверждается наличием специфических маркеров, характерных для таких клеток, и отсутствием маркеров гемопоэтических стволовых клеток.

3. Использование комплексного подхода к лечению инфицированных ран (местное применение антисептиков и внутримышечная антибактериальная терапия) способствует улучшению течения экспериментальной раны у лабораторных животных по сравнению с животными, у которых применялись только антисептики. Это проявляется более низким процентом нейтрофильных лейкоцитов на 5-е сутки от момента начала лечения, более высоким количеством фагоцитирующих нейтрофилов в мазках-отпечатках раны. Купирование воспалительных изменений при комплексном лечении проявляется на 5-е сутки более низкими показателями лейкоцитов в крови, что способствует процессу заживления раны и уменьшению её площади.

4. Противовоспалительный эффект трансплантации мезенхимальных стволовых клеток без применения антибактериальной терапии не имел значимых отличий по сравнению с результатами трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в комбинации с антибактериальной терапией, что проявлялось статистически не значимыми различиями ( $p > 0,05$ ) в процентном содержании нейтрофильных лейкоцитов в ране, уровнях про- и противовоспалительных интерлейкинов, количестве лейкоцитов в крови и микроорганизмов в ране экспериментальных животных на 5-е сутки от момента начала лечения.

5. Локальная трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении с антибактериальной терапией по сравнению с системным введением аутологичных мезенхимальных

стволовых клеток является более эффективной в лечении инфицированной гнойной раны, что характеризуется более ранним купированием признаков воспаления и началом роста шерсти, наименьшими значениями площади раневого дефекта и более высокой скоростью эпителизации.

6. Использование в комплексном лечении инфицированных ран локальной трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани является наиболее эффективным методом лечения по сравнению с традиционным комплексным методом. Локальная трансплантация МСК способствует более быстрому заживлению раны: скорость эпителизации при данном методе лечения на 5-е сутки была в 1,6 раза больше, чем при традиционном. Количество фибробластов к этому же сроку наблюдения в случае локальной трансплантации превышало аналогичный показатель в 2,4 раза по сравнению с традиционными методами лечения. Полное восстановление кожного покрова с присущими ему дериватами, с формированием нежного рубца при локальной трансплантации наблюдалось на 14-е сутки, тогда как при традиционных методах – в более поздние сроки и с исходом в грубый рубец.

**Личный вклад соискателя.** Диссертационная работа выполнена автором самостоятельно на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории УО «Белорусский государственный медицинский университет», 2-й кафедры хирургических болезней БГМУ. Совместно с научным руководителем сформированы цель и задачи исследования, разработана комплексная программа и методика проведения экспериментальных исследований сравнительной эффективности нового метода лечения моделированных инфицированных ран. Разработаны и внедрены в практику ЦНИЛ БГМУ экспериментальная модель инфицированных ран у лабораторных животных [16], способ забора жировой ткани, способ забора крови, способ получения мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани [17], способ локального [14] и системного введения МСК из ЖТ и алгоритм оценки заживления ран у мелких лабораторных животных (вклад автора 80%). На разработанной модели инфицированных ран самостоятельно выполнен весь комплекс запланированных экспериментальных исследований (вклад автора 100%). Автором проведено планирование диссертационного исследования, экспериментальные исследования, формирование компьютерной базы данных, статистическая обработка материала, подготовка статей, актов внедрения, заявок на рационализаторские предложения и изобретения по материалам диссертации. Культура мезенхимальных стволовых клеток была получена из жировой ткани, культивирована и подготовлена к трансплантации в ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» при участии старшего научного сотрудника, канд. биол. наук Лобанка Е.С. и младшего

научного сотрудника Василевич И.Б. [17, 23] (вклад автора 75%).  
Приготовление, окраска и морфологические исследования микропрепаратов проводились на базе кафедры патологической анатомии БГМУ при участии профессора, д-ра мед. наук Недзьведь М.К. [1, 3] (вклад автора 80%).  
Интерпретация данных цитологического исследования мазков-отпечатков ран и морфометрического исследования осуществлялась на базе ГУ «РНЦ радиационной медицины и экологии человека» совместно с доцентом кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины УО «Гомельский государственный медицинский университет», канд. мед. наук Надыровым Э.А. [3, 30, 31] (вклад автора 80%).  
Бактериологические исследования выполнены в лаборатории внутрибольничных инфекций ЦНИЛ БГМУ совместно со старшим научным сотрудником Слабко И.Н. [2, 26] (вклад автора 80%).  
Гематологические и биохимические исследования выполнялись в ЦНИЛ БГМУ. Автором лично выполнены математические расчеты площади, динамики заживления и скорости эпителизации ран [7, 18, 21, 22] (вклад автора 100%), проведена статистическая обработка полученных в ходе эксперимента данных (вклад автора 80%).  
Результаты исследований опубликованы в источниках [1–31] (вклад автора 80%).  
Написание и оформление всех разделов диссертации проведено автором лично.

**Апробация результатов диссертации.** Результаты исследований и основные положения диссертации доложены и обсуждены на Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Современные аспекты лечения декубитальных язв у пациентов со спинальной травмой» (г. Гомель, РБ, 2011); 65-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины» (г. Минск, РБ, 2011); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы комбустиологии, пластической хирургии и лечения ран» (г. Донецк, Украина, 2011); юбилейной научной конференции «БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики» (г. Минск, РБ, 2011); II Международной молодёжной научно-практической конференции «Научные стремления 2011» (г. Минск, РБ, 2011); I Республиканской научно-практической молодёжной конференции «Декабрьские чтения: инфекция в медицине – 2011» (г. Гомель, РБ, 2011); XI научно-практической конференции с международным участием «Рани, ранова інфекція, пластика та електрозварювання живих тканин» (г. Киев, Украина, 2011); IV Международном молодёжном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2011» (г. Санкт-Петербург, РФ, 2011); 67-й научной сессии университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (г. Витебск, РБ, 2012); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 21-й

итоговой сессии Гомельского государственного медицинского университета (г. Гомель, РБ, 2012); XIII научно-практической конференции «Молодежь и медицинская наука в XXI веке» (г. Киров, РФ, 2012); научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора Д.А. Маслакова (г. Гродно, РБ, 2012); Международной научной конференции студентов и молодых учёных «Молодёжь – медицине будущего» (г. Одесса, Украина, 2012); V International Scientific Interdisciplinary Conference for medical students and young doctors (Kharkiv, Ukraine, 2012); 64-й студенческой научной конференции и 40-й конференции молодых учёных Смоленской медицинской академии (с международным участием) (г. Смоленск, РФ, 2012); 66-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины» (г. Минск, РБ, 2012); IV International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera-2012 (Chisinau, Republic of Moldova, 2012); the 3<sup>rd</sup> International Scientific Conference of Iranian Students in Belarus (Minsk, Republic of Belarus, 2012); XI Международной конференции молодых ученых «Исследования молодых ученых» (г. Витебск, РБ, 2012); инновационном проекте «100 идей Беларуси» (г. Минск, РБ, 2012); Международной научно-практической конференции «Биотехнологии в клинической медицине» (Донецк, Украина, 2012); XXVI Пленуме хирургов Республики Беларусь и Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы гнойно-септической хирургии» (г. Бобруйск, РБ, 2012); IV (66) Международном научно-практическом конгрессе студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины» (г. Киев, Украина, 2012); XI международной конференции «Студенческая медицинская наука XXI в.» (г. Витебск, РБ, 2012).

