

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ КУЛЬТУРЫ АЛЛОГЕННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГЛУБОКИХ ОЖОГОВ КОЖИ

Костякова А.В.¹, Костяков Д.В.^{1,2}, Зиновьев Е.В.^{1,3,4}, Солошенко В.В.¹, Крылов П.К.¹, Семиглазов А.В.¹, Вегера Д.С.¹, Васильева А.Г.³

¹ ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», 192242, Россия, г. Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит. А

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9.

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6.

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Современный уровень развития науки позволил получить углубленное представление о механизмах репарации раневых дефектов, в т.ч. ожоговых, а также клеточных линий в нем участвующих. Это расширило возможности регенеративной медицины за счет селективного применения определенных культур клеток с целью восстановления поврежденных мягких тканей. Однако, в настоящее время отсутствуют общепринятые показания и критерии, на основании которых осуществляется выбор клеточного продукта. С целью решения данной проблемы проведено комплексное исследование биотехнологических способов восстановления кожного покрова у обожженных одним из этапов которого является настоящая работа.

Цель исследования: экспериментально оценить эффективность аппликации клеточного продукта на основе аллогенных фибробластов при лечении глубокой ожоговой раны у животных.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено с участием 60 мелких лабораторных животных, которым моделировался глубокий ожог кожи. Все грызуны разделялись на две равные группы с учетом выбранного метода ведения ран: без лечения (контроль) и аппликация клеточных продуктов на основе аллогенных фибробластов животных. В ходе работы изучались показатели планиметрии и мазко-отпечатков с раневой поверхности, а также структура биоптатов ран. Статистическая обработка данных осуществлена в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики. Альтернативная гипотеза принималась при $p < 0,05$.

Результаты. Установлено, что трансплантация аллогенных фибробластов позволяет ускорить восстановление экспериментальных ран уже к 21-м суткам лечения ран на 85,1% ($p < 0,05$) по сравнению с группой животных без лечения. При этом также отмечено увеличение толщины соединительной ткани и количества новообразованных сосудов в 2 раза ($p < 0,05$) и в 2,8 раза ($p < 0,05$), соответственно. Отмечено, что аппликация аллофибробластов обеспечивает оптимизацию течения раневого процесса за счет снижения концентрации клеток воспалительного звена на 52,2% ($p < 0,05$) и увеличения популяции ответственной за репаративную регенерацию в 3,4 раза ($p < 0,05$). Это подтверждается результатами морфологических исследований биоптатов ран, свидетельствующих о формировании более зрелой и высокодифференцированного эпителия.

Заключение. Полученные данные позволяют заключить, что использование аллогенных фибробластов на разработанной модели глубокого ожога кожи достоверно ускоряет репаративную регенерацию и обеспечивает более быстрое восстановление раневого дефекта. При этом отмечается оптимизация течения раневого процесса, отражающаяся в снижении концентрации клеток воспалительного звена и увеличении количества

фибробластов и фиброцитов. Результаты экспериментального исследования свидетельствуют о перспективности анализируемой методики лечения ожоговых поражений и необходимости дальнейшего, в т.ч. клинического её изучения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ожог кожи, экспериментальная рана, клеточные продукты, фибробласты, биотехнологии

Для корреспонденции: Костяков Денис Валерьевич, dr.kosdv@ya.ru

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF USING ALLOGENEIC FIBROBLAST CULTURE IN THE TREATMENT OF DEEP BURN WOUNDS

Kostyakova A.V.¹, Kostyakov D.V.^{1,2}, Zinoviev E.V.^{1,3,4}, Soloshenko V.V.¹, Krylov P.K.¹, Semiglazov A.V.¹, Vegera D.S.¹, Vasilyeva A .G.³

¹ *Saint Petersburg I.I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine,
192242, Russia, St. Petersburg, Budapestskaya st., 3, lit. A*

² *St Petersburg University, Saint Petersburg State University, 199034, St. Petersburg,
Universitetskaya embankment, 7-9*

