

Ю.М. ГАИН, Е.П. КИСЕЛЁВА, С.В. ШАХРАЙ

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСНОГО ТРАНСПЛАНТАТА НА ОСНОВЕ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ И МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЦЕЛОСТНОСТИ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск,
Республика Беларусь

Цель. Разработать и обосновать технологию восстановления целостности кожных покровов с помощью сложного трансплантата, состоящего из амниотической мембраны и аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани.

Материал и методы. Из 27 лабораторных животных были сформированы две экспериментальные группы (группа с применением амниотической мембраны и аутологичных мезенхимальных стволовых клеток, а также контрольная группа со спонтанной регенерацией раневого дефекта). Площадь раневой поверхности определяли на 0-е, 10-е и 20-е сутки после трансплантации. Гистологически исследовали биоптаты кожи всех экспериментальных групп животных на 20-е сутки после трансплантации. Приведен первый результат клинического применения разработанного способа восстановления раневого дефекта покровных тканей в условиях хронической артериальной ишемии тканей.

Результаты. Установлено, что, аллогенная амниотическая мембрана является универсальной матрицей для создания сложного трансплантата с мезенхимальными стволовыми клетками из жировой ткани. Она служит универсальным клеточным каркасом и матрицей для переноса мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, обеспечивая хорошие условия для роста, дифференцировки и имплантации нанесенных на нее клеток.

В эксперименте достоверно более высокий темп регенерации раневой поверхности наблюдался у животных с применением трансплантата по сравнению с контрольной группой. Первый опыт клинического применения разработанной технологии продемонстрировал высокую скорость восстановления целостности дефекта кожных покровов в условиях хронической артериальной ишемии тканей.

Заключение. Использование комплексного трансплантата из амниотической мембраны и мезенхимальных стволовых клеток продемонстрировало возможность полноценного восстановления целостности кожного покрова как у лабораторных животных, так и человека.

Ключевые слова: амниотическая мембрана, мезенхимальные стволовые клетки, лечение ран

Objectives. To develop and substantiate the restoration technology of cutaneous integuments' integrity by means of the complex transplant consisting of the amniotic membrane and the autologous mesenchymal stem cells from the adipose tissue.

Methods. From 27 laboratory animals two experimental groups (the group with application of amniotic membrane and the autologous mesenchymal stem cells from the adipose tissue, and also the control group with spontaneous regeneration of wound defect) have been formed. The area of the wound surfaces was defined on 0, 10th and 20th days after transplantation. The skin biopsy material of all animal experimental groups was examined on the 20th day after the procedure. The first result of the clinical application of the developed restoration technique of the integumentary tissues wound defect in the conditions of a chronic arterial tissue ischemia is presented.

Results. It has been found out that allogenic amniotic membrane is a universal matrix for generating a complex skin transplant with mesenchymal stem cells from the adipose tissue. It serves a universal cell frame and matrix to transfer mesenchymal stem cells from the adipose tissue providing good conditions for the growth, differentiation and implantation of the cells coated on it.

In the experiment a reliably higher rate of the wound surface regeneration was observed in the animals with the transplant application in comparison with the control group. The first experience of a clinical application of the developed technique has shown a high rate of restoration of integrity of integuments' defects in the conditions of a chronic arterial ischemia of tissues.

Conclusions. The use of a complex transplant from amniotic membrane and mesenchymal stem cells from adipose tissue has shown the possibility of high-grade restoration of integrity of the integument both in the laboratory animals and in humans.

Keywords: amniotic membrane, mesenchymal stem cells, treatment of wounds

Novosti Khirurgii. 2012; Vol 20 (4): 9-16

Substantiation of complex transplant application on the basis of amniotic membrane and mesenchymal stem cells from the adipose tissue to restore the cutaneous integrity

Yu.M. Gain, E.P. Kisseleva, S.V. Shachrai

Введение

В настоящее время тканевая инженерия является одной из наиболее молодых отраслей в медицине, базирующейся на принципах молекулярной биологии и генной инженерии. Целью ее является конструирование вне организма функциональных компонентов, которые могут быть использованы для регенерации поврежденных тканей и/или органов [1]. Актуальной задачей данного направления является создание и применение биокомпозиционных материалов для восстановления целостности покровных тканей, вселяя большую надежду в полноценное выздоровление большому числу пациентов с заболеваниями и травмами, сопровождающимися утратой кожных покровов [2]. Успех этого направления часто определяется удачным выбором клеточного материала и адекватного носителя для трансплантируемых в организм реципиента клеток, особенно, когда речь идет о больших по площади дефектах кожных покровов. В плане клеточного материала большие перспективы мировая научная общественность возлагает на стволовые клетки [3]. По источнику происхождения выделяют эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) и тканеспецифические (мезенхимальные) стволовые клетки (МСК). Несмотря на очень высокий дифференцировочный потенциал эмбриональных стволовых клеток, считающихся истинными стволовыми клетками, особенно в отношении сложности их получения и использования (включая морально-этические соображения), все большее внимание исследователей привлекают МСК. К настоящему времени МСК получены из многих органов и тканей, в частности: костного мозга, жировой ткани, надкостницы и мышц [3]. Жировая ткань как источник стволовых клеток привлекательна возможностью получения их в большом количестве с минимальной инвазивностью для пациента [4].