**Опубликованность результатов диссертации.** По теме диссертации опубликована 31 научная работа, из них 3 статьи в научных медицинских рецензируемых журналах, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, 28 тезисов докладов и материалов международных и республиканских научных конференций, конгрессов, пленумов, сессий и съездов. 12 работ опубликовано автором лично, 19 – в соавторстве. Научные статьи объемом 1,08 авторских листа опубликованы в изданиях, включенных в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных работ. Общий объем других опубликованных материалов составляет 3,45 авторских листа. Автором получена приоритетная справка на изобретение № а20120770 от 16.07.2012 г. [32], 10 удостоверений на рационализаторское предложение, 9 актов внедрения в ЦНИЛ УО «БГМУ», акт на внедрение результатов диссертации в учебный процесс 2-й кафедры хирургических болезней, кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии,

кафедры патологической анатомии УО «БГМУ», кафедры хирургических болезней № 3 с курсом сердечно-сосудистой хирургии, кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины УО «Гомельский государственный медицинский университет».

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа написана на русском языке, изложена на 196 страницах печатного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, библиографического списка и 27 приложений. В работе приводится 313 литературных источников, из которых 97 – русскоязычных, 185 – иностранных, 31 – публикации автора. Библиографический список размещен на 27 страницах. Диссертация содержит 9 таблиц, 65 рисунков и 2 математические формулы. Объем, занимаемый формулами, таблицами, рисунками и приложениями, составляет 71 страниц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Методы исследования**

Экспериментальные исследования были проведены на 160 белых крысах. Все животные были разделены на контрольную и основную группу. Контрольная группа (n = 80) включала 4 подгруппы: животные с чистой раной (первая подгруппа), с инфицированной раной без лечения (вторая подгруппа), с инфицированной раной и местным лечением антисептиками (третья подгруппа) и с инфицированной раной, местным применением антисептиков и внутримышечной антибактериальной терапией (четвертая подгруппа). Основная группа (n = 80) также включала 4 подгруппы: животные с системной трансплантацией аллогенных МСК из ЖТ без антибактериальной терапии (первая подгруппа), с системной трансплантацией аллогенных МСК из ЖТ и применением внутримышечной антибактериальной терапии (вторая подгруппа), с системной трансплантацией аутологичных МСК из ЖТ и применением внутримышечной антибактериальной терапии (третья подгруппа) и животные с локальной трансплантацией аутологичных МСК из ЖТ и применением внутримышечной антибактериальной терапии (четвертая подгруппа). Выведение животных из эксперимента проводили на 3, 5, 7, 10 и 14-е сутки эксперимента. На каждом сроке наблюдения исследовали по 4 крысы. Срок наблюдения в подгруппах животных, которые не получали лечения, определялся от момента моделирования раны, а во всех остальных случаях – от момента начала лечения.

После забора жировой ткани культура мезенхимальных стволовых клеток была подготовлена к трансплантации в ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси». Эффективность трансплантации МСК из ЖТ

оценивали с помощью следующих методов исследования. Клиническая характеристика течения раневого процесса: оценка внешнего вида раны, раневого ложа, характеристика экссудата и окружающих тканей, наличия шерсти вокруг раны. Планиметрические методы исследования: определение площади раны, динамики заживления и скорости эпителизации с использованием программы Scion Image. Методы морфологического исследования, которые включали гистологическое исследование с окраской гематоксилином и эозином и по методу Ван-Гизон и морфометрическое исследование с использованием аппаратно-программного комплекса Nikon (Япония) с программным обеспечением. Цитологическое исследование с использованием метода «поверхностной биопсии ран» М.Ф. Камаева, окраска предметных стекол после их высушивания проводилась по способу Романовского–Гимза. Лабораторные методы исследования включали гематологическое исследование, где определялось количество лейкоцитов в крови животных и биохимическое исследование с определением уровней интерлейкинов-1, -6 и -10. При бактериологическом исследовании определялось количество микроорганизмов в ране после забора раневого отделяемого при первичной хирургической обработке раны до применения антибиотиков и антисептиков. Статистические методы исследования проводили с использованием Statistica 6.0. Оценку нормальности распределения признаков проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. При распределении признаков, не отличающихся от нормального, данные представлялись в формате: среднее  $\pm$  ошибка среднего ( $M \pm m$ ). Сравнительный анализ внутри группы и межгрупповой анализ проводили с использованием критерия Стьюдента. При распределении показателей, отличающихся от нормального, данные были представлены в формате медиана и 25÷75 перцентиль ( $Me (Q^{25} \div Q^{75})$ ), при этом сравнительный анализ проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования**

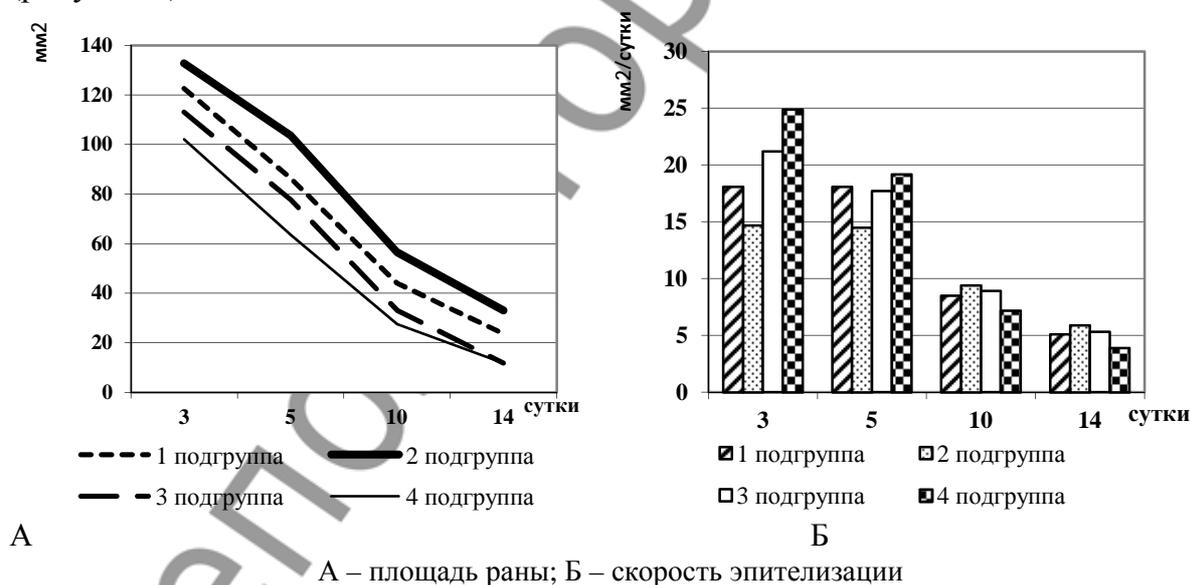
На подготовительном этапе работы производили забор жировой ткани у крыс для последующего выделения из нее и культивирования стволовых клеток. Клетки, полученные из жировой ткани, по данным проточной цитофлуориметрии, несли на своей поверхности маркеры CD29, CD44 и CD90, которые присущи мезенхимальным стволовым клеткам.

