

В.Г. Лебедев<sup>1</sup>, Ю.Б. Дешевой<sup>1</sup>, А.А. Темнов<sup>1,4</sup>, Т.А. Астрелина<sup>1</sup>, К.А. Рогов<sup>2</sup>,  
Т.А. Насонова<sup>1</sup>, А.В. Лырщикова<sup>1</sup>, О.А. Добрынина<sup>1</sup>, А.Н. Склифас<sup>3</sup>, Б.Б. Мороз<sup>1</sup>

## ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ И ПАРАКРИННЫХ ФАКТОРОВ КОНДИЦИОННОЙ СРЕДЫ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ЛУЧЕВЫХ ЯЗВ ПРИ ТЕРАПИИ ТЯЖЕЛЫХ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ У КРЫС

<sup>1</sup> Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

<sup>2</sup> НИИ морфологии человека Минобрнауки РФ, Москва.

<sup>3</sup> Институт биофизики клетки РАН, Московская область, Пущино

<sup>4</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Московская область, Долгопрудный.

Контактное лицо: Владимир Георгиевич Лебедев: vgleb468@yandex.ru

### РЕФЕРАТ

**Цель:** Изучение влияния трансплантации культивированных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) и клеток стромально-васкулярной фракции (СВФ) жировой ткани, а также введения паракринных факторов (ПФ) кондиционной среды при изолированном или комбинированном применении на течение тяжелых местных радиационных поражений кожи в эксперименте.

**Материал и методы:** Крыс инбредной линии Wistar–Kyoto подвергали локальному воздействию рентгеновского излучения в подвздошно-поясничной области спины в дозе 110 Гр. Трансплантацию культивированных ММСК проводили двукратно в дозах  $2,1 \times 10^6$  и  $2,6 \times 10^6$  на 28-е и 35-е сутки после облучения. СВФ жировой ткани, вводили в те же сроки в дозах  $3,2 \times 10^6$  и  $2,8 \times 10^6$  соответственно. Паракринные факторы вводили пятикратно с 1-х по 10-е сутки после облучения. Тяжесть лучевого поражения кожи и эффекты терапии оценивали в динамике с помощью планиметрии и патоморфологических методов.

**Результаты:** Радиационное воздействие вызывало тяжелые лучевые поражения кожи с длительно незаживающими язвами, образовавшимися к 21–25-м суткам после облучения. Площадь лучевых язв у крыс контрольной группы в период с 26-х до 83-х суток медленно уменьшалась от  $2,76 \pm 0,12$  см<sup>2</sup> до  $1,85 \pm 0,13$  см<sup>2</sup>. У 50 % животных контрольной группы язвы сохранялись более 4 мес после облучения. У крыс опытных групп отмечалось более интенсивное заживление и уменьшение площади лучевых язв. При изолированном введении культивированных ММСК и СВФ уменьшение площади язв по сравнению с контролем отмечалось на 104–125-е сутки, а при введении ПФ – на 83-е сутки после облучения,  $p < 0,05$ . В контрольной группе к 118-м суткам после облучения лучевые язвы заживали только у 25 % крыс, а в опытных группах с изолированным введением культивированных ММСК, СВФ и ПФ полная эпителизация ран с образованием атрофического рубца к этому сроку наблюдалась у 40–55 % крыс. В условиях комбинированного применения стволовых клеток и ПФ количество животных с полным заживлением радиационных язв к 118-м суткам составляло 85–100 %,  $p < 0,05$ .

**Заключение:** Трансплантация культивированных ММСК и СВФ жировой ткани, а также введение ПФ кондиционной среды могут усиливать регенерационные процессы и стимулировать восстановление кожи, способствуя более раннему заживлению хронических лучевых язв. Причем при сочетанном введении ПФ и трансплантации стволовых клеток эффективность заживления радиационных язв возрастает.

**Ключевые слова:** мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, стромально-васкулярная фракция, жировая ткань, паракринные факторы, кондиционная среда, рентгеновское излучение, клеточная терапия, лучевые язвы кожи, крысы

**Для цитирования:** Лебедев В.Г., Дешевой Ю.Б., Темнов А.А., Астрелина Т.А., Рогов К.А., Насонова Т.А., Лырщикова А.В., Добрынина О.А., Склифас А.Н., Мороз Б.Б. Влияние мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани и паракринных факторов кондиционной среды на заживление лучевых язв при терапии тяжелых радиационных поражений кожи у крыс // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2021 Т.66. №2. С. 5–12

DOI: 10.12737/1024-6177-2021-66-2-5-12

### Введение

При воздействии ионизирующего излучения на человека одним из наиболее распространенных видов повреждений являются лучевые поражения кожи. Тяжелые местные лучевые поражения, возникающие при радиационных авариях или как осложнения при радиотерапии опухолей, характеризуются развитием длительно незаживающих хронических язв на фоне нарушения трофики облученной ткани, степень деструкции которой зависит от вида, дозы и мощности излучения [1–3]. Имеются данные литературы о том, что 20–40 % пациентов, подвергшихся лучевой терапии по поводу онкологических заболеваний, получают местные лучевые ожоги кожи различной интенсивности [1, 4]. Лечение хронических радиационных язв с применением обычных консервативных методов является очень сложным процессом, и

может сопровождаться некрозом и фиброзом тканей [5, 6]. Кроме того, радиационные язвы часто инфицированы, что может приводить к сепсису [1].

В последние годы экспериментальные и клинические данные показывают, что перспективным способом лечения местных лучевых поражений является применение клеточной терапии с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК), выделенных из костного мозга или жировой ткани, причем жировая ткань является предпочтительным источником стволовых клеток [7–11]. Стволовые клетки жировой ткани могут применяться как в виде культивированных ММСК [7–9], так и в виде стромально-васкулярной фракции (ССВФ) [10, 11]. Высокая концентрация ММСК в СВФ позволяет получать необходимое для трансплантации количество стволовых клеток без наработки их в

культуре. Трансплантация культивированных ММСК или клеток СВФ жировой ткани может стимулировать восстановление и способствовать более раннему заживлению лучевых поражений кожи [7 – 11]. Однако при очень тяжелых местных лучевых поражениях, вызывающих развитие длительно незаживающих лучевых язв, эффекты стимуляции восстановления бывают недостаточно выражены, что обуславливает актуальность разработки более совершенных схем клеточной терапии.