Другой компонент биокомпозиционных материалов – подложка (или, как ее еще называют, поддерживающая матрица) тоже играет важную роль, поскольку она не только служит клеточным каркасом, но и должна обеспечивать хорошие условия для роста и дифференцировки клеток, нанесенных на нее. Как известно, большинство поддерживающих матриц получают из тканей млекопитающих [5]. Амниотическая мембрана (АМ) является важным потенциальным источником и, как нельзя лучше подходит для этих целей. Впервые в качестве самостоятельного трансплантата амниотическая мембрана была использована

для закрытия кожных дефектов в 1910 году [6]. Впоследствии АМ широко применялась для лечения трудно эпителизирующихся язв кожи, ожогов, использовалась при реконструктивных операциях в кардиохирургии, при пластике барабанной полости и слизистой оболочки носа [7]. Начиная с 40-х годов прошлого столетия, и по сей день АМ находит применение в офтальмологии для лечения заболеваний глаза, особое место среди них отводится ожоговой травме [7, 8].

Немаловажным свойством АМ, играющим огромную роль при ее использовании в качестве матрицы для культивирования клеток, является иммунологическая активность. Тот факт, что клетки эпителия АМ не имеют на своей поверхности HLA-A, B, C и DR антигенов делает ее прекрасным кандидатом для использования в качестве матрицы в тканевой инженерии [9].

Цель. Разработать и обосновать технологию восстановления целостности кожных покровов с помощью сложного трансплантата, состоящего из амниотической мембраны и аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани.

Материал и методы

Создание модели. Экспериментальные исследования проведены на 27 белых беспородных крысах обоего пола массой 200-225 г. Каждое животное размещали в индивидуальной клетке. Все условия содержания и кормления животных были идентичными и полностью соответствовали Республиканским санитарным нормам, правилам и гигиеническим нормативам (СанПИН 2.1.2.12-18-2006). Исследование динамики заживления изучали на модели экспериментальных полнослойных ран. Модель раны создавали следующим образом: под внутримышечным комбинированным наркозом (фентанил 0,005% + дроперидол 0,01% в соотношении 2:1, 0,5 мл на 100 г массы тела животного) в стерильных условиях у лабораторных животных в лопаточной области удаляли шерсть, кожу протирали 70% этанолом, иссекали кожный лоскут до мышечного слоя. Раздавливание краев раны и мышцы производили с использованием зажима Кохера. Площадь повреждения составляла не менее 10% от общей поверхности кожного покрова крысы. Для определения площади раневой поверхности ее фотографировали с лимитированного расстояния цифровой фотокамерой. На 0-ые, 10-ые и 20-ые сутки изображения переносили на компьютер, калибровали и из-

меряли площадь раневого поражения с помощью программы Scion Image (NIH, USA).

Согласно листу рандомизации были сформированы две экспериментальные группы: 1-ая (n=13) – с применением сложного трансплантата, состоящего из АМ и МСК ЖТ; 2-ая (n=14) – контрольная группа, где раны заживали в результате спонтанной регенерации. Животных выводили из эксперимента на 10-е, 20-е сутки путем однократного введения 3%-ного тиопентала натрия (трехкратная разовая передозировка барбитурата). Все исследования проводили в полном соответствии с современными принципами биоэтики, в том числе Европейской конвенцией по защите прав позвоночных животных, принятой в г. Страсбурге 18 марта 1986 года, и Всемирной декларацией прав животных (“Universal Declaration of Animal Rights”, принятой Международной Лигой Прав Животных 23 сентября 1977 года в Лондоне и объявленной 15 октября 1978 года в штабе ЮНЕСКО в г. Париже).

Гистологически исследовали биоптаты кожи экспериментальных животных на 20-е сутки после трансплантации. После фиксации в течение трех суток при температуре +4°C в 10%-ном нейтральном растворе формалина фрагменты кожи заливали в парафин по стандартной методике. Использовали серийные парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм. Окраска препаратов осуществлялась гематоксилином и эозином. На светооптическом уровне при изучении гистологических препаратов с помощью микроскопа фирмы “Zeiss” (увеличение $\times 100$ и $\times 200$) производили анализ морфологических изменений.