Экспериментальная модель инфицированных ран была усовершенствована за счет использования эталона, который позволил получить раны одинакового размера 1,5×1,5 см у всех животных: кроме кожи и подкожной жировой клетчатки, иссекались фасции, и непосредственно в мышечную ткань вводилась суспензия *Staphylococcus aureus*. На 2-е сутки от момента моделирования

получена гнойная инфицированная рана, которая характеризовалась наличием геморрагического струпа, гнойного отделяемого, воспалительного отека и гиперемии окружающих тканей, наличием в них очагов некроза и гнойного расплавления, включая мышечную ткань. Количество микроорганизмов в ране составляло от  $6,0 \times 10^6$  до  $2,0 \times 10^8$  КОЕ/мл.

На первом этапе исследования была проведена сравнительная оценка течения экспериментальных ран у животных контрольной группы. Клиническая оценка течения ран показала, что на 5-е сутки во второй подгруппе отмечалась интенсивная гиперемия и отек окружающих тканей, по краю раны – гнойно-некротические изменения. Струп был представлен некротическим детритом, на дне раны определялся некроз, обильные наложения фибрина, чего не отмечалось в первой подгруппе. У животных с чистыми ранами отделяемое носило серозный характер, формировалась грануляционная ткань и отмечалось наполнение эпителия из краев раны.

По данным планиметрического исследования на 5-е сутки во второй подгруппе площадь раны составляла  $103,6 \pm 19,6$  мм<sup>2</sup>. У животных с чистыми ранами площадь раневого дефекта на 5-е сутки была значительно меньше и составляла  $86,4 \pm 21,4$  мм<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ). Во второй подгруппе отмечалась наименьшая скорость эпителизации раны, которая на 5-е сутки равнялась  $14,5 \pm 2,7$  мм<sup>2</sup>/сутки, а в первой подгруппе этот показатель был  $18,1 \pm 2,3$  мм<sup>2</sup>/сутки ( $p < 0,05$ ) (рисунок 1).



**Рисунок 1 – Данные планиметрического исследования в подгруппах животных контрольной группы в разные сроки наблюдения**

У животных с инфицированными ранами без лечения отмечались и наименьшие показатели динамики заживления:  $8,2 \pm 1,5\%$  на 5-е сутки по сравнению с  $10,2 \pm 1,3\%$  у животных из первой подгруппы в аналогичный срок

наблюдения. При гистологическом исследовании на 5-е сутки у животных второй подгруппы в ране отмечались фибринозно-гнойные наложения с большим количеством микроорганизмов, под струпом находился толстый слой нейтрофильных лейкоцитов, а в глубжележащих слоях сохранялся воспалительный инфильтрат. В чистых ранах в этом же сроке наблюдения отмечалось наложение многослойного плоского эпителия, под которым находилась созревающая грануляционная ткань с горизонтально ориентированными фибробластами и фиброцитами. По результатам морфометрического исследования на 5-е сутки диаметр дефекта эпителизации у животных первой подгруппы был 9,0 (8,0÷9,5) мм, второй – 10,0 (10,0÷11,0) мм. Толщина слоя некроза/грануляций в первой и второй подгруппе была 392,0 (378,0÷397,0) и 450,0 (420,0÷512,0) мкм соответственно ( $p < 0,05$ ). При цитологическом исследовании на 5-е сутки количество фибробластов, которые отражают процесс регенерации раны во второй подгруппе, было 1,5 (1,0÷2,0), в чистой ране – 3,0 (2,0÷4,0) ( $p < 0,05$ ). Полученные результаты дают основание отнести смоделированные раны к категории длительно незаживающих.

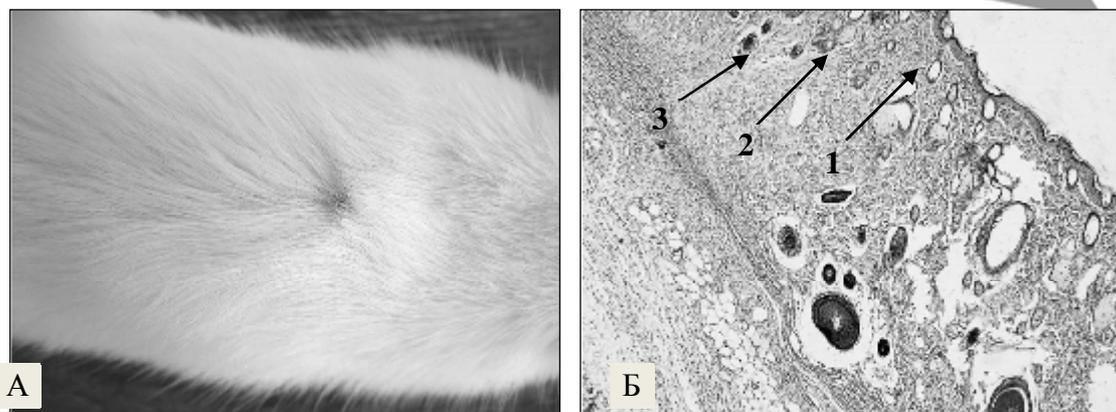
Сравнительный анализ результатов лечения между третьей и четвертой подгруппой показал, что на 5-е сутки в третьей подгруппе сохранялись выраженная гиперемия и отек окружающих тканей, интенсивность которых в четвертой подгруппе была меньше. Сохранялся серозно-гнойный экссудат. Площадь раны в третьей и четвертой подгруппе составила  $77,7 \pm 15,8$  мм<sup>2</sup> и  $63,6 \pm 10,1$  мм<sup>2</sup> соответственно ( $p < 0,05$ ). При морфологическом исследовании в третьей подгруппе на 5-е сутки поверхность раны под струпом была выполнена фибринозными наложениями, в подлежащих тканях располагался тонкий слой лейкоцитов. Грануляционная ткань в области дна раны отсутствовала. Выраженный воспалительный инфильтрат распространялся до жировой клетчатки. Максимальный диаметр дефекта эпителизации составил 11,0 (11,0÷12,0) мм, толщина слоя некроза/грануляций – 445,0 (420,0÷510,0) мкм. В четвертой подгруппе фибринозных наложений не отмечалось, подлежащие ткани были незначительно инфильтрированы лимфоцитами и плазматическими клетками. В ретикулярном и сосочковом слоях определялись островки созревающей грануляционной ткани, а по периферии раневого дефекта уже начиналась краевая эпителизация раны. Максимальный диаметр дефекта эпителизации равнялся 10,0 (9,0÷12,0) мм, а толщина слоя некроза/грануляций – 500,0 (420,0÷514,0) мкм ( $p < 0,05$ ). По результатам цитологического исследования в третьей подгруппе медиана процентного содержания нейтрофильных лейкоцитов на 5-е сутки составила 55,5 (51,0÷57,0), в четвертой подгруппе – 54,0 (51,0÷56,0); фибробластов – 9,0 (7,0÷12,0) и 11,5 (10,0÷13,0) на 10-е сутки соответственно. Исследование количества лейкоцитов в крови животных позволяет судить об общей реакции организма на наличие воспаления в ране.