В литературе обсуждаются различные подходы к усилению эффектов трансплантации ММСК. Одним из возможных путей повышения эффективности клеточной терапии может явиться применение паракринных факторов ПФ, выделяемых стволовыми клетками в процессе культивирования. Полагают, что благоприятный эффект трансплантации ММСК при различных видах патологических процессов связан с трофическим действием продуцируемых ими ферментов, цитокинов и ростовых факторов, необходимых для регенерации тканей [12, 13]. Установлено, что ПФ, выделяемые стволовыми клетками, могут проявлять стимулирующее воздействие на регенерацию при лечении химических и термических поражений [14]. Возможно, что клеточная терапия тяжелых местных лучевых поражений в условиях комбинированного применения стволовых клеток жировой ткани и ПФ, выделенных при культивировании ММСК, может усилить стимулирующие эффекты на восстановление пораженных тканей и ускорить заживление радиационных язв.

Целью работы является изучение влияния трансплантации культивированных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) и клеток СВФ жировой ткани, а также введения ПФ кондиционной среды при изолированном или комбинированном применении на течение тяжелых местных радиационных поражений кожи в эксперименте.

### Материал и методы

Эксперименты выполнены на 88 крысах-самцах инбредной линии Wistar-Kyoto массой тела 250–280 г, полученных из питомника лабораторных животных ФИБХ РАН (г. Пушкино). Животные содержались в оптимальных условиях для данного вида, на стандартном рационе со свободным доступом к питьевой воде. Условия содержания и процедура эксперимента соответствовали общим правилам работы с использованием экспериментальных животных.

Крыс подвергали локальному воздействию рентгеновского излучения в подвздошно-поясничной области спины на установке ЛНК-268 (РАП 100 10) в дозе 110 Гр при мощности дозы 20,0 Гр/мин, напряжении 30 кВ, силе тока 6,1 мА, фильтр 0,1 мм Al, площадь поля облучения на поверхности кожи составляла 8,5 см<sup>2</sup>. Эти параметры лучевого воздействия позволяют получать тяжелые лучевые поражения кожи с длительно незаживающими язвами у крыс [15].

Проведено две серии экспериментов. В 1-ой серии опыта было облучено 40 крыс. После облучения животные были разделены на четыре группы: 1-я группа – облученный контроль, 2-я группа – животные с введением культивированных ММСК, 3-я группа – введение СВФ, 4-я группа – крысы с введением ПФ кондиционной среды. Во 2-ой серии опыта было облучено 48 крыс, которые после облучения были разделены на 6 групп: 1-я группа – облученный контроль, 2-я группа – животные с введением культивированных ММСК, 3-я группа – крысы с введением СВФ, 4-я группа – введение ПФ, 5-я группа – введение ПФ и трансплантация культивированных ММСК, 6-я группа – введение ПФ и трансплантация клеток СВФ.

Жировую ткань для получения ММСК и СВФ брали от интактных крыс. При заборе биоматериала животных наркотизировали путем внутрибрюшинного введения препарата золетил (Virbas, Франция) в дозе 10 мг/кг. Для изучения влияния культивированных ММСК жировой ткани использовали клетки второго пассажа, полученные от интактных крыс и размноженные *in vitro* [16]. Культивированные ММСК вводили двукратно в дозах  $2,1 \times 10^6$  и  $2,6 \times 10^6$  на 28-е и 35-е сутки после действия радиации соответственно. Выделение СВФ проводили путем ферментативной обработки размельченной жировой ткани в 0,015 %-ом растворе коллагеназы IA для растворения коллагеновых волокон и освобождения клеток. После центрифугирования и отмывки от фермента получали очищенную СВФ [16, 17]. Клетки СВФ вводили двукратно на 28-е и на 35-е сут после облучения в дозах  $3,2 \times 10^6$  и  $2,8 \times 10^6$  соответственно. Подсчет и оценку жизнеспособности клеток проводили на автоматическом счетчике клеток Countess (Invitrogen, США). Содержание живых клеток перед трансплантацией во всех экспериментах составляло 87–95 %. Суспензию культивированных ММСК или клеток СВФ в 1 мл раствора Хенкса вводили под кожу в 5 точек (по 0,2 мл на точку) вокруг лучевой язвы, отступив 5 мм от края. ПФ кондиционной среды культивированных ММСК получали по методу [18] и вводили подкожно в объеме 1,0 мл (общий белок 8 мг/мл) в 5 точек вокруг лучевой язвы на 1, 3, 6, 8 и 10-е сутки после облучения. Оптимальные сроки введения клеток и ПФ были определены на основании ранее проведенных экспериментов.

После облучения анализировали динамику изменения площади радиационных язв и тяжести поражения у животных опытных групп по сравнению с облученным контролем. Площадь язв определяли с помощью планиметрии, которую проводили ежедневно, начиная с 14-х сут после облучения. У каждой крысы в фиксированные отрезки времени измеряли площадь лучевого поражения. Для этого проводили фотосъемку цифровой камерой Canon с последующей обработкой изображений и определением площади язвенной поверхности по программе AutoCad 14. Тяжесть течения лучевого поражения кожи оценивали в динамике по клиническим проявлениям, с использованием бальной шкалы оценок [19]. У части животных в 1-ой серии опыта через 5 мес после облучения проводили гистологические исследования. Пораженный участок кожи по площади и глубине вырезали с захватом здоровых тканей, фиксировали в 10 %-ом р-ре формалина и заливали в парафин. Срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Морфометрическое исследование включало подсчет клеток воспалительного инфильтрата, и среди них – фибробластов и фиброцитов, а также определяли отношение числа фибробластов к общему числу клеток. При анализе проводилась сравнительная количественная оценка клеточного состава созревающей грануляционной ткани в центре и на периферии дна рубцующихся язв.

Количественную обработку данных проводили с помощью программы Image Tool for Windows, v. 3.0 (UTHSCSA, США). После проверки выборки на нормальность распределения вычисляли среднюю арифметическую величину (M) и стандартное отклонение средней арифметической (m). Проверку достоверности различий осуществляли по критерию Стьюдента (t). Математическую обработку количественных данных