Выделение и культивирование МСК. Для получения аутологичных МСК как у человека, так и у лабораторных животных в стерильных условиях производили забор жировой ткани в объеме, равном 5-7 мл и 1-2 мл соответственно. Образцы жировой ткани подвергали ферментативной обработке коллагеназой I типа (“Sigma”, Германия), в результате чего получали клеточную суспензию, из которой путем центрифугирования высаждали фракцию стромальных клеток. Количественный выход клеток определяли при их подсчете в камере Горяева. Полученный клеточный осадок ресуспендировали в полной питательной среде и засеивали в культуральные чашки диаметром 60 мм в концентрации $3-4 \times 10^5$ ядросодержащих клеток на 1 см^2 поверхности культурального пластика. Удаление не прикрепившихся клеток проводили через 24 часа заменой питательной среды. Дальнейшую смену среды производили каждые четвертые сутки.

Для более полной характеристики полученных клеток оценивали их пластичность. МСК из жировой ткани подвергали направленной дифференцировке в адипоцитарном и остеогенном направлениях. Адипогенная дифференцировочная среда состояла из полной питательной среды с добавлением 50 мкг/мл индометацина, 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты и 10^{-7} М дексаметазона. На 28-30-е сутки культивирования культуры клеток окрашивали Oil Red O для выявления липидов. Для индукции дифференцировки в остеогенном направлении конфлюэнтные культуры МСК культивировали в остеогенной дифференцировочной среде, включающей полную питательную среду, с добавлением 10мМ бета - глицерофосфата, 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты, 10^{-8} М дексаметазона. На 28-30-е сутки культивирования культуры клеток окрашивали Alizarin Red для выявления минерализованного внеклеточного матрикса.

Для изучения экспрессии поверхностных маркеров мезенхимальными стволовыми клетками человека методом проточной цитометрии образцы клеток инкубировали с моноклональными антителами к антигенам CD31, CD105, CD34, CD45, CD44, CD90, конъюгированными с флуорохромами (фикоэритрин (PE), изотиоцианат флуоресцеина (FITC), алофи-коцианин (APC), фикоэритрин – цианин 7 (PC-7) (“Beckman Coulter”, США) Измерения и анализ результатов проводили с использованием проточного цитометра FC 500 (“Beckman Coulter”, США) с программным обеспечением.

Выделение амниотической мембраны. Создание трансплантата. Забор участка плаценты производили в роддоме в стерильных условиях у здоровых рожениц в ходе плановых операций Кесарева сечения, проводимых по стандартной технологии по медицинским показаниям. Пациентки выразили письменное информированное согласие на предоставление материала для исследования. После рождения ребенка и осмотра последа, плаценту помещали для транспортировки в физиологический раствор. В лаборатории плаценту в стерильных условиях очищали от сгустков крови в 0,9%-ном растворе хлорида натрия. Затем несколько раз промывали стерильным физиологическим раствором, содержащем 50 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина и 100 мкг/мл неомицина. После этого АМ отделяли от подлежащего хориона тупым способом и нарезали до необходимого размера.

Для визуализации МСК на амниотической мембране производили их окрашивание квантовыми точками, по описанной ранее

нами методике [10] или РКН-26 согласно протоколу фирмы-изготовителя. Для создания трансплантатов использовали клетки 1-3-го пассажей. АМ необходимого размера укладывали в культуральные чашки и засеивали клетки в концентрации не менее 1×10^5 на см^2 . Для оценки жизнеспособности клеток применяли методы витальной окраски с использованием флуоресцентных красителей (акридинового оранжевого и Хекста 33342/пропидий йодида). Подготовленные трансплантаты переносили на рану животных и фиксировали к краям раны одиночными узловыми швами. Во всех группах на раны накладывали стерильные повязки. Животных размещали в индивидуальных клетках.

Морфологический анализ культур клеток.

Культуры исследовали с использованием инвертированного микроскопа Carl Zeiss Axiovert 200 (Германия) с применением методов светлого поля, бокового освещения, фазового и Varel-контрастов, эпифлуоресценции.