На 5-е сутки наблюдения количество лейкоцитов в третьей подгруппе составило  $12,3 (11,6 \div 12,7) \times 10^9/\text{л}$  и достигло нормального значения лишь на 14-е сутки, у животных из четвертой подгруппы –  $10,4 (9,8 \div 11,2) \times 10^9/\text{л}$ , с нормой ( $4-9 \times 10^9/\text{л}$ ) на 10-е сутки ( $p < 0,05$ ). Течение воспалительного процесса оценивалось и по уровню про- и противовоспалительных интерлейкинов. На 5-е сутки от момента начала лечения данные показатели у животных из третьей подгруппы для ИЛ-1 составили  $8,5 (7,2 \div 8,9)$  пг/мл при норме  $3,0 (2,3 \div 3,6)$  пг/мл, ИЛ-6 –  $168,0 (154,0 \div 180,0)$  пг/мл при норме  $8,1 (6,2 \div 11,3)$  пг/мл и для ИЛ-10 –  $25,0 (23,0 \div 28,0)$  пг/мл (норма –  $25,1 (21,3 \div 27,4)$  пг/мл). У животных четвертой подгруппы уровень ИЛ-1 и ИЛ-6 был меньше и составил  $7,0 (6,5 \div 7,5)$  пг/мл и  $70,0 (56,0 \div 92,0)$  пг/мл соответственно, а уровень ИЛ-10 стал относительно больше –  $28,0 (16,5 \div 30,0)$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Эффективность лечения оценивалась и при изучении количества микроорганизмов в ране. В третьей подгруппе на 3-и сутки этот показатель составил  $7,9 (7,0 \div 8,5) \times 10^5$  КОЕ/мл, в четвертой подгруппе –  $5,6 (4,6 \div 6,5) \times 10^5$  КОЕ/мл ( $p < 0,05$ ). Таким образом, у животных с местным применением антисептиков и внутримышечной антибактериальной терапией отмечались лучшие регенеративные процессы, процессы эпителизации были более активными и раньше купировались воспалительные проявления по сравнению с предыдущими подгруппами (гиперемия и отек окружающих тканей в четвертой подгруппе на 10-е сутки уже отсутствовали, в то время как в третьей подгруппе в этом сроке наблюдения признаки воспаления еще сохранялись). Однако ни комплексное лечение, ни отдельное применение антисептиков не способствовали полноценному восстановлению кожных дефектов. Во всех подгруппах у животных на месте инфицированной раны формировался грубый рубец, вокруг которого отсутствовала шерсть.

На втором этапе исследования была проведена сравнительная оценка течения экспериментальных инфицированных ран у животных основной группы, которая включала 4 подгруппы. Сравнение результатов лечения в I и II подгруппе показало, что динамика заживления раны и купирование воспалительного процесса у животных с системной трансплантацией МСК из ЖТ без антибактериальной терапии не отличалась от таковой по сравнению с животными, которым также проводилась системная трансплантация МСК из ЖТ, но уже в комплексе с антибактериальной терапией. Это говорит о том, что МСК из ЖТ обладают выраженным противовоспалительным эффектом.

Для определения эффективности локальной трансплантации аутологичных МСК из ЖТ в лечении длительно незаживающих инфицированных ран по сравнению с системной трансплантацией этих же клеток была проведена сравнительная оценка между третьей и четвертой подгруппами животных. К 14-м суткам в четвертой подгруппе раневой дефект был визуально наименьшим, шерсть была более густой (рисунок 2). Площадь раневого дефекта

в третьей подгруппе была  $44,0 \pm 10,8 \text{ мм}^2$ , в четвертой подгруппе на 5-е сутки –  $23,6 \pm 8,1 \text{ мм}^2$  ( $p < 0,05$ ). На 14-е сутки площадь раны была  $3,1 \pm 1,3$  и  $1,6 \pm 0,5 \text{ мм}^2$  соответственно. Скорость эпителизации на 5-е сутки в третьей подгруппе равнялась  $25,1 \pm 2,3 \text{ мм}^2/\text{сутки}$ , а в четвертой –  $31,4 \pm 2,3 \text{ мм}^2/\text{сутки}$  ( $p < 0,05$ ). Динамика заживления раны на 5-е сутки составила  $14,2 \pm 1,3\%$  и  $17,8 \pm 1,3\%$  соответственно ( $p < 0,05$ ).



А – внешний вид раны; Б – микроскопическая характеристика раны: 1 – фиброзная ткань, 2 – сальные железы, 3 – волосяные луковицы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение  $\times 40$

#### Рисунок 2 – Рана животных четвертой подгруппы основной группы на 14-е сутки

Морфологическое исследование в третьей и четвертой подгруппе на 5-е сутки наблюдения выраженных отличий не показало. Цитологическая характеристика раневого процесса, исходя из количества фибробластов, отражала более интенсивный процесс заживления в четвертой подгруппе. На 3-и сутки наблюдения количество фибробластов составило  $7,0$  ( $6,0 \div 9,0$ ) в третьей подгруппе и  $8,0$  ( $7,0 \div 9,0$ ) в четвертой подгруппе. Фиброциты в ране на данном сроке наблюдения отсутствовали. На 5-е сутки в четвертой подгруппе микроорганизмы в ране не обнаруживались, в то время как в третьей подгруппе их количество составило  $2,0$  ( $1,0 \div 5,0$ )  $\times 10^2$  КОЕ/мл ( $p < 0,05$ ).

В дальнейшем был проведен сравнительный анализ результатов локальной трансплантации аутологичных МСК из ЖТ (основная группа) с традиционным методом лечения инфицированных ран (контрольная группа). Воспалительные признаки в основной группе купировались на 5–7-е сутки, в контрольной – к 14-м суткам. В основной группе дефект раны эпителизовался к 14-м суткам, отмечалось полноценное восстановление кожных покровов и рост шерсти, чего не наблюдалось в контрольной группе. Исходом лечения в основной группе был нежный, тонкий рубчик, не отличающийся от здоровой кожи, в контрольной – грубый рубец. Площадь раневого дефекта в основной группе на 5-е сутки составила  $23,6 \pm 8,1 \text{ мм}^2$ , а в контрольной –  $63,6 \pm 10,1 \text{ мм}^2$  ( $p < 0,05$ ).

Скорость эпителизации –  $31,4 \pm 2,3$  и  $19,2 \pm 1,8$  мм<sup>2</sup>/сутки, динамика заживления –  $17,8 \pm 1,3\%$  и  $10,9 \pm 1,0\%$  соответственно ( $p < 0,05$ ). При морфологическом исследовании диаметр дефекта эпителизации на 14-е сутки в основной группе был  $3,0$  ( $2,0 \div 3,0$ ) мм, в контрольной –  $6,0$  ( $5,0 \div 7,0$ ) мм ( $p < 0,05$ ). Существенные отличия наблюдались и в цитологической картине: в основной группе было наименьшее количество нейтрофильных лейкоцитов –  $33,0$  ( $29,0 \div 40,0$ ) и наибольшее количество фибробластов –  $24,5$  ( $23,0 \div 28,0$ ) на 10-е сутки наблюдения. В контрольной группе –  $43,0$  ( $40,0 \div 46,0$ ) и  $11,5$  ( $10,0 \div 13,0$ ) соответственно ( $p < 0,05$ ). Количество лейкоцитов в контрольной группе на 5-е сутки составило  $10,4$  ( $9,8 \div 11,2$ )  $\times 10^9$ /л, а в основной группе –  $9,6$  ( $9,2 \div 10,3$ )  $\times 10^9$ /л. Уровень ИЛ-1 в контрольной группе был  $7,0$  ( $6,5 \div 7,5$ ) пг/мл, ИЛ-6 –  $70,0$  ( $56,0 \div 92,0$ ) пг/мл, ИЛ-10 –  $28,0$  ( $16,5 \div 30,0$ ) пг/мл. В основной группе уровень ИЛ-1 и ИЛ-6 был относительно выше аналогичных показателей из контрольной группы и составил  $7,2$  ( $6,9 \div 7,6$ ) и  $157,0$  ( $143,0 \div 164,0$ ) пг/мл соответственно, ИЛ-10 –  $66,0$  ( $63,0 \div 71,0$ ) пг/мл ( $p < 0,05$ ). Локальная трансплантация аутологичных МСК из ЖТ способствовала очищению раны от микроорганизмов в более ранние сроки: на 5-е сутки количество патогенных микроорганизмов в ране у животных контрольной группы составило  $4,0$  ( $1,0 \div 5,0$ )  $\times 10^2$  КОЕ/мл, а у животных основной группы микроорганизмов в ране обнаружено не было. Таким образом, локальная трансплантация аутологичных МСК из ЖТ в отличие от других, использованных в данном исследовании методов лечения, способствовала более быстрому и полноценному восстановлению кожных покровов.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