Таблица 1

Площадь лучевых язв кожи у крыс контрольной и опытных групп с трансплантацией культивированных ММСК, СВФ жировой ткани и введением ПФ при изолированном и комбинированном применении ( $M \pm m$ ,  $\text{cm}^2$ )  
 The area of radiation skin ulcers in rats of the control and experimental groups with transplantation of cultured MMSC, SVF of adipose tissue and the introduction of PF in isolated and combined use ( $M \pm m$ ,  $\text{cm}^2$ )

| Время после облучения, сут | 1-я              | 2-я          | 3-я         | 4-я        | 5-я            | 6-я группа    |
|----------------------------|------------------|--------------|-------------|------------|----------------|---------------|
|                            | Контроль<br>n=18 | ММСК<br>n=18 | СВФ<br>n=18 | ПФ<br>n=18 | ПФ+ММСК<br>n=8 | ПФ+СВФ<br>n=8 |
| 14                         | 7,58±0,22        | 7,56±0,31    | 7,54±0,37   | 6,66±0,25* | 5,91±0,22*     | 6,65±0,40*    |
| 21                         | 4,68±0,17        | 4,72±0,17    | 4,71±0,17   | 4,78±0,29  | 4,31±0,53      | 4,31±0,41     |
| 26                         | 2,76±0,12        | 2,94±0,12    | 2,66±0,15   | 3,07±0,18  | 2,89±0,36      | 3,07±0,20     |
| 33                         | 2,23±0,12        | 2,65±0,14*   | 2,22±0,13   | 2,63±0,13* | 2,59±0,31      | 2,54±0,24     |
| 41                         | 2,09±0,10        | 2,34±0,12    | 2,08±0,13   | 2,63±0,24* | 2,36±0,23      | 2,45±0,20     |
| 56                         | 2,09±0,12        | 1,92±0,10    | 1,96±0,13   | 1,91±0,08  | 1,94±0,16      | 2,43±0,23     |
| 62                         | 2,03±0,11        | 1,77±0,12    | 2,04±0,11   | 2,24±0,14  | 2,17±0,17      | 2,24±0,16     |
| 69                         | 2,21±0,16        | 1,85±0,11    | 2,21±0,12   | 1,99±0,13  | 1,91±0,21      | 2,26±0,17     |
| 76                         | 1,86±0,13        | 1,60±0,11    | 1,91±0,11   | 1,85±0,15  | 1,94±0,22      | 2,11±0,18     |
| 83                         | 1,85±0,13        | 1,54±0,13    | 1,81±0,10   | 1,41±0,15* | 1,61±0,20      | 1,67±0,14*    |
| 97                         | 1,20±0,11        | 1,01±0,13    | 1,19±0,17   | 1,16±0,13  | 0,29±0,09*#    | 0,35±0,11*#   |
| 104                        | 0,94±0,13        | 0,56±0,11*   | 0,83±0,17   | 0,68±0,13  | 0,17±0,06*#    | 0,09±0,05*#   |
| 111                        | 0,54±0,08        | 0,29±0,07*   | 0,34±0,07   | 0,32±0,09  | 0,02±0,02*#    | 0,023±0,02*#  |
| 118                        | 0,32±0,09        | 0,10±0,04*   | 0,12±0,03*  | 0,14±0,04  | 0,01±0,001*#   | 0,001±0,001*# |
| 125                        | 0,16±0,06        | 0,03±0,01*   | 0,02±0,01*  | 0,05±0,01  | 0,002±0,002*#  | 0,001±0,001*# |

Примечание: n – количество животных в группе;

\* – статистически значимые различия всех опытных групп по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ );

# – статистически значимые различия группы 5 и 6 по сравнению с показателями группы 2 и 3 соответственно ( $p < 0,05$ )

гистологических препаратов проводили с использованием непараметрической статистики с вычислением медианы и межквартильного размаха. Сравнение групп проводили при помощи метода множественных сравнений Kruskal–Wallis (пакет статистических программ Statistica-8 StatSoft).

### Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены объединенные данные изменения площади лучевых язв после облучения у крыс контрольной и опытных групп по двум сериям экспериментов. В начальный период после воздействия радиации клиническая картина поражения кожи у всех животных была сходна. Так, на 8–11-е сутки после локального облучения отмечались проявления сухого дерматита, а к 14–16-м суткам появлялась экссудация, и сухой дерматит переходил во влажный. Во всех группах к 21–25-м суткам на коже крыс образовывались глубокие лучевые язвы, покрытые плотным струпом темно-коричневого цвета. В контрольной группе животных наблюдалось очень медленное заживление с волнообразным течением патологического процесса. Площадь лучевых язв у крыс контрольной группы в период с 26-х до 83-х суток после облучения снижалась в пределах от  $2,76 \pm 0,12 \text{ cm}^2$  до  $1,85 \pm 0,13 \text{ cm}^2$  соответственно. У 50 % животных контрольной группы язвы сохранялись более 4 мес после облучения, и средняя площадь радиационных язв на 118–125-е сутки после облучения составляла от  $0,32 \pm 0,09 \text{ cm}^2$  до  $0,16 \pm 0,06 \text{ cm}^2$  соответственно.

Во всех опытных группах до 76-х сут после воздействия излучения динамика изменений площади лучевых язв у крыс статистически значимо не отличалась от показателей облученного контроля. Затем у крыс опытных групп отмечалось более интенсивное заживление, и наблюдалось более выраженное уменьшение площади лучевых язв (табл. 1). При введении культивированных ММСК

(группа 2) и СВФ (группа 3) статистически значимое уменьшение площади язв ( $p < 0,05$ ) отмечалось на 104–125-е сутки и 118–125-е сут соответственно. В группе крыс с введением ПФ (группа 4) статистически значимое уменьшение площади лучевых язв ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем отмечалось на 83-е сутки. При комбинированном применении ПФ и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (группа 5 и группа 6) наблюдалось более выраженное уменьшение площади лучевых язв, и статистически значимые различия по сравнению с группой облученного контроля отмечались в период 83–125-е сут после облучения (табл. 1).

По динамике тяжести клинических проявлений лучевого поражения, выраженной в баллах, животные опытных групп отличались от контрольной группы более легким течением клинических проявлений (табл. 2). С 76-х сут после облучения различия тяжести поражения, выраженной в баллах, у животных контрольной и опытных групп были статистически значимыми ( $p < 0,05$ ). Визуально струпы у крыс опытных групп были более тонкими и поверхностными, чем в контрольной группе. К 118-м сут после облучения в контрольной группе лучевые язвы заживали только у 25 % крыс, в то время как в опытных группах 2, 3 и 4 наблюдалась полная эпителизация ран с образованием атрофического рубца у 40–55 % крыс. Причем в условиях комбинированного применения стволовых клеток и ПФ кондиционной среды (группы 5 и 6) количество животных с полным заживлением радиационных язв составляло 85–100 %, что статистически значимо отличалось от контрольной группы (рис. 1).