Статистическая обработка полученных количественных данных в ходе эксперимента проводилась с использованием статистической программы «STATISTICA 6.0» фирмы StatSoft (США). Оценка статистической значимости различий между сравниваемыми показателями проводилась Mann-Whitney U тестом. Сравнение в группах по индивидуальным параметрам проводилось с помощью χ^2 теста. Различия считали статистически значимыми при степени безошибочного прогноза равной 95% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Морфология культур и оценка дифференцировочного потенциала МСК. Полученные в результате культивирования клетки, начиная с первого пассажа, были морфологически идентичными и представляли собой гомогенную культуру характерного веретеновидного фибробластоподобного вида. Культивирование МСК в адипогенной среде приводило к появлению клеток с крупными вакуолями в цитоплазме. Наличие липидных включений подтверждалось положительной окраской Oil Red O на 30-е сутки культивирования. Полученные клетки были способны дифференцироваться и в остеогенном направлении: так, уже на первой неделе наблюдалось формирование многослойных узлов и формирование депозитов кальция, что на 30-е сутки культивирования достоверно подтверждалось окрашиванием ализариновым красным (Alizarin Red).

Проведенное фенотипирование показало,

что выделенные из жировой ткани человека клеточные культуры характеризовались высоким уровнем экспрессии специфических маркеров мезенхимальных стволовых клеток (CD90, CD44, CD105). При этом полученные культуры не экспрессировали маркеры эндотелиальных клеток CD31, гемопоэтических клеток CD34 и клеток миело-лимфоцитарного ряда CD45.

Использование флуоресцентных красителей позволило визуализировать МСК на амниотической мембране. Маркировка МСК не влияла на их способность к адгезии, и клетки быстро прикреплялись к матрице.

Распластывание клеток на поверхности амниотической мембраны, можно было наблюдать уже в первые часы после их посадки. На 2-е сутки количество клеток на носителе прогрессивно увеличивалось. К 3-м суткам культивирования МСК ЖТ образовывали колонии, сохраняя типичную фибробластоподобную морфологию, причем отростки клеток (от 2 до 6 у одной клетки), анастомозируя между собой, образовывали непрерывную сеть (рис. 1).

В ходе эксперимента установлено, что при нанесении комплексного трансплантата на рану клетки мигрировали с трансплантата на раневую поверхность, что было подтверждено микроскопически: после снятия подложки с раневого дефекта лабораторных животных, меченых клеток на ней обнаружено не было.

Анализ результатов визуального и планиметрического осмотра ран показал наличие процесса регенерации как в контрольной группе, так и в группе после применения АМ с иммобилизованными на ней МСК. Однако темп спонтанного заживления ран был достоверно более низким, что отчетливо видно из данных рис. 2, на котором сравнены площади раневого дефекта, составившие на 10-е сутки наблюдения 17,5 (16,4÷18,5) и 5,01 (4,0÷5,4) см^2 в контрольной и опытной группах, соответственно.

Выявленные различия в темпах заживления ран в опытной и контрольной группах сохранились и на 20-ые сутки эксперимента (рис. 3). К этому моменту площадь раневого дефекта в контрольной группе была еще в пределах 14,2 (12,9÷15,3) см^2 , в то время как в опытной группе этот показатель снизился до 2,18 (1,9÷2,5) см^2 . В целом при сопоставлении скорости заживления ран наблюдается достоверно более быстрая регенерация кожи в группе животных с применением трансплантата, по сравнению с таковой в контрольной группе.

