СТИМУЛЯЦИЯ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ ПРИ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Р.Ф. Масгутов [1,2], Г.А. Масгутова [1], И.И. Салафутдинов [1], А.А. Шульман [2], М.Н. Журавлева [1], А.Р. Галлямов [1,2], А.А. Богов (млад.) [1,2], А.А. Богов [2], А.А. Ризванов [1]

[1] Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
[2] Республиканская клиническая больница, Казань, Россия

Stimulation of rat's sciatic nerve regeneration by transplantation of human adipose derived multipotent mesenchymal stromal cells

R.F. Masgutov [1,2], G.A. Masgutova [1], I.I. Salafutdinov [1], A.A. Shulman [2], M.N. Zhuravleva [1], A.R. Gallyamov [1,2], A.A. Bogov (jr) [1,2], A.A. Bogov [2], A.A. Rizvanov [1]
[1] Kazan Federal University, Kazan, Russia
[2] Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

Повреждение периферического нерва представляет потенциальную угрозу для потери функции конечности. Несмотря на способность нейронов к регенерации аксонов, травма нерва является причиной значительного уровня гибели нейронов спинального ганглия L4-L5, что ведет к неполному функциональному восстановлению. В работе исследовано влияние ксенотрансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, полученных из жировой ткани человека, на процесс регенерации седалищного нерва крысы.

Показано, что клеточная терапия способствует значительному выживанию нейронов спинального ганглия L5 после аутонервной вставки, восстановлению микроциркуляции в области травмы, а также улучшает показатели восстановления двигательной активности.

Ключевые слова: седалищный нерв, репаративная регенерация, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, клеточная терапия.

Peripheral nerve injury is a potential threat to the loss of function of an extremity. Despite the ability of neurons to axonal regeneration, nerve injury causes a significant level of neuronal death in spinal ganglia L4-L5, that leads to incomplete functional recovery. The influence of xenotransplantation of human adipose derived multipotent mesenchymal stromal cells on the process of regeneration of rat's sciatic nerve.

It is shown that cell therapy contributes to a significant neuronal survival in spinal ganglia L5 after autonerve grafting as well as restore microcirculation and improves recovery of motor activity.

Keywords: sciatic nerve, reparative regeneration, multipotent mesenchymal stromal cells, cell therapy.

Введение

Повреждение периферического нерва, требующее оперативного вмешательства, представляет потенциальную угрозу потери функции конечности. Зачастую, расстояние между дистальным и проксимальным фрагментом нерва является недостаточным для сшивания нерва конец-в-конец без натяжения, в связи с чем в клинике прибегают к использованию аутогенных трансплантатов. Несмотря на то, что для использования аутонервных вставок при устранении дефектов нервов необходимо нанесение дополнительного травмирующего воздействия на здоровые нервные стволы, аутонервная пластика является наиболее эффективным методом восстановления целостности периферического нерва при наличии его дефекта [1].

К сожалению, даже высокотехнологичные микрохирургические манипуляции, зачастую, не обеспечивают полного восстановления функции поврежденного нерва. Несмотря на способность сенсорных нейронов к регенерации аксонов, экспериментально индуцированная хроническая травма седалищного нерва является причиной значительного уровня гибели нейронов спинального ганглия и неполного функционального восстановления [2, 3]. Примерно 40% чувствительных нейронов погибают в течение 2 мес. после периферической аксотомии. Аналогичные потери также наблюдаются и клинически, о чем свидетельствуют результаты оценки восстановления чувствительности конечностей пациентов после травмы периферического нерва, так как именно гибель сенсорных нейронов является одним из ключевых факторов, определяющих восстановление периферического нерва после травмы [4].

В связи с этим требуется разработка новых подходов в лечении повреждений нервов, объединяющих микрохирургическую практику и стимуляцию регенерации [5].

Известно, что в восстановлении периферической нервной системы важную роль играют шванновские клетки, участвующие в формировании эндоневрия, периневрия, а также фибробласты, вовлеченные в образование миелиновой оболочки для роста регенерирующих аксонов [6]. Помимо восстановления нервных связей показано, что большое значение для успеха регенерации имеет восстановление кровеносных сосудов [7]. Таким образом, поддержание выживания чувствительных нейронов, стимуляция морфофункциональной активности шванновских клеток и восстановление кровеносных сосудов являются основополагающими для регенерации периферического нерва.