У животных 1, 2, 3 и 4-ой групп в 1-ой серии опыта через 5 мес после облучения были проведены гистологические исследования для оценки состояния пораженной кожи после видимого заживления лучевых язв. В этот период во всех группах была отмечена полная эпителизация поврежденной кожи у крыс. Новообразованный

Таблица 2

Тяжесть течения патологического процесса у крыс контрольной и опытных групп с трансплантацией культивированных ММСК, СВФ жировой ткани и введением ПФ при изолированном и комбинированном применении (M±m, баллы)

The severity of the pathological process in rats of the control and experimental groups with transplantation of cultured MMSC, SVF of adipose tissue and the introduction of PF in isolated and combined use (M ± m, points)

| Время после облучения, сутки | 1-я              | 2-я          | 3-я         | 4-я        | 5-я            | 6-я группа    |
|------------------------------|------------------|--------------|-------------|------------|----------------|---------------|
|                              | Контроль<br>n=18 | ММСК<br>n=18 | СВФ<br>n=18 | ПФ<br>n=18 | ПФ+ММСК<br>n=8 | ПФ+СВФ<br>n=8 |
| 14                           | 1,39±0,05        | 1,42±0,05    | 1,42±0,05   | 1,68±0,07* | 1,72±0,10*     | 1,66±0,10*    |
| 21                           | 2,79±0,06        | 2,76±0,05    | 2,74±0,03   | 2,71±0,07  | 2,91±0,10      | 2,91±0,17     |
| 26                           | 3,41±0,16        | 3,65±0,15    | 3,53±0,20   | 3,49±0,20  | 3,44±0,33      | 3,50±0,37     |
| 33                           | 3,72±0,16        | 3,60±0,13    | 3,46±0,15   | 3,08±0,08* | 3,16±0,10*     | 3,25±0,20     |
| 41                           | 3,43±0,11        | 3,13±0,10*   | 3,18±0,08   | 2,92±0,05* | 3,19±0,10      | 3,22±0,13     |
| 56                           | 3,25±0,11        | 3,51±0,13    | 2,99±0,08   | 3,40±0,12  | 3,41±0,27      | 3,34±0,23     |
| 62                           | 3,57±0,18        | 3,51±0,17    | 2,97±0,08*  | 3,47±0,20  | 3,19±0,20      | 3,59±0,27     |
| 69                           | 3,82±0,21        | 3,63±0,17    | 3,32±0,12*  | 3,72±0,22  | 3,34±0,20      | 3,31±0,17     |
| 76                           | 4,03±0,18        | 3,56±0,13*   | 3,35±0,10*  | 3,72±0,18  | 3,16±0,23*     | 3,09±0,07*    |
| 83                           | 4,22±0,19        | 3,07±0,23*   | 3,01±0,15*  | 3,08±0,18* | 3,16±0,33*     | 3,09±0,20*    |
| 97                           | 3,67±0,19        | 2,57±0,27*   | 2,72±0,22*  | 2,61±0,30* | 1,44±0,37*#    | 1,28±0,43*#   |
| 104                          | 3,29±0,29        | 2,14±0,28*   | 2,33±0,23*  | 2,07±0,30* | 0,75±0,37*#    | 0,50±0,20*#   |
| 111                          | 2,74±0,27        | 1,72±0,23*   | 1,79±0,22*  | 1,71±0,30* | 0,25±0,10*#    | 0,25±0,11*#   |
| 118                          | 1,89±0,29        | 0,89±0,20*   | 1,19±0,17*  | 1,00±0,17* | 0,16±0,13*#    | 0,11±0,08*#   |
| 125                          | 1,36±0,29        | 0,72±0,17    | 0,57±0,12*  | 0,54±0,17* | 0,06±0,07*#    | 0,07±0,08*#   |

Примечание: n – количество животных в группе;

\* – статистически значимые различия всех опытных групп по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ );

# – статистически значимые различия группы 5 и 6 по сравнению с показателями группы 2 и 3, соответственно ( $p < 0,05$ )

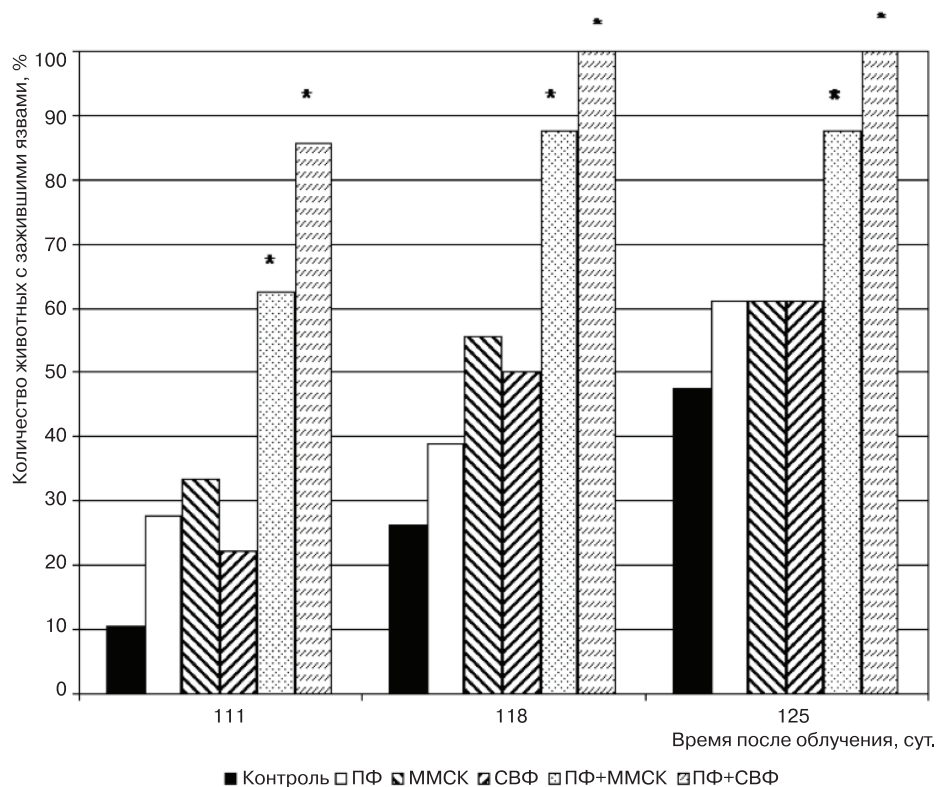


Рис.1. Динамика заживления кожных язв у крыс контрольной и опытных групп с трансплантацией культивированных ММСК, СВФ жировой ткани и введением ПФ при изолированном и комбинированном применении.

По оси ординат – процент животных с зажившими язвами от общего количества животных в группе через 111 – 125 сут после облучения; по оси абсцисс – время после облучения, сут; \* – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ )

Fig. 1. The dynamics of healing of skin ulcers in rats of the control and experimental groups with transplantation of cultured MMSC, SVF of adipose tissue and the introduction of PF in isolated and combined use.