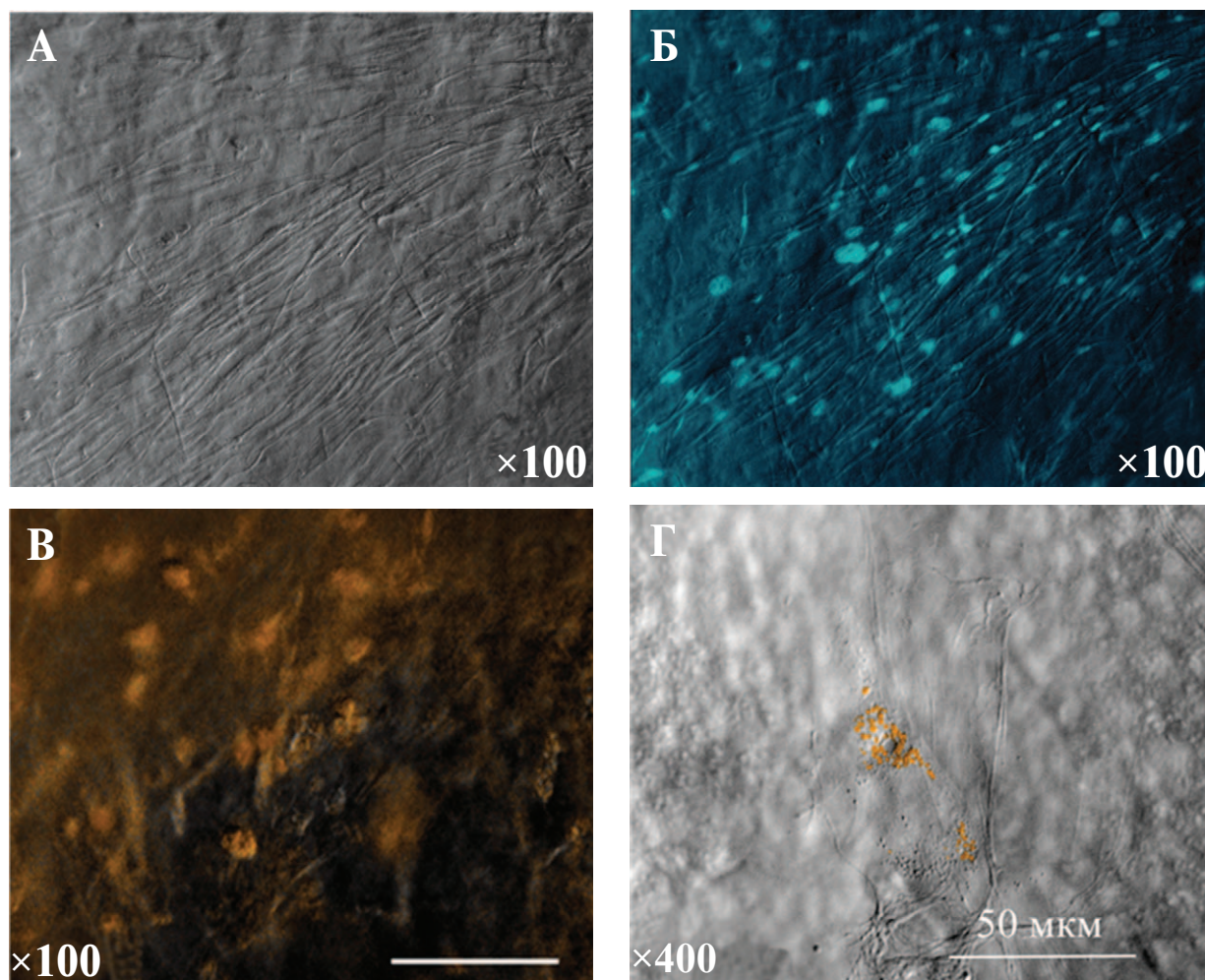


Рис. 1. Распределение мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на поверхности амниотической мембраны при создании сложного трансплантата для восстановления целостности кожных покровов (А – мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани на амниотической мембране (7-е сутки), ув. $\times 100$; Б – окраска Hoechst 33342 мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на амниотической мембране, ув. $\times 100$; В – мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани, меченные квантовыми точками (7-е сутки), ув. $\times 100$; Г – мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани на амниотической мембране, ув. $\times 400$)

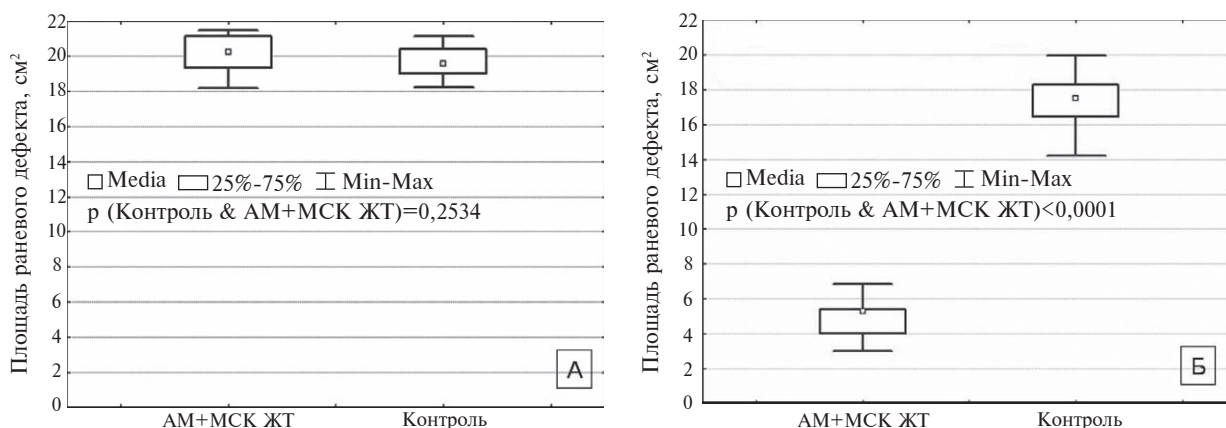


Рис. 2. Медианно-квартильное распределение площади раневого дефекта в группах сравнения при применении разработанного трансплантата и при спонтанном заживлении (А – 0-е сутки, Б – 10-е сутки после операции) Обозначение: АМ+МСК ЖТ – группа с использованием сложного клеточного трансплантата; контроль – контрольная группа животных со спонтанной регенерацией раны