С целью стимуляции посттравматической регенерации перспективным представляется использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), которые, благодаря способности дифференцироваться в различные клеточные типы, привлекают пристальное внимание исследователей.

e-mail: galina2526@gmail.com

Эти свойства определяют перспективность применения ММСК в биотехнологии и регенеративной медицине.

В настоящее время большинство работ посвящено изучению свойств ММСК, выделенных из костного мозга, однако ММСК жировой ткани обладают сходным иммунофенотипом и способностью к мультилинейной дифференцировке [8]. По мнению ряда авторов, среди различных источников стволовых клеток с потенциальным приложением для регенеративной медицины жировая ткань является наиболее перспективной [9, 10]. Полученные из жировой ткани ММСК легко получить, они быстро пролиферируют, характеризуются низкой иммуногенностью (при использовании в аллогенном варианте) и легко дифференцируются в различные клеточные типы [11].

В работе исследовано влияние ксенотрансплантации ММСК жировой ткани человека на процесс регенерации седалищного нерва крысы. Произведена оценка восстановления микроциркуляции в седалищном нерве после аутонервной вставки, реакция нейронов спинального ганглия L5, а также комплексная характеристика повреждения нерва, включающая уровень и характер поражения, стадию денервационно-реиннервационного поражения, тип реиннервации и степень сократительной способности мышц с помощью электронейромиографии (ЭНМГ) [12].

Материал и методы

Жировую ткань получали от здоровых доноров с отрицательными результатами анализов на гепатиты В и С, вирус иммунодефицита человека. Сбор жировой ткани осуществляли в стерильных условиях операционной стационара в ходе плановой липосакции. После сбора образцов до выделения из них клеток проходило не более 16 ч. Транспортировку собранного материала в лабораторию осуществляли в стерильных контейнерах при 4°С.

Выделение ММСК из жировой ткани человека проводили согласно ранее опубликованному протоколу [13]. Кратко, жировую ткань трижды промывали раствором DPBS (Биолот, Россия) при центрифугировании (500 g 5 мин.). После удаления нижней водной фазы в образец вносили равный объем 0,4% раствора коллагеназы. Инкубацию ткани проводили при 37°С на шейкере, 120 об/мин в течении 1 ч. После ферментативного расщепления ткани клетки трижды отмывали центрифугированием при 500 g в течение 5 мин. Клеточный осадок ресуспендировали в среде αMEM (Invitrogen, США) с 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS, Sigma, США), и пропускали через фильтр (100μmØ) для удаления нерасщепленных фрагментов жировой ткани. Клетки поддерживали на среде αMEM с добавлением 10% FBS, 2 мМ L-глутамина (Sigma, США), смеси антибиотиков пенициллина и стрептомицина (100 ЕД/мл; 100 мкг/мл) (Sigma, США).

Ранее, в ходе фазово-контрастной микроскопии было показано, что полученные клетки имеют фибробластоподобную морфологию, обладают высокой пролиферативной активностью и обладают иммунофенотипом, характерным для ММСК [13].