The ordinate is the percentage of animals with healed ulcers from the total number of animals in the group at 111 – 125 days after irradiation; abscissa – time after irradiation, days. \* – statistically significant differences compared to control ( $p < 0,05$ )

Таблица 3

**Количественная оценка клеточных популяций в участке пораженной кожи у контрольных и опытных животных через 5 мес после облучения при изолированном введении культивированных ММСК, СВФ жировой ткани и ПФ кондиционной среды**  
**Quantification of cell populations in the affected skin area in control and experimental animals at 5 months after irradiation with isolated introduction of cultured MMSC, SVF of adipose tissue and PF of the conditioned medium**

| Группы              | Показатели                                    | Ме (25;75 процентиля) |
|---------------------|-----------------------------------------------|-----------------------|
| Контроль, облучение | Все клетки воспалительного инфильтрата        | 238,5 (177; 375)      |
|                     | Фибробласты, фиброциты                        | 127,5 (102,5; 171,5)  |
|                     | Отношение фибробласты, фиброциты / все клетки | 0,53 (0,43; 0,59)     |
| Облучение ММСК +    | Все клетки воспалительного инфильтрата        | 185 (148,5; 199,5)    |
|                     | Фибробласты, фиброциты                        | 151 (111; 177,5)      |
|                     | Отношение фибробласты, фиброциты / все клетки | 0,88 (0,83; 0,93)     |
| Облучение + СВФ     | Все клетки воспалительного инфильтрата        | 167,5 (139,5; 193)    |
|                     | Фибробласты, фиброциты                        | 123 (102,5; 154)      |
|                     | Отношение фибробласты, фиброциты / все клетки | 0,79 (0,7; 0,85)      |
| Облучение + ПФ      | Все клетки воспалительного инфильтрата        | 177 (134,5; 247,5)    |
|                     | Фибробласты, фиброциты                        | 130 (97; 187,5)       |
|                     | Отношение фибробласты, фиброциты / все клетки | 0,74 (0,71; 0,8)      |

эпидермис характеризовался многорядностью и содержал роговой слой. Подлежащая рубцующаяся ткань была неравномерной толщины, с участками гиалиноза. Наиболее широкий рубцовый слой отмечался у животных контрольной группы. В поверхностных участках выявлены сосуды с утолщенными стенками. Придатки кожи в области заживших язв отсутствовали во всех группах животных. В подкожной мышце выявлялись деформирующие рубцовые изменения с умеренной диффузной круглоклеточной инфильтрацией. Из-за разрастания фиброзной ткани в глубоких отделах язвенных дефектов и жировой клетчатке количество липоцитов было снижено, наиболее отчетливо грубые склеротические изменения выявлены у животных контрольной группы. Количественные морфометрические исследования показали, что у леченых животных отмечается снижение количества иммунокомпетентных клеток и относительное увеличение содержания фибробластов и фиброцитов в соединительной ткани дермы (табл.3). Эти данные свидетельствуют о снижении воспалительной реакции и ускорении созревания грануляционной ткани в коже леченых животных, что создает благоприятные условия для течения регенераторных процессов.

Ранее возможности применения ММСК жировой ткани для стимулирования регенерации облученной ткани и заживления радиационных поражений были продемонстрированы в эксперименте на различных моделях [7–9]. Показана также эффективность лечения пациентов с хроническими лучевыми язвами при использовании аутологичных некультивированных стволовых клеток, полученных из жировой ткани [10], и отмечен положительный эффект клеточной терапии в сочетании с применением искусственной кожи и введением фактора роста фибробластов [20].

Вместе с тем, не установлен оптимальный источник стволовых клеток для эффективной терапии тяжелых местных лучевых поражений в эксперименте и клинике. Применялись как культивированные ММСК, так и клетки СВФ жировой ткани, причем наличие гетероген-

ного клеточного состава СВФ может приводить к лучшим терапевтическим результатам, которые наблюдались в сравнительных исследованиях на животных [21–23]. Собственные ММСК, находящиеся в облученной ткани, восприимчивы к радиационному воздействию, но могут выживать с уменьшением функциональной активности [24].

Способность ММСК играть роль в заживлении кожных ран, по-видимому, связана с их противовоспалительными свойствами, которые опосредуются высвобождением растворимых паракринных факторов. Трансплантация ММСК может приводить к улучшению перфузии крови, плотности капилляров и повышению уровня фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в облученной ткани. ММСК обладают способностью дифференцироваться в кератиноциты, а также выделяют фактор роста фибробластов и VEGF, который является важнейшим регулятором ангиогенеза. На клеточном уровне введение ММСК может стимулировать пролиферацию фибробластов и увеличивать экспрессию цитокинов, таких как интерлейкин-6, bFGF и VEGF, секретируемых фибробластами после радиационного воздействия [25, 26]. Большинство авторов считают, что благоприятное действие ММСК, в основном, связано с их паракринным влиянием, выработкой различных факторов роста, усилением неоангиогенеза, снижением местной воспалительной реакции.

Имеются доказательства того, что паракринные факторы, выделяемые ММСК при культивировании, могут улучшать заживление ран и ангиогенез [13]. Показано, что кондиционные среды культивированных ММСК стимулируют пролиферацию фибробластов дермы, что указывает на возможность паракринной активации фибробластов с помощью ММСК [25]. Было обнаружено, что те же фибробласты, культивируемые в кондиционных средах ММСК, выделяют повышенные количества коллагена I типа.

В последнее время все большее внимание привлекает возможность использования кондиционных сред, содержащих биологически активные факторы, продуцируемые

при культивировании ММСК, для терапии различных заболеваний. Использование факторов кондиционной среды может иметь преимущества по сравнению с трансплантацией живых стволовых клеток с точки зрения их получения, хранения и возможностей как лечебного средства, готового к применению, что имеет значительные перспективы для регенеративной медицины.

Проведенное нами исследование показывает, что у животных, подвергнутых высоким дозам локального облучения, введение ПФ кондиционной среды может усиливать регенерационные процессы и оказывать стимулирующее влияние на заживление лучевых язв, сопоставимое с эффектами трансплантации культивированных ММСК или клеток СВФ жировой ткани. Причем при сочетанном введении факторов кондиционной среды и трансплантации стволовых клеток эффективность заживления радиационных язв возрастает. Полученные данные позволяют предполагать, что применение препарата, содержащего ПФ кондиционной среды, при комбинированном лечении тяжелых местных радиационных поражений кожи может уменьшить степень воспалительной реакции, и создать благоприятные условия для проведения более эффективной терапии длительно незаживающих лучевых язв с использованием мезенхимальных стволовых клеток.

Применение ПФ и мезенхимальных стволовых клеток может быть целесообразным также в тех случаях, когда доза облучения не известна, но может быть достаточно высокой, а по клиническим данным в ранние сроки определить степень радиационного поражения и её последствия не представляется возможным. В дальнейшем предстоит уточнить эффективность применения ПФ в сочетании с трансплантацией стволовых клеток жировой ткани в условиях их многократного введения и при меньших дозах облучения для оптимизации их влияния на репаративные процессы.