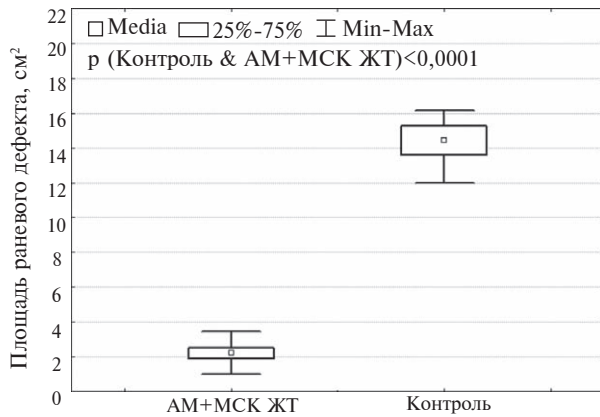


Рис. 3. Медианно-квартильное распределение площади раневого дефекта в группах сравнения на 20-е сутки. Обозначение: AM+МСК ЖТ – группа с использованием сложного клеточного трансплантата; контроль – контрольная группа животных со спонтанной регенерацией раны

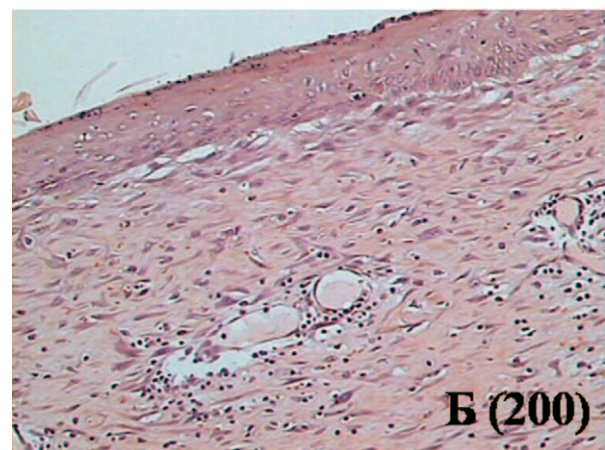
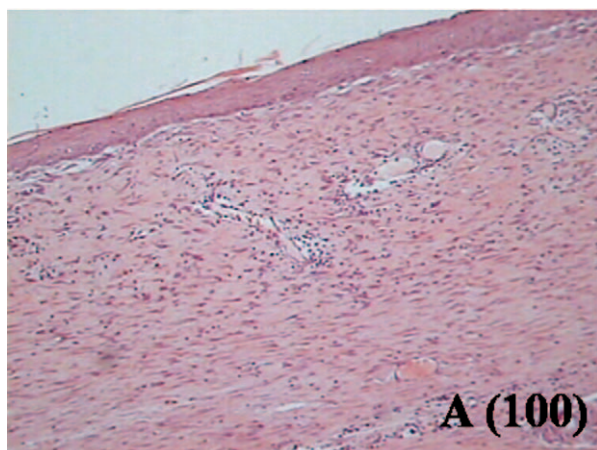
Более того, данные гистологического исследования показали, что в группе контроля к 20-м суткам эпителизация раны еще отсутствовала. Дефект был прикрыт гнойно-некротическими массами, формирующаяся ткань была грануляционно-фиброзного типа с умеренно выраженным отеком и отчетливой воспалительной инфильтрацией. Напротив, в опытной группе к этому моменту у части крыс уже наблюдалась почти полная эпителизация раневого дефекта. Отмечалось значительное уменьшение экссудативно-воспалительных изменений в формирующейся рубцовой ткани, что отражалось в уменьшении отека и воспалительной инфильтрации. Наблюдалось формирование грубоволокнистой фиброзной ткани. Отек являлся лишь очагово, преимущественно перичеллюлярно или периваскулярно, слабой или умеренной степени выраженности (рис. 4).

Таким образом, достоверно более высокий темп регенерации раневой поверхности в

группе с применением трансплантата по сравнению с контрольной гистологически проявлялся в ускорении смены фаз процесса регенерации.