Все манипуляции с лабораторными животными были одобрены Физиологической секцией Российского национального комитета по биологической этике и проведены в соответствии с международными биоэтическими нормами. Эксперимент проведен на белых беспородных крысах (n = 29). В асептических условиях животным под хлоралгидратом (400 мг/кг в 6,4% растворе NaCl) в левом седалищном нерве формировали диастаз длиной 10 мм и тотчас производили аутонервную вставку. Концы нерва сшивали без натяжения нитью 10/0. В экспериментальной группе интраоперационно интраневрально в три точки (область аутонервной вставки, центральный и дистальный отрезки нерва) шприцом Гамильтона вводили по 10 мкл раствора (всего 30 мкл), содержащего 1 млн. ММСК в составе 0,09% NaCl. В контрольной группе по аналогичной методике вводили по 10 мкл стерильного 0,9% NaCl (всего 30 мкл). В обеих группах седалищный нерв после вставки покрывали слоем фибринового клея Тиссукол Кит (Baxter, Австрия). Рану ушивали послойно. На протяжении эксперимента, на сроках 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 сут. после операции у всех крыс производили регистрацию электрических ответов мышц с помощью венгерского электромиографа МГ-42, совмещенного с системой компьютерного анализа данных. Раздражающие игольчатые электроды вводили в область тазобедренного сустава, в проекции седалищного нерва. Раздражение осуществляли прямоугольными импульсами длительностью 1–2 мс. Сила стимуляции варьировала от 0,2 до 2В. Регистрацию моторных ответов (М-ответов) осуществляли с помощью биполярных игольчатых электродов, которые вводили в медиальную икроножную мышцу. Анализировали латентный период возникновения максимальных мышечных ответов, порог их возникновения и максимальную амплитуду (А max). Методом стимуляционной электронейромиографии (ЭНМГ) производилась оценка состояния нейро-моторного аппарата икроножных мышц крыс.

На сроке 65 сут. после операции оценивали восстановление кровотока в области травмы путем визуализации микроциркуляции в режиме реального времени с помощью лазерного доплера EasyLDI (Aimago, Швейцария). Для этого в асептических условиях животным под хлоралгидратом (400 мг/кг в 6,4% растворе NaCl) осуществляли доступ к седалищному нерву. На область дистального отрезка нерва направляли лазерный луч аппарата, с помощью функции моментального снимка анализировали динамику показателей микроциркуляции в режиме реального времени.

Через 65 сут. после операции в обеих группах выделяли спинальный ганглий L5 на стороне операции. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине и замораживали при -80°С. Каждый 5-й серийный срез спинального ганглия толщиной 7 μм окрашивали метиленовым синим, подсчитывали количество нейронов с видимыми ядрышками [14]. Процесс подсчета не позволял определить абсолютное количество нейронов в чувствительном узле спинномозгового нерва, но представлялся адекватным для сравнения серий экспериментальных, контрольных и здоровых (интактных) животных.

Из полученных количественных данных рассчитывали среднее значение, стандартное отклонение. Сравнение групп по исследуемым показателям осуществляли с применением t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты

Оценка степени сократительной способности мышц в исследуемых группах животных не выявила значительных различий в длине латентного периода моторного ответа (М-ответа). На всем сроке эксперимента латентный период М-ответа в экспериментальной и контрольной группах оставался повышенным и в среднем составлял в 0,64±0,1 мс и 0,79±0,05 мс, соответственно. В свою очередь, порог возникновения М-ответа — величина достаточно вариабельная и характеризует возбудимость нервной ткани. На ранних сроках порог возникновения М-ответа резко увеличивался в обеих группах по сравнению с интактными животными. Средние числовые значения данного зарегистрированного параметра на 3 сут. после повреждения составили 2,91±0,69В в контроле; 3,1±0,57В в экспериментальной и 0,69±0,1В в группе интактных животных. Что касается регенерации поврежденного нерва, по истечении 63 сут. порог возникновения М-ответа у группы крыс с введением клеток, приближался к значениям нормы. У контрольной группы на этом же сроке порог М-ответа превышал нормальные значения практически в 2 раза и составлял 1,23±0,24В (рис. 1).

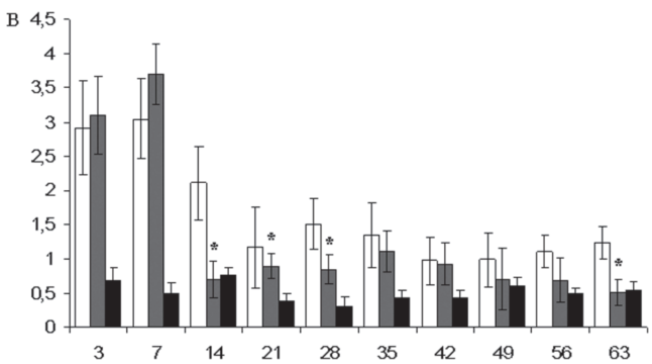

*Рис. 1. Порог М-ответа. По оси ординат — значения порога возникновения М-ответа в вольтах (В). По оси абсцисс — сут. после травмы. Белые столбцы — контрольная группа, серые столбцы — экспериментальная группа, черные столбцы — интактные животные. * — различия между контрольной и экспериментальной группами статистически значимы (p<0,05)*