### Заключение

Таким образом, трансплантация культивированных ММСК или клеток СВФ жировой ткани, а также введение ПФ кондиционной среды могут в сопоставимой степени стимулировать восстановление кожи, способствуя более раннему заживлению хронических лучевых язв при тяжелых местных лучевых поражениях.

Есть основания полагать, что клеточная терапия тяжелых местных лучевых поражений в условиях комбинированного применения стволовых клеток жировой ткани и паракринных факторов, выделенных при культивировании стволовых клеток, может усилить стимулирующее воздействие на восстановление пораженных тканей и ускорить заживление радиационных язв.

Radiation biology

Medical Radiology and Radiation Safety. 2021. Vol. 66. № 2. P. 5–12

## The Influence of Mesenchymal Stem Cells of Adipose Tissue and Paracrine Factors of Conditioned Medium on the Healing of Radiation Ulcers in the Treatment of Severe Radiation Injuries of Skin in Rats

V.G. Lebedev<sup>1</sup>, Y.B. Deshevoy<sup>1</sup>, A.A. Temnov<sup>1,4</sup>, T.A. Astrelina<sup>1</sup>, K.A. Rogov<sup>2</sup>,  
T.A. Nasonova<sup>1</sup>, A.V. Lirschikova<sup>1</sup>, O.A. Dobrynina<sup>1</sup>, A.N. Sklifas<sup>3</sup>, **B.B. Moroz<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>AI Burnasyan Federal Medical Biophysical Center Moscow, Russia

<sup>2</sup>Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Institute of Cell Biophysics, Pushchino, Russia

<sup>4</sup>Institute of Physics and Technology, g. Dolgoprudnyy, Russia

Contact person: Vladimir Georgievich Lebedev: vgleb468@yandex.ru

### ABSTRACT

**Purpose:** Studying of the effects transplantation of cultured mesenchymal stem cells of adipose tissue (MMSC) and adipose-derived stromal vascular fraction (SVF), as well as the introduction of paracrine factors (PF) of conditioned medium in an isolated or combined application for severe local radiation skin lesions in the experiment.

**Material and methods:** Rats of the inbred Wistar–Kyoto strain were irradiated to local X-rays exposure in the iliolumbar region of the back at a dose of 110 Gy. The transplantation of cultured MMSC was performed twice at doses of  $2.1 \times 10^6$  and  $2.6 \times 10^6$  on the 28th and 35th days after irradiation. Adipose-derived SVF was administered at the same time in doses of  $3.2 \times 10^6$  and  $2.8 \times 10^6$ , respectively. PF were administered five times from the 1st to the 10th day after irradiation. The severity of radiation damage to the skin and the effects of therapy were evaluated in dynamics by clinical manifestations, using planimetry and histological methods.

**Results:** Radiation exposure with these parameters caused severe radiation injuries of the skin with non-healing ulcers formed by the 21–25th day after irradiation. The area of radiation ulcers in rats of the control group in the period from the 26th to the 83rd day slowly decreased from  $2.76 \pm 0.12 \text{ cm}^2$  to  $1.85 \pm 0.13 \text{ cm}^2$ . In 50 % of the animals in the control group, ulcers persisted for more than 4 months after irradiation. In rats of the experimental groups, more intensive healing and a decrease in the area of radiation ulcers was noted. With isolated administration of cultured MMSC or SVF, a statistically significant decrease in the area of ulcers compared with the control was observed on the 104–125th day, and with the introduction of PF on the 83rd day after irradiation,  $p < 0.05$ . In the control group, by the 118th day after irradiation, radiation ulcers healed only in 25 % of rats, and in the experimental groups with isolated administration of cultured MMSC, SVF and PF in 40–55 % of the rats showed complete epithelialization of wounds with the formation of an atrophic scar. Under the conditions of combined use of stem cells and conditioned medium factors, the number of animals with complete healing of radiation ulcers was 85–100 % by 118th days,  $p < 0.05$ .

**Conclusion:** Thus, transplantation of cultured MMSC of adipose tissue and adipose-derived SVF, as well as the introduction of PF of conditioned medium, can enhance the regeneration processes and stimulate skin regeneration, promoting earlier healing of chronic radiation ulcers in severe local radiation injuries. Moreover, with the combined introduction of PF and adipose-derived stem cell transplantation, the effectiveness of the healing of radiation ulcers was increases.

**Keywords:** multipotent mesenchymal stromal cells; stromal vascular fraction; adipose tissue; paracrine factors; conditioned medium; x-rays; cell therapy; radiation skin ulcers, rats

**For citation:** Lebedev V.G., Deshevoy Y.B., Temnov A.A., AstrelinaRogov T.A., K.A., Nasonova T.A., Lirschikova A.V., Dobrynina O.A., Sklifas A.N., Moroz B.B. The Influence of Mesenchymal Stem Cells of Adipose Tissue and Paracrine Factors of Conditioned Medium on the Healing of Radiation Ulcers in the Treatment of Severe Radiation Injuries of Skin in Rats. Medical Radiology and Radiation Safety. 2021;66(2):5–12.