### **Основные научные результаты диссертации**

1. Усовершенствованная экспериментальная модель инфицированных ран позволяет получить открытую рану размером  $1,5 \times 1,5$  см у всех животных, что достигалось благодаря использованию эталона. Моделированные инфицированные раны характеризовались также наличием геморрагического струпа, гнойного отделяемого, воспалительным отеком и гиперемией окружающих тканей, наличием в них очагов некроза и гнойного расплавления, включая мышечную ткань. Количество микроорганизмов в ране составляет от  $6,0 \times 10^6$  до  $2,0 \times 10^8$  КОЕ/мл [16].

2. Клетки, полученные из жировой ткани, являются мезенхимальными стволовыми клетками, что подтверждается данными проточной цитофлуориметрии: на их поверхности присутствуют маркеры CD29, CD44 и CD90, которые характерны для мезенхимальных стволовых клеток и

одновременно отсутствовали маркеры гемопоэтических стволовых клеток CD34, CD45 [17, 27].

3. Использование традиционного комплексного подхода к лечению инфицированных ран (местное применение антисептиков и внутримышечная антибактериальная терапия) способствует улучшению течения экспериментальной раны у лабораторных животных по сравнению с животными, у которых применялись только антисептики. В подгруппе с применением антисептиков и антибиотиков наблюдался более интенсивный процесс регенерации, о чем свидетельствует меньший дефект эпителизации на 5-е сутки эксперимента в этой подгруппе – 10,0 (9,0÷12,0) мм, в то время как в подгруппе с применением только антисептиков дефект эпителизации составил 11,0 (11,0÷12,0) мм. В подгруппе с использованием комплексного лечения раньше происходило купирование признаков воспаления: количество лейкоцитов в крови животных на 5-е сутки при комплексном традиционном методе лечения было  $10,4 (9,8\div 11,2)\times 10^9/\text{л}$ , а при использовании только антисептиков –  $12,3 (11,6\div 12,7)\times 10^9/\text{л}$ . В подгруппе с комплексным подходом отмечался больший процент фагоцитирующих нейтрофилов в ране – 12,5 (11,0÷14,0), тогда как в случае применения только антисептиков – 10,5 (9,0÷13,0) [11, 23, 29].

4. Результаты трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани без применения антибактериальной терапии свидетельствуют об их высоком противовоспалительном эффекте, который сопоставим с результатами трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток с применением антибактериальной терапии. В мазках-отпечатках при цитологическом исследовании количество нейтрофильных лейкоцитов в ране на 5-е сутки эксперимента в случае трансплантации мезенхимальных стволовых клеток без антибактериальной терапии составило 56,0 (52,0÷59,0), с антибактериальной терапией – 53,0 (50,0÷58,0), уровень про- и противовоспалительных интерлейкинов составил для ИЛ-1 6,8 (6,2÷7,5) и 6,7 (5,9÷7,1) пг/мл, ИЛ-10 – 29,0 (18,0÷31,0) и 21,0 (19,0÷24,0) пг/мл соответственно, количество лейкоцитов в крови –  $11,3 (10,8\div 12,4)\times 10^9/\text{л}$  и  $12,6 (11,4\div 13,2)\times 10^9/\text{л}$  соответственно. Количество микроорганизмов в ране животных с трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток без антибактериальной терапии –  $1,6 (0,8\div 2,1)\times 10^3$ , с антибактериальной терапией –  $1,8 (1,5\div 3,4)\times 10^3$  КОЕ/мл ( $p>0,05$ ). Аналогичный эффект определялся и при аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток [2, 6, 15, 24, 26].

5. Локальная трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении с антибактериальной терапией является более эффективной по сравнению с системным введением

аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в лечении инфицированных гнойных ран. При локальной трансплантации МСК отмечается более раннее купирование воспалительных признаков (на 5–7-е сутки) и начало роста шерсти (на 5-е сутки) в сравнении с системным введением стволовых клеток. В подгруппе с локальной трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток площадь раневого дефекта на 5-е сутки была меньше в 1,9 раз по сравнению с системной трансплантацией, а скорость эпителизации выше в 1,3 раза [14, 19, 20, 30, 31].

6. Использование в комплексном лечении инфицированных ран локальной трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани является наиболее эффективным методом лечения по сравнению с традиционным комплексным методом лечения. Использование локальной трансплантации МСК позволяет на более ранних этапах купировать признаки воспаления: количество нейтрофилов в ране при традиционном методе лечения на 5-е сутки от начала лечения было больше – 54,0 (51,0÷56,0), тогда как при локальной трансплантации – 49,0 (46,0÷51,0), количество фагоцитирующих нейтрофилов – 12,5 (11,0÷14,0) и 9,0 (8,0÷12,0) соответственно ( $p < 0,05$ ). Количество лейкоцитов в крови животных на 5-е сутки при локальной трансплантации было ниже – 9,6 (9,2÷10,3)×10<sup>9</sup>/л, в то время как при традиционном методе лечения – 10,4 (9,8÷11,2)×10<sup>9</sup>/л ( $p < 0,05$ ). При локальной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток к 5-м суткам отмечалось полное очищение раны от патогенных микроорганизмов, в то же время при традиционных методах лечения патогенные микроорганизмы в ране сохранялись, и их количество составляло 4,0 (1,0÷5,0)×10<sup>2</sup> КОЕ/мл. Локальная трансплантация МСК способствует ускорению процессов регенерации: площадь раневого дефекта на 5-е сутки была меньше в 2,7 раз, скорость эпителизации – выше в 1,6 раз, количество фибробластов – больше в 2,4 раза по сравнению с аналогичными показателями у животных с традиционными методами лечения ( $p < 0,05$ ). При этом полное восстановление кожного покрова с присущими ему дериватами при локальной трансплантации наблюдалось к 14-м суткам, чего не наблюдалось в контрольной группе [1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 18, 21, 22, 25, 28, 32].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. Инфицированные раны должны подвергаться комплексному лечению, включающему как традиционные методы, так и трансплантацию аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, что значительно ускоряет процесс заживления ран, способствует быстрому и полноценному восстановлению кожных покровов, раннему купированию как местной, так и общей воспалительной реакции организма.

2. Разработанный экспериментальный метод локальной трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в лечении инфицированных ран у лабораторных животных позволяет рекомендовать данный метод для проведения клинических испытаний с целью улучшения результатов лечения длительно незаживающих инфицированных ран у пациентов.