³ *Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, 194100, St. Petersburg,
Litovskaya street, 2*

⁴ *S. M. Kirov Military Medical Academy, 194044, St. Petersburg, st. Academician
Lebedev, 6*

ABSTRACT

Rationale. The current level of scientific development has allowed us to obtain an in-depth understanding of the mechanisms of wound defect reparation, including burns, as well as the cell lines involved. This has expanded the capabilities of regenerative medicine through targeted selective use of certain cell-based populations

to restore damaged soft tissues. However, there are currently no generally accepted indications and criteria for selecting a cellular product. In order to solve this problem, a comprehensive study of biotechnological methods for restoring the skin in burn victims was conducted, one of the stages of which is this work.

Objective of the study: to experimentally evaluate the effectiveness of the application of a cellular product based on allogeneic fibroblasts in the treatment of a deep burn wound in animals.

Materials and methods. The experimental study was performed using 30 small laboratory animals that were modeled for a deep skin burn. All rodents were divided into two equal groups based on the selected wound management method: no treatment (control) and application of cellular products based on allogeneic animal fibroblasts. The study included planimetry, smear impressions from the wound surface, and wound biopsy specimens. Statistical data processing was performed using generally accepted variation statistics methods. The alternative hypothesis was accepted at $p < 0.05$.

Results. It was found that allogeneic fibroblast transplantation accelerated the recovery of experimental wounds by 85.1% ($p < 0.05$) as early as the 21st day of treatment compared to the group of animals without treatment. Connective tissue thickness and the number of newly formed vessels increased by 2 times ($p < 0.05$) and 2.8 times ($p < 0.05$), respectively. It is noted that the application of allofibroblasts optimizes the course of the wound process by reducing the concentration of inflammatory cells by 52.2% ($p < 0.05$) and increasing the population responsible for reparative regeneration by 3.4 times ($p < 0.05$). This is confirmed by the results of morphological studies of wound biopsies, indicating the formation of a more mature and highly differentiated epithelium.

Conclusion. The data obtained allow us to conclude that the use of allogeneic fibroblasts on the developed skin burn model reliably accelerates reparative regeneration and ensures faster restoration of the wound defect. At the same time, optimization of the course of the wound process is noted, reflected in a decrease in the concentration of inflammatory cells and an increase in the number of fibroblasts and

fibrocytes. The results of the experimental study indicate the promise of the analyzed method for treating burn injuries and the need for further, including clinical, study.

KEYWORDS: skin burn, experimental wound, cellular products, fibroblasts, biotechnology

For correspondence: Kostyakov Denis Valerievich, dr.kosdv@ya.ru

Введение. Несмотря на активное развитие регенеративной медицины в настоящее время клеточные технологии занимают неопределенное место в хирургии, в т.ч. комбустиологии [1-3]. Открытыми остаются юридические аспекты использования биологического материала в медицине [4-5]. Вступивший в силу в 2017 году ФЗ № 180 «О биомедицинских клеточных продуктах» на протяжении последних лет ежегодно дополняется, а ряд статей зачастую критически пересматривается, что свидетельствует об отсутствии единого разработанного механизма, регламентирующего все аспекты применения клеточных продуктов в системе здравоохранения [6-7]. Профильными специалистами активно ведутся дискуссии и относительно показаний к использованию биотехнологий, способах трансплантаций и композиции продуктов, содержащих клетки человека и тд. [8-10] С целью поиска ответов на ряд поставленных выше вопросов проведено комплексное исследование возможностей применения биотехнологических методов восстановления кожного покрова при ожогах кожи. Одним из этапов работы является экспериментальная оценка регенераторного потенциала культуры аллогенных фибробластов на модели глубокой ожоговой раны.