DOI: 10.12737/1024-6177-2021-66-2-5-12

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Радиационная медицина: Руководство для врачей-исследователей и организаторов здравоохранения. Под ред. Л.А. Ильина. М.: ИздАТ, 2001. Т.2. 432 с.
2. Бушманов А.Ю., Надежина Н.М., Нугис В.Ю., Галстян И.А. Местные лучевые поражения кожи человека: возможности биологической индикации дозы (аналитический обзор) // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2005. Т.50. №1. С.37-47.
3. Африканова Л.А. Острая лучевая травма кожи. М.: Медицина, 1975. 192 с.
4. Marfia G, Navone SE, Di Vito C, Ughi N, Tabano S, Miozzo M. Mesenchymal Stem Cells: Potential for Therapy and Treatment of Chronic Non-Healing Skin Wounds. *Organogenesis*. 2015;11(4):183-206. Published online 2015 Dec 10. DOI: 10.1080/15476278.2015.1126018.
5. Singh M, Alavi A, Wong R, Akita S. Radiodermatitis: a Review of our Current Understanding. *Am. J. Clin. Dermat.* 2016; 17:277-92. DOI: 10.1007/s40257-016-0186-4.
6. Akita S. Treatment of radiation Injury. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2014;3(1): 1-11. DOI: 10.1089/wound.2012.0403.
7. Francois S, Mouisseddine M, Mathieu N, Semont A, Monti P, Dudoignon N, et al. Human Mesenchymal Stem Cells Favour Healing of the Cutaneous Radiation Syndrome In a Xenogenic Transplant Model. *Ann. Hematol.* 2007; 86(1):1-8. DOI: 10.1007/s00277-006-0166-5.
8. Huang SP, Huang C., Shyu JF, Lee HS, Chen SG, Chan JY, et al. Promotion of Wound Healing Using Adipose-Derived Stem Cells In Radiation Ulcer of a Rat Model. *J Biomed Sci.* 2013;20(1):51-60. DOI: 10.1186/1423-0127-20-51.
9. Forcheron F, Agay D, Scherthan, Riccobono D, HerodIn F, Melneke V, et al. Autologous adipose-derived stem cells favour healing in mInipig model treatment of cutaneous radiation syndrome. *PLOS One*. February 2012;7(2): e 31694. DOI.org/10.1371/journal.pone.0031694.
10. Akita S, Akino K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S, Non-cultured Autologous Adipose-Derived Stem Cells Therapy for Chronic Radiation Injury. *Stem Cells Inter.* 2010. Dec 1. 2010. 532704. DOI:10.4061/2010/532704.
11. Лебедев В.Г., Насонова Т.А., Дешевой Ю.Б., Лырщикова А.В., Добрынина О.А., Мороз Б.Б. Трансплантация аутологичных клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани при тяжелых местных лучевых поражениях, вызванных действием рентгеновского излучения // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2017. Т.62. №1. С. 5-11.
12. Ebrahimian TG, Pouzoulet F, Squiban C, Buard V, André M, B Cousin B, et al. Cell Therapy Based on a Adipose-Derived Stromal Cells Promotes Physiological and Pathological Wound healing Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009;29(4):503-510. DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.178962.
13. Feisst V, Meidinger S, Locke M.B. From bench to bedside: use of human adipose-derived stem cells. *Stem Cells Cloning*. 2015; 8:149-162. DOI:10.2147/SCCAA.S64373.
14. Темнов А.А. Волкова А.Г., Мелерзанов А.В. Эффект кондиционированной среды, полученной из культивированных мезенхимальных стволовых клеток, на регенерацию эндотелия при HCl-индуцированном повреждении трахеи у крыс // Патологическая физиол. и эксперимент. терапия. 2017. Т.61. №2. С. 28-36.
15. Котенко К.В., Мороз Б.Б., Насонова Т.А., Дешевой Ю.Б., Лебедев В.Г., Добрынина О.А., и др. Экспериментальная модель тяжелых местных лучевых поражений кожи после действия рентгеновского излучения // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2013. Т.57. №4. С.121-123.
16. Bunnell B.A, Flaatt M, Gagliardi Ch. Adipose-Derived Stem Cells: Isolation, Expansion and Differentiation. *Methods*, 2008;45(2):115-120. DOI: 10.1016/j.ymeth.2008.03.006.
17. Zuk P, Zhu M, Muzuno H, Huang J, Futrell W, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue implication for cell-based therapeutics. *Tissue Eng.* 2001;7(2):211-218. DOI: 10.1089/107632701300062859.
18. Темнов А.А., Астрелина Т.А., Рогов К.А., Насонова Т.А., Дешевой Ю.Б., Лебедев В.Г. и др. Исследование влияния факторов кондиционной среды, полученной при культивировании мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, на течение тяжелых местных лучевых поражений кожи у крыс // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018. Т.63. №1. С. 35-39.
19. Осанов Д.П. Дозиметрия и радиационная биофизика кожи. М.: Энергоатомиздат, 1983. 152 с.
20. Akita S, Akino K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Cutaneous Radiation Syndrome. *Health Phys.* 2010;98: 858-862. DOI: 10.1097/HP.0b013e3181d3d52c.
21. Nguyen A, Guo J, Banyard DA, Fadavi D, Toranto JD, Wirth GA, et al. Stromal Vascular Fraction: a Regenerative Reality? Part 1: Current Concepts and Review of the Literature. *J. Plast Reconstr. Aesthetic Surg.* 2016;69:170-179. DOI: 10.1016/j.jbpts.2015.10.015.
22. Gimble JM, Guilak F, Bunnell B. Clinical and Preclinical Translation of Cell-Based Therapies Using Adipose Tissue-Derived Cells. *Stem Cell Research & Therapy*. 2010; Jun 29; 1(2):19. DOI: 10.1186/scrt19.
23. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, DomInici M, Katz AJ, March KL. Stromal Cells from the Adipose Tissue-Derived Stromal Vascular Fraction and Cultured Expanded Adipose Tissue-Derived Stromal/Stem Cells: a Joint Statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytherapy*. 2013;15: 641-8. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.02.006.
24. Jeong W, Yang X, Lee J, Ryoo Y, Kim J, Oh Y, et al. Serial Changes In the Proliferation and Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells after Ionizing Radiation. *Stem Cell Res Ther.* 2016; 7: 117. DOI:10.1186/s13287-016-0378-0.
25. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, et al. Wound healing Effect Of Adipose-Derived Stem Cells: a Critical Role of Secretory Factors on Human Dermal Fibroblasts. *J. Dermatol. Sci.* 2007; 48(1):15-24. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2007.05.018.
26. Hasdemir M, Agir H, Eren GG, Aksu MG, Alagoz MS, Duruksu G, et al. Adipose-Derived Stem Cells Improve Survival of Random Pattern Cutaneous Flaps in Radiation Damaged Skin. *J Craniofac Surg.* 2015;26:1450-5. DOI: 10.1097/SCS.0000000000001852.

## REFERENCES

1. Radiation Medicine. A Guide for Medical Researchers and Health Care Organizers. Ed. LA Ilyin. Moscow, Izdat Publ., 2001; 2. 432 p (In Russian).
2. Bushmanov AY, Nadezhina NM, Nugis VYu, Galstyan IA. Local Radiation Damage to Human Skin: The Possibility Of A Biological Dose Indication (Analytical Review). *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2005;50(1):37-47 (In Russian).
3. Afrikanova LA. Severe Radiation Skin Lesions. Moscow, Meditsina Publ., 1975. 192 p. (In Russian).
4. Marfia G, Navone SE, Di Vito C, Ughi N, Tabano S, Miozzo M. Mesenchymal Stem Cells: Potential for Therapy and Treatment of Chronic Non-Healing Skin Wounds. *Organogenesis*. 2015;11(4):183-206. Published online 2015 Dec 10. DOI: 10.1080/15476278.2015.1126018.
5. Singh M, Alavi A, Wong R, Akita S. Radiodermatitis: a Review of our Current Understanding. *Am J Clin Dermat.* 2016; 17:277-92. DOI: 10.1007/s40257-016-0186-4.
6. Akita S. Treatment of Radiation Injury. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2014;3(1): 1-11. DOI: 10.1089/wound.2012.0403.
7. Francois S, Mouisseddine M, Mathieu N, Semont A, Monti P, Dudoignon N, et al. Human Mesenchymal Stem Cells Favour Healing of the Cutaneous Radiation Syndrome in a Xenogenic