Максимальная амплитуда М-ответа характеризует интенсивность сокращения мышцы, которая, в свою очередь, зависит от количества двигательных единиц, вовлеченных в этот процесс, и от степени синхронности их работы. Соответственно, чем больше их вовлечено и чем синхроннее они работают, тем больше максимальная амплитуда моторного ответа и интенсивней сокращение. На 3 сут. после травмы значение максимальной амплитуды у животных контрольной группы составило 0,67±0,23мВ; у крыс экспериментальной группы — 0,78±0,37мВ; тогда как у интактных животных это значение было равно 8,72±0,2мВ. На 63 сут. после травмы в контрольной группе амплитуда М-ответа составила 3,59±1,11мВ, что в 5 раз превышало значения, зарегистрированные на 3 сут. после оперативного вмешательства. В свою очередь, данный показатель в группе с введением ММСК амплитуда М-ответа к концу эксперимента увеличилась почти в 8 раз относительно значений полученных на 3 сут. (рис. 2).

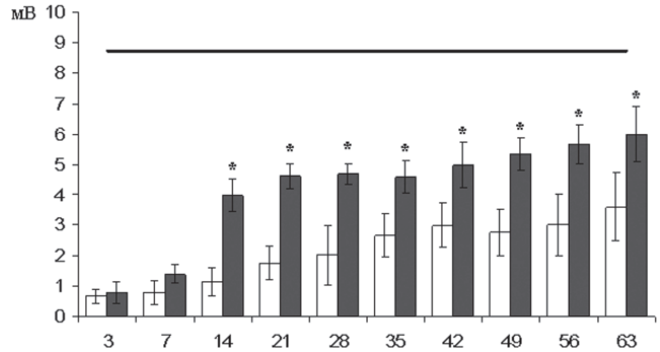

*Рис. 2. Амплитуда М-ответа. По оси ординат — значения амплитуды М-ответа в милливольтах (мВ). По оси абсцисс — сут. после травмы. Белые столбцы — контрольная группа, серые столбцы — экспериментальная группа, серая прямая — интактные животные. * — различия между контрольной и экспериментальной группами статистически значимы (p<0,05)*

Через 65 сут. после операции в контрольной группе уровень микроциркуляции в зоне дистального шва вставки седалищного нерва составила 1,2 apu (arbitrary perfusion units), в аналогичной зоне нерва в экспериментальной группе — 10,1 apu, что превысило показания в контроле в 8,4 раз (p<0,05) (рис. 3).

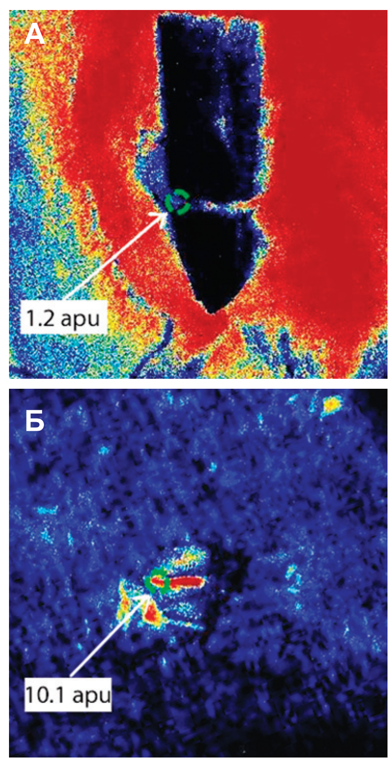

Рис. 3. Состояние кровотока, оценка в режиме реального времени: А — контрольная группа; Б — экспериментальная группа. Стрелками обозначен зеленый круг — область визуализации микроциркуляции, соответствующая дистальному фрагменту седалищного нерва крысы. Лазерная допплерография

Визуальный микроскопический анализ препаратов спинального ганглия L5 указывает на большую гибель нейронов малого диаметра (<30 мкм²), при этом перикарионы нейронов среднего (30–50 мкм²) и большого (>50 мкм²) диаметров [14] изменяли свою морфологию. В нейронах развивался неравномерный центральный и иногда тотальный хроматолиз. Часть нейронов имела гиперхромный вид. Исключительно в нейронах большого диаметра в группе с клеточной стимуляцией встречались нейроны, содержащие два ядрышка (рис. 4).