Цель исследования: экспериментально оценить эффективность аппликации клеточного продукта на основе аллогенных фибробластов при лечении глубокой ожоговой раны у животных.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование выполнено в научно-исследовательской лаборатории экспериментальной хирургии научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ в 2020-

2021 гг. В работе использовано 60 мелких лабораторных животных (крыс) обоего пола линии Wistar массой 200 – 250 г., которые были разделены на две равные группы: без лечения (контроль) и аппликация клеточного продукта на основе аллогенных фибробластов животных. При работе соблюдались все требования основных нормативно-правовых документов, например, положения Директивы ЕС 2010/63/ЕС; «Международной Хельсинской конвенции о гуманном отношении к животным» (1972); «Методических рекомендаций по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран»; «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ».

Ожоги кожи III степени (МКБ-10) воспроизводили по авторской методике (рационализаторское предложение ВМедА №14287/1 от 19.01.2016 г.) под общей анестезией с использованием паров эфира и Золетила 100. После подготовки операционного поля животное фиксировали к лабораторному столу. Разметку ожога осуществляли трафаретом площадью 16 см² (10% площади тела крысы). На депилированной коже спины животного датчиком электротермопары мультиметра Electroline (Китай) определяли температуру кожи и металлической пластины, нагреваемой через резистивный нагревательный элемент. Время экспозиции – 10 секунд при температуре на поверхности кожи – 95-97 градусов Цельсия (рис. 1). Через 60 минут после нанесения ожога выполнялась радикальная некрэктомия до фасции (рис. 2).



Рисунок 1. Кожа крысы после воспроизведения ожога III степени



Рисунок 2. Раневая поверхность после выполнения некрэктомии

Клеточный продукт на основе аллогенных фибробластов животных наносился на рану аппликационно и фиксировался раневым покрытием «Воскопран с левомеколем» (ООО «Биотекфарм», Россия). На протяжении 24 часов (один раз в три часа) после нанесения клеток с целью поддержания условий влажной среды и профилактики дегидратации клеточной культуры область ожога орошалась физиологическим раствором (NaCl 0,9%).

Изучение эффективности избранных методик лечения и фотографирование ран проводили каждый день. Выполняли оценку общего состояния животных, осмотр ран, отмечали характер отделяемого, наличие и вид грануляций. Динамику заживление раневых поверхностей изучали с помощью цифрового способа (патент РФ № 2818906).

Отбор биоптатов и мазко-отпечатков для морфологического и цитологического исследований осуществляли на 3-е, 7-е, 12-е, 15-е, 21-е, 28-е сутки лечения. Биологический материал для светооптической микроскопии фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина с последующей проводкой через спирты восходящей концентрации и заливкой в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Мазки-отпечатки

для цитологического исследования изготавливали и оценивали по методике М.Ф. Камаева.

Обработка полученных результатов проводилась в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики. В качестве среднего значения использовалась медиана с 25-м и 75-м квартилями (Me (Q₂₅; Q₇₅)). Тип распределение выборки оценивался с помощью W-критерия Шапиро-Уилка. Статистическая значимость различий между группами исследования анализировалась путем применения U-критерия Манна-Уитни. Альтернативная гипотеза принималась при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Динамика репаративной регенерации экспериментальных ожоговых ран с учетом группы исследования представлена в таблице 1.

Таблица 1

Планиметрическая оценка динамики заживления глубокого ожога у животных с учетом трансплантации аллофибробластов

Группы исследования	Площадь экспериментальной раны, см ² , Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)			
	7 сутки	14 сутки	21 сутки	28 сутки
контрольная группа	13,8 (12,4; 15,3)	10,3 (8,7; 12,8)	8,1 (6,8; 10,1)	5,7 (4,4; 8,6)
трансплантация аллофибробластов	9,9* (8,7; 13,5)	3,2* (2,7; 3,8)	1,2* (0,9; 2,1)	0* (0; 0,3)

Примечание – U-критерий Манна-Уитни: * – значимость ($p < 0,05$) различий по сравнению с группой контроля

Установлено, что аппликация клеточного продукта на основе аллогенных фибробластов на глубокую ожоговую рану позволяет достоверно ускорить процесс репаративной регенерации. Уже к исходу второй и третьей недель наблюдения на фоне применения клеток раневой дефект сократился, соответственно, до 3,2 см² и 1,2 см², что на 68,8% ($p < 0,05$) и 85,1% ($p < 0,05$)

меньше относительно контроля. На 28-е сутки в группе животных, которым выполнялась трансплантация аллофибробластов, экспериментальная рана полностью восстановилась, тогда как в группе контроля анализируемый показатель соответствовал 5,7 см².