Первый клинический опыт применения сложного трансплантата, состоящего из AM и аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, был осуществлен на базе 11-й клинической больницы г. Минска. Пациент 1950 года рождения (61 год) поступил в хирургическое отделение с диагнозом «Обширная гранулирующая рана левой голени; облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей нижних конечностей, стеноз берцовых сегментов слева, окклюзия правой подколенной артерии, стадия II-III по Фонтейну-Покровскому» 23.09.11 г. и находился на лечении до 18.10.11 г. Из анамнеза установлено, что четыре месяца назад получил бытовую травму (падение в смотровую яму гаража с возникновением обширной скальпированной раны левой голени). Лечился в условиях стационара одной из больниц и поликлиники г. Минска по месту жительства. Через 3-е суток после первичной хирургической обработки раны развился некроз кожного лоскута скальпированной раны. Пациенту была выполнена некрэктомия. Проводилась консервативная терапия (сосудорасширяющие препараты, антикоагулянты, дезагреганты, антибиотики, перевязки). В течение месяца после травмы было отмечено отсутствие эффекта эпителизации. Пациенту производился этап трансплантации расщепленного кожного лоскута с неудовлетворительным конечным результатом. На момент поступления в 11-ю клиническую больницу г. Минска по передней наружной поверхности левой голени имелся раневой дефект с вялогранулирующей поверхностью 23×16 см (рис. 5 А).

Рис. 4. Гистологическая картина на 20-е сутки в группе с применением трансплантата: фиброзная ткань с сосудами (А), очаги отека (Б), (окраска гематоксилином и эозином, ув. А – ×100, Б – ×200),



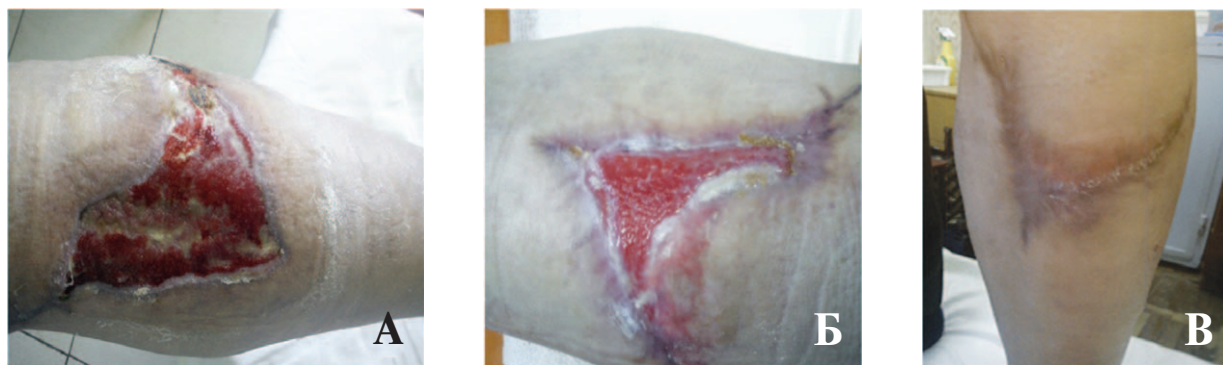


Рис. 5. Вид раны пациента

А – при поступлении; Б – спустя две недели после трансплантации; В – спустя месяц после трансплантации

По данным дуплексного сканирования нижних конечностей, у пациента имеется стеноз передних и задних берцовых артерий до 70% просвета. Пациент выразил письменное информированное согласие на проведение лечения с использованием клеточной терапии. В условиях операционной 11-й клинической больницы г. Минска 27.09.11 г. под местной анестезией пациенту был произведен забор жировой ткани из параумбиликальной области в объеме 5-7 мл. Жировая ткань в стерильной пробирке с указанием времени забора и индивидуальным номером доставлена в иммунологическую лабораторию для последующего выделения мезенхимальных стволовых клеток. После формирования сложного трансплантата 11.10.11 г. пациенту была выполнена аппликация амниотической мембраны с иммобилизованными на ней аутологичными мезенхимальными стволовыми клетками. Контрольный осмотр через неделю выявил выраженную краевую эпителизацию раны и множественные островки эпителизации в центре с заживлением 20-30% площади. Пациент переведен на амбулаторное лечение. Контрольный осмотр через две недели выявил эпителизацию 60-70% раны (рис. 5 Б). Спустя месяц после трансплантации у пациента наблюдалось полное закрытие раневого дефекта (рис. 5 В).

Выводы

1. Аллогенная амниотическая мембрана является универсальной матрицей для создания сложного трансплантата с мезенхимальными стволовыми клетками из жировой ткани. Она служит универсальным клеточным каркасом и матрицей для переноса мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, обеспечивая хорошие условия для роста, дифференцировки и имплантации нанесенных на нее клеток.