3. Разработанный алгоритм оценки клинического течения инфицированной раны, включающий оценку поведения животных, внешнего вида струпа и раневого ложа (под струпом), размеров раны (площадь, динамика заживления, скорость эпителизации), количества, качества, консистенции, цвета и запаха экссудата, типа ткани, состояния краев раны, наличия шерсти вокруг раны, результатов микробиологических исследований и количества лейкоцитов в крови позволяет получить более полную характеристику течения раневого процесса у экспериментальных животных.

В ходе выполнения работы получено:

– решение Национального центра интеллектуальной собственности о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на получение патента на изобретение «Способ лечения длительно незаживающей инфицированной раны у лабораторного животного» № 20120770 от 13.05.2012 г.;

– 10 удостоверений на рационализаторское предложение в соответствии с п. 19 «Положения о рационализаторстве в Республике Беларусь», утвержденным Постановлением Совета Министров Республики Беларусь 17.02.2010 г. № 209;

– 9 актов на внедрение результатов диссертации в Центральную научно-исследовательскую лабораторию учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»;

– акт на внедрение результатов диссертации в учебный процесс 2-й кафедры хирургических болезней, кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, кафедры патологической анатомии БГМУ, кафедры хирургических болезней № 3 с курсом сердечно-сосудистой хирургии, кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины Гомельского государственного медицинского университета.

Полученные результаты позволяют проводить дальнейшее исследование по внедрению трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в клиническую практику для лечения инфицированных ран различной этиологии. Кроме того, данные настоящей работы могут быть использованы и учтены в других научно-исследовательских работах, в учебном процессе, при написании учебников и справочных пособий.

## **СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ**

### **Статьи в рецензируемых научных журналах**

1. Третьяк, С.И. Морфологические признаки эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении длительно незаживающих инфицированных ран в эксперименте / С.И. Третьяк, М.К. Недзведь, Х.А. Сахаб, Е.В. Баранов, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько, И.Н. Слабко // Военная медицина – 2012. – № 1. – С. 122–124.

2. Сахаб Хайдар, А. Противовоспалительный эффект мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани при лечении инфицированных ран в эксперименте / Хайдар А. Сахаб, С.И. Третьяк, Е.В. Баранов М.К. Недзведь, Е.С. Лобанок, В.Л. Недорезов, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько, И.Н. Слабко, Л.В. Картун, Е.В. Ходосовская // Медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 70–73.

3. Сахаб Хайдар, А. Особенности регенерации кожного покрова при применении мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток из жировой ткани у лабораторных животных с дефектом мягких тканей / Х.А. Сахаб, С.И. Третьяк, М.К. Недзведь, Э.А. Надыров, Е.В. Баранов, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич // Проблемы здоровья и экологии – 2012. – № 2. – С. 135–140.

### **Статьи в сборниках научных трудов**

4. Недзведь, М.К. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани в комплексном лечении инфицированных ран у экспериментальных животных / М.К. Недзведь, Е.В. Баранов, Х.А. Сахаб // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики: материалы юбилейной научной конференции, посвященной 90-летию учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, 27 октября 2011 г. / Белорусский государственный медицинский университет; сборник научных трудов под ред. А.В. Сикорского [и др.]. – Минск, 2011. – Т. 1. – С. 164.

5. Недзведь, М.К. Влияние мезенхимальных стволовых клеток на течение раневого процесса у экспериментальных животных / М.К. Недзведь, Е.В. Баранов, Х.А. Сахаб // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики: материалы юбилейной научной конференции, посвященной 90-летию учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, 27 октября 2011 г. / Белорусский государственный медицинский университет; сборник научных трудов под ред. А.В. Сикорского [и др.]. – Минск, 2011. – Т. 1. – С. 165.

6. Лабораторные показатели общего анализа крови при лечении хронических инфицированных ран мезенхимальными стволовыми клетками у лабораторных животных / Х.А. Сахаб, С.И. Третьяк, Е.В. Баранов, М.К. Недзведь, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько, И.Н. Слабко //

Актуальные проблемы медицины: материалы республиканской научно-практической конференции и 21-й итоговой сессии Гомельского государственного медицинского университета, Гомель, 16–17 февраля 2012 г.: в 4-х томах / Гомельский государственный медицинский университет; под ред. А.Н. Лызикова [и др.]. – Гомель, 2012. – Т. 4. – С. 41–42.

7. Сахаб, Хайдар А. Скорость эпителизации раневого дефекта при использовании стволовых клеток в лечении гнойных ран у экспериментальных животных / Хайдар А. Сахаб // Молодежь и медицинская наука в XXI веке: сборник трудов XIII научно-практической конференции, посвященной 25-летию Кировской государственной медицинской академии, Киров, 2–3 апреля 2012 г. / Кировская государственная медицинская академия; под ред. И.В. Шешунова [и др.]. – Киров, 2012. – С. 70.

8. Сахаб, Хайдар А. Влияние мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани на толщину грануляционной ткани у экспериментальных животных / Хайдар А. Сахаб, В.А. Шпудейко // Летняя школа молодых ученых: сборник научных трудов, Витебск, 12–15 июля 2012 г. / Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины; под общ. ред. А.И. Ятусевича. – Витебск, 2012. – С. 108–109.

#### **Материалы конференций, конгрессов, съездов, симпозиумов, научных сессий**

9. Первый опыт применения клеточной технологии в лечении инфицированных ран в эксперименте / Е.В. Баранов, Х.А. Сахаб, М.К. Недзведь, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько, Ж.А. Макаревич // Современные аспекты лечения декубитальных язв у пациентов со спинальной травмой: материалы республиканской научно-практической конференции с международным участием, Гомель, 25 марта 2011 г. / Гомельский государственный медицинский университет; редкол.: А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2011. – С. 9–10.

10. Применение мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в лечении инфицированных ран в эксперименте / Хайдар А. Сахаб, С.И. Третьяк, Е.В. Баранов, М.К. Недзведь, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько // Актуальные вопросы комбустиологии, пластической хирургии и лечения ран: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию Донецкого ожогового центра, Донецк, 29–30 сентября 2011 г. / Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького; редкол.: Э.Я. Фисталь [и др.]. – Донецк, 2011. – С. 165–167.

11. Сахаб, Хайдар А. Альтернативный метод лечения длительно незаживающих инфицированных ран с применением мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани у экспериментальных животных / Хайдар А. Сахаб //

Студенческая медицинская наука XXI века: материалы XI международной научно-практической конференции, Витебск, 3–4 ноября 2011 г. / Витебский государственный медицинский университет; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2011. – С. 33–34.

12. Эффективность трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в комплексном лечении длительно незаживающих инфицированных ран в эксперименте / С.И. Третьяк, Е.В. Баранов, Хайдар А. Сахаб, М.К. Недзведь, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько // Научные стремления 2011: материалы II международной молодёжной научно-практической конференции, Минск, 14–18 ноября 2011 г.: в 2-х томах / НАН Беларуси; редкол.: К.С. Бредихина [и др.]. – Минск, 2011. – Т. 1. – С. 566–569.

13. Роль мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении инфицированных ран в эксперименте / Е.В. Баранов, Х.А. Сахаб, М.К. Недзведь, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, И.Н. Слабко, Л.В. Бутько // Декабрьские чтения: инфекция в медицине – 2011: материалы I республиканской научно-практической молодёжной конференции, Гомель, 1–2 декабря 2011 г. / Гомельский государственный медицинский университет; ред. гр. А.Н. Волченко, М.Н. Сакович. – Гомель, 2011. – С. 6–8.