Результаты цитологического исследования мазков-отпечатков с раневой поверхности экспериментальных глубоких ожогов кожи представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Цитологическая картина поверхности глубокого ожога у животных с
учетом трансплантации фибробластов**

Анализируемые параметры	Показатели цитогамм в зависимости от тактики ведения экспериментальных ран и длительности их лечения, %, Ме (Q ₂₅ ; Q ₇₅)			
	контрольная группа		трансплантация аллофибробластов	
	7 сутки	21 сутки	7 сутки	21 сутки
сегментоядерные нейтрофилы	54,1 (51,2; 58,6)	34,5 (31,1; 39,8)	31,3* (28,4; 39,8)	16,5* (14,7; 19,9)
макрофаги	2,7 (1,7; 3,1)	8,9 (6,5; 10,5)	2,4 (1,8; 2,9)	4,2* (3,5; 5,9)
фибробласты	1,2 (0,7; 1,7)	2,7 (1,1; 3,79)	6,9* (5,1; 7,4)	9,1* (7,9; 11,5)
фиброциты	10,5 (8,1; 12,6)	18,4 (17,5; 20,5)	23,4* (21,3; 25,9)	35,6* (31,2; 38,9)

Примечание – U-критерий Манна-Уитни: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля на аналогичной точке исследования

Результаты, представленные в таблице 2, позволяют сделать вывод о том, что аппликация аллогенных фибробластов позволяет оптимизировать течение раневого процесса за счет снижения провоспалительных клеток и повышения концентрации популяций регенераторного звена. Число нейтрофилов на 7-е и 21-е сутки наблюдения на фоне применения клеточного продукта оказалось меньше на 42,1% ($p < 0,05$) и 52,2% ($p < 0,05$) меньше относительно контроля. При этом концентрация фибробластов имела обратную тенденцию. К исходу третьей

недели наблюдения их количество было в 3,4 ($p<0,05$) раза больше по сравнению с группой животных без лечения.

Морфологические исследование биоптатов мягких тканей свидетельствует о том, что на фоне применения клеточного продукта на основе аллофибробластов на 21-е сутки лечения дно раны было представлено зрелой соединительной тканью со слабо выраженной воспалительной инфильтрацией. По краям дефекта визуализировались участки эпителизации высокодифференцированным эпителием. На микропрепарате визуализируется большое количество зрелой соединительной ткани с признаками активной краевой эпителизации (рис. 3).

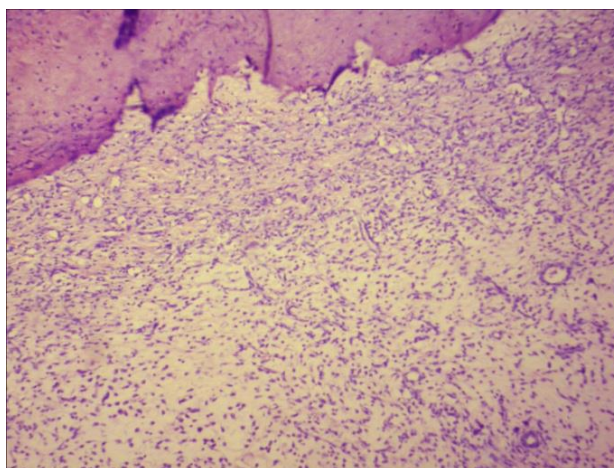


Рисунок 3. Кожа крысы на 21-е сутки лечения глубоких ожогов с использованием аллофибробластов. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 100

В группе животных без лечения рана была представлена чередующимися участками созревающей, молодой и зрелой соединительной ткани с выраженной нейтрофильной и лимфоцитарной инфильтрацией. Эпителий был представлен низкодифференцированной популяцией клеток. Микропрепарат равномерно заполнен созревающей, молодой и зрелой соединительной тканью с выраженной воспалительной инфильтрацией, частично покрытой низкодифференцированным эпителием (рис. 4).