Подсчет общего количества нейронов спинального ганглия L5 через 65 сут. после аутонервной вставки показал, что в экспериментальной группе количество выживших нейронов уменьшилось на 63,65% по сравнению с группой интактных животных ($p<0{,}05$). При этом в контроле данный показатель понизился на 89%. Разница между показателями контрольной и экспериментальной групп составила 44,8% ($p<0{,}05$) (рис. 5).

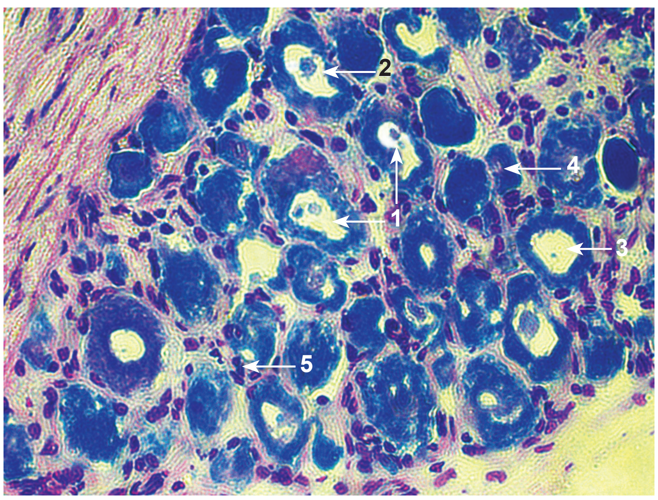

Рис. 4. Спинальный ганглий L5 в экспериментальной группе через 65 сут. после аутонервной вставки и введения ММСК:
1 — нейрон большого диаметра, содержащий 2 ядрышка;
2 — нейрон большого диаметра, содержащий 1 ядрышко;
3 — нейрон среднего диаметра;
4 — нейрон малого диаметра;
5 — клетки саттелиты.
Окраска: метиленовый синий.
Ув. ×200

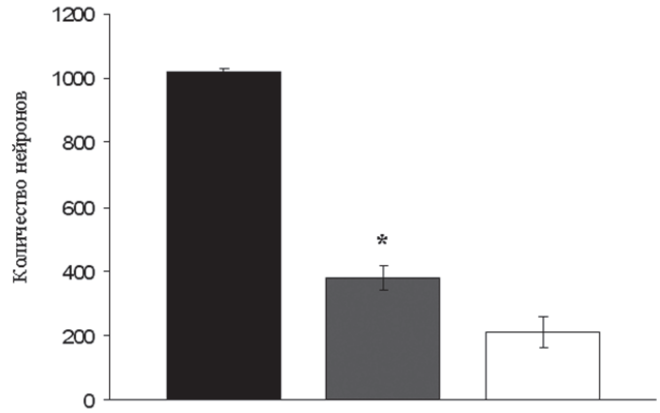

Рис. 5. Общее количество выживших нейронов спинального ганглия L5 через 65 сут. после операции. По оси ординат — количество нейронов. Белые столбцы — контрольная группа, серые столбцы — экспериментальная группа, черные столбцы — интактные животные.
** — различия между контрольной и экспериментальной группами статистически значимы ($p<0{,}05$)*

Обсуждение

Аутонервная вставка была и остается «золотым стандартом» восстановления целостности нерва при наличии диастаза. Это связано с наличием аутогенных шванновских клеток и структурных белков внеклеточного матрикса, которые поддерживают выживаемость нейронов и стимулируют регенерацию аксонов [1].