14. Эффективность локального применения мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в лечении длительно незаживающих инфицированных ран в эксперименте / Е.В. Баранов, Х.А. Сахаб, М.К. Недзведь, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько, И.Н. Слабко // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 67-й научной сессии сотрудников университета, Витебск, 2–3 февраля 2012 г. / Витебский государственный медицинский университет; под ред. В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2012. – С. 291–292.

15. Изменение уровня интерлейкинов при лечении длительно незаживающих инфицированных ран с применением клеточной технологии у лабораторных животных / С.И. Третьяк, Е.В. Баранов, Х.А. Сахаб, М.К. Недзведь, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько // Материалы VII Международной (XVI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых учёных, Москва, 15 марта 2012 г. / Российский государственный медицинский университет им. Пирогова // Вестник РГМУ. – 2012. – специальный выпуск № 1; под ред. Н.В. Полуниной [и др.]. – Москва, 2012. – С. 517.

16. Сахаб, Хайдар Али Моделирование гнойных инфицированных ран у лабораторных животных / Хайдар А. Сахаб // Материалы конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти проф. Д.А. Маслакова, Гродно, 19–20 апреля 2012 г. / Гродненский государственный медицинский университет; под ред. В.А. Снежицкого [и др.]. – Гродно, 2012. – С. 365.

17. Сахаб, Хайдар А. Можно ли получить из жировой ткани мезенхимальные стволовые клетки? (Экспериментальное исследование) / Хайдар А. Сахаб // Материалы 40-й конференции молодых учёных Смоленской государственной медицинской академии (с международным участием), Смоленск, 26 апреля 2012 г. / Смоленская государственная медицинская академия // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2012. – спец. выпуск; под ред. И.В. Отвагина [и др.]. – Смоленск, 2012. – С. 54.

18. Сахаб, Хайдар А. Влияние трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани на площадь дефектов кожных покровов у лабораторных животных с инфицированными ранами / Хайдар А. Сахаб // Актуальные вопросы генных и клеточных технологий: материалы V ежегодного Международного симпозиума, Москва, 28 мая 2012 г. / Институт стволовых клеток человека // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия (научно-информационный и аналитический журнал). – 2012. – Т. 7. – № 2; под ред. В.А. Козлова [и др.]. – Москва, 2012. – С. 47–48.

19. Сахаб, Хайдар А. Экспериментальное обоснование применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении длительно незаживающих ран / Хайдар А. Сахаб // Каталог «Научно-технические разработки студентов, магистрантов, аспирантов высших учебных заведений Республики Беларусь». – Минск. – 2012. – С. 52–53.

20. Сахаб, Хайдар А. Характеристика процесса регенерации длительно незаживающих ран у лабораторных животных после аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани / Хайдар А. Сахаб, В.А. Шпудейко // Биотехнологии в клинической медицине: материалы международной научно-практической конференции, Донецк, 19–21 сентября 2012 г. / Донецкий государственный медицинский университет; редкол.: В.К. Гринь [и др.]. – Донецк, 2012 // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2012. – Т. 13. – № 1. – С. 162–163.

21. Сахаб, Хайдар А. Влияние трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани на динамику заживления длительно незаживающих инфицированных ран в эксперименте / Хайдар А. Сахаб, С.И. Третьяк // Актуальные вопросы гнойно-септической хирургии: материалы XXVI Пленума хирургов Республики Беларусь и Республиканской научно-практической конференции, Бобруйск, 27–28 сентября 2012 г. / Общество хирургов Республики Беларусь; под ред.: Г.П. Рычагова [и др.]. – Бобруйск, Республика Беларусь, 2012 // Хирургия. Восточная Европа. – 2012. – № 3. – С. 304–306.

#### **Тезисы докладов**

22. Влияние мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на скорость заживления длительно незаживающих инфицированных ран в

експерименте / С.И. Третьяк, Е.В. Баранов, Х.А. Сахаб, М.К. Недзьведь, Е.С. Лобанок, И.Б. Василевич, Л.В. Бутько // Раны, ранова інфекція, пластика та електрозварювання живих тканин: тези доповідей XI щорічної науково-практичної конференції з міжнародною участю, Київ, 1–2 грудня 2011 р. / Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика // Клінічна хірургія (щомісячні науково-практичні журнал). – 2011. – № 11; редкол.: М.Ю. Ничитайло [і інш.]. – Київ, 2011. – С. 49–50.

23. Сахаб, Х.А. Новый подход в лечении длительно незаживающих инфицированных ран с применением клеточной технологии у экспериментальных животных / Хайдар А. Сахаб, И.Б. Василевич // Санкт-Петербургские научные чтения – 2011: материалы IV международного молодёжного медицинского конгресса (дополнительный сборник), Санкт-Петербург, 7–9 декабря 2011 г. / Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова; ред. комитет: В.И. Амосов [и др.]. – Санкт-Петербург, 2011. – С. 11–12 (дополнительный сборник).

24. Сахаб, Хайдар А. Влияние мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани на показатели провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в комплексном лечении длительно незаживающих инфицированных ран у лабораторных животных / Хайдар А. Сахаб // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для молодих вчених і студентів): тези доповідей міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених, присвяченої 155-річчю з дня народження В.В. Підвисоцького, Одесса, 19–20 квітня 2012 р. / Одеський національний медичний університет; под ред. В.М. Запорожан [і інш.]. – Одесса, 2012. – С. 43.

25. Sahab, Haidar A. Effect of transplanted mesenchymal stem cells (mcs) of adipose tissue on the defect size of skin surface of infected wound in laboratory rats – Vistar / Haidar A. Sahab // Abstract book V International Scientific Interdisciplinary Conference for medical students and young doctors, Kharkiv, April 25<sup>th</sup>–26<sup>th</sup> 2012 / Kharkiv National Medical University; edit.: V.D. Markovsky [et al.]. – Kharkiv, 2012. – P. 28.

26. Сахаб, Хайдар Али Бактериологическая оценка инфицированных ран после трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани у экспериментальных животных / Хайдар А. Сахаб // Актуальные проблемы современной медицины: материалы 66-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием, Минск, 25–27 апреля 2012 г. / Белорусский государственный медицинский университет; под ред. О.К. Кулаги, Е.В. Барковского. – Минск, 2012. – С. 1487–1489.

27. Сахаб, Хайдар Али Получение мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и их применение в комплексном лечении гнойных ран (экспериментальное исследование) / Хайдар А. Сахаб // Актуальные проблемы

современной медицины: материалы 66-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием, Минск, 25–27 апреля 2012 г. / Белорусский государственный медицинский университет; под ред. О.К. Кулаги, Е.В. Барковского. – Минск, 2012. – С. 1489–1490.

28. Sahab, Haidar A. Effect of transplantation of mesenchymal stem cells of adipose tissue on the dynamics of healing of long-term non-healing infected wounds in experimental condition / Haidar A. Sahab // Abstract Book 4th International Medical Congress for Students and Young Doctors, Chisinau, May 17<sup>th</sup>–19<sup>th</sup> 2012 / State Medical and Pharmaceutical University; edit.: Prisacari Viorel [et al.]. – Chisinau, Republic of Moldova, 2012. – P. 49.