- Transplant Model. *Ann. Hematol.* 2007; 86(1):1–8. DOI: 10.1007/s00277-006-0166-5.
8. Huang SP, Huang C., Shyu JF, Lee HS, Chen SG, Chan JY, et al. Promotion of Wound Healing Using Adipose-Derived Stem Cells In Radiation Ulcer Of A Rat Model. *J Biomed Sci.* 2013;20(1):51-60. DOI: 10.1186/1423-0127-20-51.
  9. Forcheron F, Agay D, Scherthan, Riccobono D, HerodIn F, MeIneke V, at al. Autologous Adipose-Derived Stem Cells Favour Healing in Minipig Model Treatment Of Cutaneous Radiation Syndrome. *PLOS One.* February. 2012;7(2): e 31694. DOI.org/10.1371/journal.pone.0031694.
  10. Akita S, AkIno K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S, Noncultured Autologous Adipose-Derived Stem Cells Therapy for Chronic Radiation Injury. *Stem Cells Inter.* 2010. Dec 1. 2010. 532704. DOI:10.4061/2010/532704.
  11. Lebedev VG, Nasonova TA, Deshevoy YuB, Lyrschikova AV, DobrynIna OA, Moroz BB. Transplantation of Autologous Cells of the Stromal-Vascular Fraction of Adipose Tissue in Severe Local Radiation Injuries Caused by X-Ray Radiation. *Medical Radiology and Radiation Safety.* 2017; 62(1):5-11. (In Russian). DOI:10.12737/25028.
  12. Ebrahimian TG, Pouzoulet F, Squiban C, Buard V, André M, B CousIn B, et al. Cell Therapy Based on a Adipose-Derived Stromal Cells Promotes Physiological and Pathological Wound Healing Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009;29(4):503-510. DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.178962.
  13. Feisst V, MeidInger S, Locke M.B. From Bench to Bedside: Use of Human Adipose-Derived Stem Cells. *Stem Cells ClonIng.* 2015; 8:149-162. DOI:10.2147/SCCAA.S64373.
  14. Temnov AA, Volkova AG, Melerzanov AV. Effect of Conditioned Medium from Mesenchymal Stem Cells on Regeneration of Endothelium at Hcl-Induced Damage Trachea in Rats. *Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2017; 61(2):28–36 (In Russian).
  15. Kotenko KV, Moroz BB, Nasonova TA, Deshevoy YuB, Lebedev VG, DobrynIna OA, et al. Experimental Model Of Severe Local Radiation Damage of the Skin After The Action of X-Ray Radiation. *Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2013;57(4):121-123 (In Russian).
  16. Bunnell B.A, Flaatt M, Gagliard Ch. Adipose-Derived Stem Cells: Isolation, Expansion and Differentiation. *Methods.* 2008;45(2):115-120. DOI: 10.1016/j.ymeth.2008.03.006.
  17. Zuk P, Zhu M, Muzuno H, Huang J, Futrell W, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue implication for cell-based therapeutics. *Tissue Eng.* 2001;7(2):211-218. DOI: 10.1089/107632701300062859.
  18. Temnov AA, AstrellIna TA, Rogov KA, Nasonova TA, Deshevoy YuB, Lebedev VG, et al. Investigation of the Influence of the Conditioning Medium Factors Obtained During the Cultivation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells on the Course of Severe Local Radiation Injuries of Skin in Rats. *Medical Radiology and Radiation Safety.* 2018;63(1):35-39 (In Russian). DOI: 10.12737/article\_5a82eb9a9bbac1.67972336]
  19. Osanov DP. Dosimetry and Radiation Biophysics of the Skin. Moscow, Energoatomizdat Publ., 1983. 152 p (In Russian).
  20. Akita S, AkIno K, Hirano A, Ohtsuru A, Yamashita S. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Cutaneous Radiation Syndrome. *Health Phys.* 2010;98: 858-862. DOI: 10.1097/HP.0b013e3181d3d52c.
  21. Nguyen A, Guo J, Banyard DA, Fadavi D, Toranto JD, Wirth GA, et al. Stromal Vascular Fraction: a Regenerative Reality? Part 1: Current Concepts and Review of the Literature. *J Plast Reconstr. Aesthetic Surg.* 2016;69:170-179. DOI: 10.1016/j.bjps.2015.10.015.
  22. Gimble JM, Guilak F, Bunnell B. Clinical and preclinical translation of cell-based therapies using adipose tissue-derived cells. *Stem Cell Research & Therapy.* 2010; Jun 29; 1(2):19. DOI: 10.1186/scrt19.
  23. BourIn P, Bunnell BA, Casteilla L, DomInici M, Katz AJ, March KL. Stromal Cells from the Adipose Tissue-Derived Stromal Vascular Fraction and Cultured Expanded Adipose Tissue-Derived Stromal/Stem Cells: A Joint Statement Of The International Federation For Adipose Therapeutics And The International Society For Cellular Therapy (Isct). *Cytotherapy.* 2013;15: 641-8. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.02.006.
  24. Jeong W, Yang X, Lee J, Ryoo Y, Kim J, Oh Y, et al. Serial Changes in the Proliferation and Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells After Ionizing Radiation. *Stem Cell Res Ther.* 2016; 7: 117. DOI:10.1186/s13287-016-0378-0.
  25. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, at al. Wound Healing Effect of Adipose-Derived Stem Cells: A Critical Role of Secretory Factors on Human Dermal Fibroblasts. *J. Dermatol. Sci.* 2007; 48(1):15-24. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2007.05.018.
  26. Hasdemir M, Agir H, Eren GG, Aksu MG, Alagoz MS, Duruksu G, et al. Adipose-Derived Stem Cells Improve Survival of Random Pattern Cutaneous Flaps in Radiation Damaged Skin. *J Craniofac Surg.* 2015;26:1450-5. DOI: 10.1097/SCS.0000000000001852.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Участие авторов.** Статья подготовлена с равным участием авторов.

**Поступила:** 23.12.2020. **Принята к публикации:** 20.01.2021.

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

**Financing.** The study had no sponsorship.

**Contribution.** Article was prepared with equal participation of the authors.

**Article received:** 23.12.2020. **Accepted for publication:** 20.01.2021.