С момента первого описания ММСК как отдельного клеточного типа проводится большое количество экспериментальных и клинических исследований по их применению в различных областях медицины. В целом, литературные данные о перспективах клинического применения ММСК выглядят достаточно оптимистично [15]. Ранее нашими коллегами были проведены исследования по применению ММСК в терапии ложного сустава бедренной кости [16], а также коррекции дефектов мягких тканей с применением аутогенной жировой ткани [17].

Результаты измерения латентного периода моторного ответа свидетельствуют о посттравматической дегенерации быстрых и медленных проводящих волокон седалищного нерва. Так как быстропроводящие волокна более толстые, чем медленнопроводящие, то процесс их восстановления требует больше времени. Этим и обусловлено увеличение латентного периода возникновения М-ответа и недостижение нормальных значений даже через 63 сут. после травмы. В свою очередь порог возникновения М-ответа свидетельствует о том, что восстановление проводимости поврежденного нерва с аутонервной пластикой идет гораздо медленнее, чем при пластике нерва путем аутонервной вставки с введением ММСК. При этом, несмотря на то, что значения амплитуды М-ответа к концу эксперимента в обеих группах не достигли нормальных значений, динамика увеличения амплитуды М-ответа наблюдалась в обеих группах, что свидетельствует о постепенном увеличении числа регенерирующих двигательных единиц.

В ходе подсчета общего количества нейронов было обнаружено, что исключительно в группе с клеточной стимуляцией и только в нейронах большого диаметра происходило удвоение ядрышек в ядрах клеток. Показано, что ядрышки относятся к наиболее пластичным компонентам клеточного ядра, организация и функциональная активность которых изменяются в ответ на многие внешние воздействия [18].

Хотя молекулярные механизмы, лежащие в основе гибели нейронов спинального ганглия в ответ на аксотомию нерва полностью не ясны, доказана роль экзогенных трофических факторов, степени и тяжести травмы на апоптоз нейронов и потенциальную способность аксонов прорастать к соответствующим дистальным рецепторам [3, 19].

Столь высокая степень гибели нейронов, несомненно, связана с серьезной травмой седалищного нерва, что создает значительное препятствие для регенерирующих аксонов [4], однако нами впервые было показано, что ксенотрансплантация ММСК, полученных из жировой ткани человека, способствует значительному выживанию нейронов спинального ганглия L5 после аутонервной вставки.

Описание возможностей приложения ММСК для регенерации и нейропротекции активно изучается, недавняя работа описывает биологические свойства, оценку качества и безопасность ММСК для клинического применения [20], что в соответствии с полученными нами данными позволяет использовать регенераторный потенциал ММСК для стимуляции посттравматической регенерации нерва.

Одним из возможных механизмов для нейропротективных антиапоптотических свойств ксенотрансплантированных клеток является секреция факторов роста, ретроградно транспортируемых к нейронам и стимулирующим их выживание [21]. Эти данные позволяют нам высказать предположение о том, что ММСК за счет способности к выделению нейротрофических факторов и их ретроградному транспорту из области введения к клеткам мишеням поддержали выживание чувствительных нейронов в спинальном ганглии, что является необходимым условием для нормальной регенерации.