29. Sahab, Haidar A. Adipose Tissue Mesenchymal Stem Cells Transplantation for Wound Treatment: Increased Chances of Wound Healing? / Haidar A. Sahab // Abstract book The 3rd International Scientific Conference of Iranian Students in Belarus, Minsk, June 2<sup>th</sup> 2012 / Research department of the Iranian Embassy in Belarus; edit.: A. Bakoui [et al.]. – Minsk, 2012. – P. M3014.

30. Сахаб, Хайдар А. Цитологическая оценка эффективности аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани у экспериментальных животных с длительно незаживающими инфицированными ранами / Хайдар А. Сахаб, В.А. Шпудейко // Актуальные проблемы современной медицины: тезисы IV (66) Международного научно-практического конгресса студентов и молодых ученых, Киев, 17–19 октября 2012 / Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца; редкол.: В.В. Мороз [и др.]. – Киев, 2012. – С. 21.

31. Сахаб, Хайдар А. Морфометрическая оценка эффективности аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани у экспериментальных животных с длительно незаживающими инфицированными ранами / Хайдар А. Сахаб, В.А. Шпудейко // Студенческая медицинская наука XXI века: тезисы XI Международной конференции, Витебск, 1–2 ноября 2012 / Витебский государственный медицинский университет; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2012. – С. 56–57.

### Патенты

32. Уведомление о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение Национального центра интеллектуальной собственности Республики Беларусь № а20120770 от 16.07.2012 «Способ лечения длительно незаживающей инфицированной раны у лабораторного животного» / Х.А. Сахаб, С.И. Третьяк, Е.В. Баранов.

## РЭЗІЮМЭ

Сахаб Хайдар Алі Нур

### Эксперыментальнае абгрунтаванне эфектыўнасці прымянення мезенхімальных ствалавых клетак з тлушчавой тканкі ў комплексным лячэнні інфіцыраваных ран

**Ключавыя словы:** мезенхімальныя ствалавыя клеткі, тлушчавая тканка, працягла незагойныя раны, інфіцыраваная рана.

**Мэта працы:** эксперыментальнае абгрунтаванне і распрацоўка метадыкі выкарыстання мезенхімальных ствалавых клетак з тлушчавай тканкі ў комплексным лячэнні інфіцыраваных ран.

**Метады даследавання:** клінічны, планіметрычны, гісталагічны, марфаметрычны, цыталагічны, лабараторны, мікрабіялагічны, статыстычны.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** у гэтай працы на эксперыментальнай мадэлі жывёл быў вывучаны метады лакальнай трансплантацыі мезенхімальных ствалавых клетак, атрыманых з тлушчавой тканкі. Даказана, што лакальная трансплантацыя аўталагічных мезенхімальных ствалавых клетак стымулюе рэгенератыўныя працэсы, павялічвае хуткасць эпітэлізацыі і дынаміку зажыўлення працягла незагойных інфіцыраваных ран, купіруе рэакцыі запалення ў больш раннія тэрміны ў параўнанні з традыцыйнымі метадамі лячэння, а таксама спрыяе паўнаўраўнаважанасці аднаўленню скурных покрываў. Удасканалена эксперыментальная мадэль гнойнай раны, распрацавана метадыка атрымання і трансплантацыі мезенхімальных ствалавых клетак з тлушчавай тканкі. Паказана, што лакальная трансплантацыя аўталагічных мезенхімальных ствалавых клетак у комплексным лячэнні інфіцыраваных ран памяншае тэрміны ачышчэння ран ад гнойна-некротычных мас, стымулюе ўтварэнне грануляцыйнай тканкі і краявой эпітэлізацыі, прыгнятае рост патагенных мікраарганізмаў, што ў выніку дазваляе значна знізіць сярэдні тэрмін лячэння працягла незагойных ран.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні:** распрацаваная метадыка лячэння працягла незагойных інфіцыраваных ран ўкаранёная ў ЦНДЛ БДМУ, а таксама ў навучальны працэс устаноў адукацыі «Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт» і «Гомельскі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт».

**Вобласць прымянення:** хірургія.

## РЕЗЮМЕ

**Сахаб Хайдар Али Нур**

### **Экспериментальное обоснование эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении инфицированных ран**

**Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, жировая ткань, длительно незаживающие раны, инфицированная рана.

**Цель работы:** экспериментальное обоснование и разработка методики использования мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении инфицированных ран.

**Методы исследования:** клинический, планиметрический, гистологический, морфометрический, цитологический, лабораторный, микробиологический, статистический.

**Полученные результаты и их новизна:** в настоящей работе на экспериментальной модели животных был изучен метод локальной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани. Доказано, что локальная трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток стимулирует регенеративные процессы, увеличивает скорость эпителизации и динамику заживления длительно незаживающих инфицированных ран, купирует воспалительные реакции в более ранние сроки по сравнению с традиционными методами лечения, а также способствует полноценному восстановлению кожных покровов. Усовершенствована экспериментальная модель гнойной раны, разработана методика получения и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани. Показано, что локальная трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в комплексном лечении инфицированных ран уменьшает сроки очищения ран от гнойно-некротических масс, стимулирует образование грануляционной ткани и краевой эпителизации, угнетает рост патогенных микроорганизмов, что в итоге позволяет существенно снизить среднюю продолжительность лечения длительно незаживающих ран.

**Рекомендации по использованию:** разработанная методика лечения длительно незаживающих инфицированных ран внедрена в ЦНИЛ БГМУ, а также в учебный процесс учреждений образования «Белорусский государственный медицинский университет» и «Гомельский государственный медицинский университет».

**Область применения:** хирургия.

## SUMMARY

**Sahab Haidar Ali Nur**

### **Experimental evaluation of the effectiveness of application mesenchymal stem cells from adipose tissue in treatment of infected wounds**

**Keywords:** mesenchymal stem cells, adipose tissue, long-term nonhealing wounds, infected wound.

**Aim of research:** experimental evaluation and development of methods of using mesenchymal stem cells from adipose tissue in treatment of infected wounds.

**Methods:** clinical, planimetric, histologic, morphometric, cytological, laboratory, microbiological, statistical.

**Obtained result and their novelty:** this is work to report a method of local transplantation of mesenchymal stem cells derived from adipose tissue on experimental animal model. The following are proven: that local transplantation of autologous mesenchymal stem cells stimulates regenerative processes, increases the rate of epithelialization and wound healing dynamics of long-term non-healing infected wounds, suppresses the inflammatory response in earlier periods, compared with the traditional methods of treatment, and promotes full recovery of the skin.

Experimental model of purulent wounds is improved; a technique of preparation and transplantation of mesenchymal stem cells from adipose tissue is developed. It is shown that local transplantation of autologous mesenchymal stem cells in the treatment of infected wounds reduces time of wound cleansing from necrotic masses, stimulates the formation of granulation tissue and marginal epithelization, inhibits the growth of pathogenic micro-organisms, which ultimately significantly reduce the average duration of treatment of long-term non-healing wounds.

**Recommendations on usage:** treatment method of infected wounds developed is introduced into Belarusian State Medical University Central Research Laboratory, as well as in the learning process of educational institutions «Belarusian State Medical University» and «Gomel State Medical University».

**Field of application:** Surgery.

Подписано в печать 06.03.13. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Zoom».

Печать ризографическая. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,63. Тираж 60 экз. Заказ 106.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».  
ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.  
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.