2. Экспериментальная оценка использова-

ния комплексного трансплантата из амниотической мембраны и мезенхимальных стволовых клеток продемонстрировала возможность полноценного восстановления дефектов покровных тканей при его применении у лабораторных животных.

3. Первый успешный клинический опыт применения разработанной технологии восстановления дефектов покровных тканей человека, с использованием комплексного трансплантата, состоящего из аллогенной амниотической мембраны и слоя аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, позволяет рассматривать данный метод как альтернативу аутодермопластики (особенно, в условиях дефицита аутологичного донорского материала, инфицирования раны и ишемии тканей в зоне трансплантации).

ЛИТЕРАТУРА

1. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends / J. F. Mano [et al.] // *J R Soc Interface*. – 2007. – Vol. 4. – P. 999–1030.
2. Langer R. Tissue engineering / R. Langer, J. Vacanti // *Science*. – 1993. – Vol. 260. – P. 920–926.
3. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood or adipose tissue / S. Kern [et al.] // *Stem Cells*. – 2006. – Vol. 24. – P. 1294–1301.
4. Characterization of human adult stem-cell populations isolated from visceral and subcutaneous adipose tissue / S. Baglioni [et al.] // *The FASEB J*. – 2009. – Vol. 23, N 10. – P. 3494–3505.
5. The Young's modulus of fetal preterm and term amniotic membranes / J. Benson-Martin [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. – 2006. – Vol. 128. – P. 103–107.
6. Davis J. W. Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital / J. W. Davis // *Med J*. – 1910. – Vol. 15. – P. 307–396.
7. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction / M. Fernandes [et al.] // *Cornea*. – 2005. – Vol. 24. – P. 643–653.

8. Tissue engineering of blood vessels / M. S. Baguneid [et al.] // Br J Surg. – 2006. – Vol. 93. – P. 282–290.
9. Szekeres-Bartho J. Immunological relationship between the mother and the fetus / J. Szekeres-Bartho // Int Rev Immunol. – 2002. – Vol. 21. – P. 471–495.
10. Витальная маркировка МСК квантовыми точками на основе селенида кадмия / Е. А. Петрова [и др.] // Лаб. диагностика. – 2012. – № 2. – С. 106–113.

Адрес для корреспонденции

210013, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. П. Бровки, д. 3, кор. 3,
ГУО «Белорусская медицинская академия
последипломного образования»,
тел. раб.: 8-017 292-25-52,
e-mail: nauka@belmapo.by,
Гаин Юрий Михайлович

Сведения об авторах

Гаин Ю.М., д.м.н. профессор, проректор по научной работе, профессор кафедры неотложной хирургии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Киселёва Е.П., аспирант кафедры неотложной хи-

рургии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Шахрай С.В., к.м.н., доцент кафедры неотложной хирургии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Поступила 31.05.2012 г.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

**11-13 октября 2012 года, в г. Москве планируется проведение
I МЕЖДУНАРОДНОГО КОНГРЕССА «РАНЫ И РАНЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ»**

Конгресс посвящен 90-летию одного из основателей первого в СССР специализированного отделения ран и раневых инфекций, профессору Б.М. Костюченку.

На Конгрессе планируется обсудить самый широкий спектр теоретических и практических вопросов, касающихся современного состояния проблемы «Раны и раневые инфекции», в таких направлениях хирургии как: травматология и ортопедия, сосудистая и кардиоторакальная хирургия и другие. Будут рассматриваться вопросы лечения ран, гнойных заболеваний и осложнений в хирургии взрослого и детского возраста; анестезии и интенсивной терапии; при ранах и раневых инфекциях в клинике гнойной хирургии; при катастрофах и локальных конфликтах. Пройдут обучающие школы по хирургическому лечению гнойно-некротических поражений синдрома диабетической стопы; стратегии и тактике высоких ампутаций при критической ишемии нижних конечностей; реконструктивным и пластическим операциям в гнойной хирургии и травматологии детского возраста; проблемам интенсивной терапии тяжелых форм хирургической инфекции.

Организаторы:

Институт хирургии им. А.В.Вишневского;
НИИ неотложной детской хирургии и травматологии.

Место проведения: г. Москва, ул. Б. Серпуховская, д. 27,

Институт хирургии им. А.В. Вишневского

Контакты: 117997, г. Москва, ул. Б.Серпуховская, д. 27,

Институт хирургии им. А.В. Вишневского,

Тел: (499) 236-65-65,

Факс: (499) 237-08-14,

E-mail: zotova@ixv.comcor.ru

Дополнительная информация на сайте: <http://www.ixv.ru>