Благодарности

Работа финансировалась за счет средств гранта РФФИ 13-04-12035. Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров», темы Государственного автономного учреждения здравоохранения «Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан» «Усовершенствование и разработка новых методов лечения у больных с повреждением плечевого сплетения и периферических нервов» и субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Данное исследование выполнено с использованием оборудования Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России (ID RFMEFI59414X0003) и на оборудовании Научно образовательного центра фармацевтики Казанского (Приволжского) федерального университета.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Масгутов Р.Ф., Салафутдинов И.И., Богов А.А. и др. Стимулирование посттравматической регенерации седалищного нерва крысы с помощью плазмиды, экспрессирующей сосудистый эндотелиальный фактор роста и основной фактор роста фибробластов. Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия. 2011; Т.6, №3: 67-70.
2. Arkhipova S.S., Raginov I.S., Mukhitov A.R. et al. Satellite cells of sensory neurons after various types of sciatic nerve trauma in the rat. Neurosci. Behav. Physiol. 2010; 40: 609-14.
3. Gordon T., Tyreman N., Raji M.A. The basis for diminished functional recovery after delayed peripheral nerve repair. J. Neurosci. 2011; 31: 5325-34.
4. Vigneswara V., Berry M., Logan A. et al. Caspase-2 is upregulated after sciatic nerve transection and its inhibition protects dorsal root ganglion neurons from apoptosis after serum withdrawal. PLoS One 2013; 8(2):e57861.
5. Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А., Богов А.А. и др. Современные тенденции лечения повреждений периферических нервов. Практическая медицина 2013; 2(69): 99-103.
6. Weerasuriya A., Mizisin A.P. The blood-nerve barrier: structure and functional significance. Methods Mol. Biol. 2011; 686: 149-73.
7. Tamaki T., Hirata M., Soeda S. et al. Preferential and comprehensive reconstitution of severely damaged sciatic nerve using murine skeletal muscle-derived multipotent stem cells. PLoS One 2014; 10;9(3): e91257.
8. Петренко А.Ю., Иванов Э.Н., Петренко Ю.А. Стволовые клетки из жировой ткани. Biotech. Acta. 2008; 1(4).
9. Marconi S., Castiglione G., Turano E. et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells systemically injected promote peripheral nerve regeneration in the mouse model of sciatic crush. Tissue Eng. Part A. 2012; 18(11-12): 1264-72.
10. Масгутов Р.Ф., Богов А.А. (Мл.), Ризванов А.А. и др. Стволовые клетки из жировой ткани — биологические свойства и перспективы клинического применения. Практическая медицина 2011; 7(55): 18-20.
11. Faroni A., Terenghi G., Reid A.J. Adipose-derived stem cells and nerve regeneration: promises and pitfalls. Int. Rev. Neurobiol. 2013; 108: 121-36.
12. Команцев В.Н., Архиреев А.Ю., Власенко А.Н. Алгоритмы клинико-электромиографической диагностики повреждений периферических нервов для неврологов и миографистов: Учебное пособие. СПб.: Изд-во Система; 2007.
13. Solovyeva V.V., Salafutdinov I.I., Martynova E.V. et al. Human adipose derived stem cells do not alter cytokine secretion in response to the genetic modification with pEGFP-N2 plasmid DNA. World Appl. Sci. J. 2013; 26(7): 968-72.
14. Henken D.B., Battisti W.P., Chesselet M.F. et al. Expression of beta-preprotachykinin mRNA and tachykinins in rat dorsal root ganglion cells following peripheral or central axotomy. Neuroscience 1990; 39(3): 733-42.
15. Калинина Н.И., Сысоева В.Ю., Рубина К.А. и др. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей. Acta Naturae (русскоязычная версия) 2011; 3(4): 32-9.
16. Масгутов Р.Ф., Салихов Р.З., Плаксейчук Ю.А. и др. Применение клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани при ложном суставе бедренной кости: клинический случай. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2013; VIII(3): 116-18.
17. Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А., Салафутдинов И.И. Коррекция дефекта мягких тканей лица с применением аутогенной жировой ткани, обогащенной клетками стромально-васкулярной фракции. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2012; VII(3): 177-9.
18. Cheutin T., Gorski S.A., May K.M. et al. In vivo dynamics of Swi6 in yeast: evidence for a stochastic model of heterochromatin. Mol. Cell Biol. 2004; 24(8): 3157-67.
19. Wood M.D., Kemp S.W., Weber C. et al. Outcome measures of peripheral nerve regeneration. Ann. Anat. 2011; 193(4): 321-3.
20 Шахпазян Н.К., Астрелина Т.А., Яковлева М.В. Мезенхимальные стволовые клетки из различных тканей человека: биологические свойства, оценка качества и безопасности для клинического применения. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2012; VII(1): 23-33.
21. Reid A.J., Sun M., Wiberg M. et al. Kingham Nerve repair with adipose-derived stem cells protects dorsal root ganglia neurons from apoptosis. Neuroscience 2011; 29; 199: 515-22.

Поступила: 03.01.2015