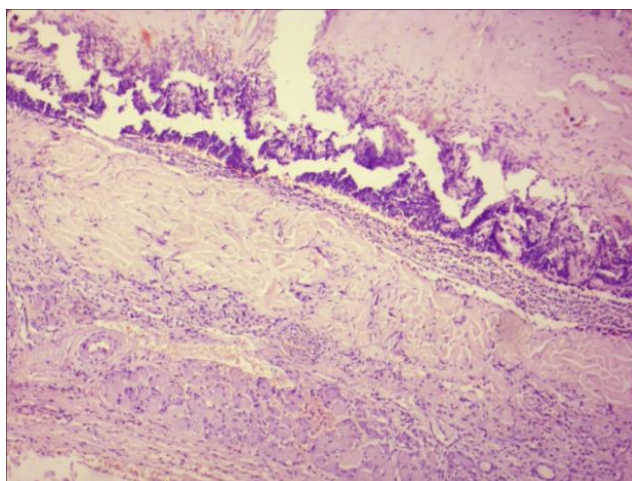


Рисунок 4. Кожа крысы на 21-е сутки наблюдения в группе животных без лечения. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение X 100

С целью дополнительного углубленного изучения особенностей репаративной регенерации в ожоговой ране на фоне применения аллогенных фибробластов выполнено измерение толщины грануляционной ткани и количества новообразованных сосудов. Результаты исследования первой представлены в таблице 3.

Таблица 3

Толщина грануляционной ткани в области глубокого ожога у животных к исходу первой недели наблюдения с учетом трансплантации аллофибробластов

Группы исследования	Толщина ткани, мкм, Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)
контрольная группа	987,3 (734,8; 1198,2)
трансплантация аллофибробластов	2002,1 ¹ (1745,9; 2258,3)

Примечание – U-критерий Манна-Уитни: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля

Согласно данным, приведенным в таблице 3, можно сделать вывод о том, что применение культуры аллогенных фибробластов при лечении глубоких ожогов кожи у животных позволяет достоверно увеличить активность роста соединительной ткани. На 7-е сутки лечения данный показатель составил 2002,1 мкм, что в 2 ($p<0,05$) раза больше относительно группы контроля.

Результаты исследования количества новообразованных сосудов в биоптатах экспериментальных глубоких ожоговых ран к исходу месяца представлены в таблице 4.

Таблица 4

Особенности микроциркуляторного русла в области глубокого ожога у животных на 28-е сутки наблюдения с учетом трансплантации аллофибробластов

Группы исследования	Количество новообразованных сосудов, ед. в поле зрения, Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)
контрольная группа	13 (10; 17)
трансплантация аллофибробластов	37* (31; 41)

Примечание – U-критерий Манна-Уитни: * – значимость ($p<0,05$) различий по сравнению с группой контроля

Полученные данные согласуются с результатами изучения толщины соединительной ткани. Аппликация клеток позволила усилить не только рост грануляций, но и стимулировать ангиогенез. На фоне применения клеточных продуктов на основе аллогенных фибробластов количество новообразованных сосудов соответствовало 37 единицам, что в 2,8 ($p<0,05$) раза больше относительно группы животных без лечения.

Выводы. На основании полученных данных можно сделать следующие вывод:

1. Культура аллофибробластов является высокоэффективным стимулятором репаративной регенерации в зоне глубокого ожога кожи. Её применение позволило добиться полного восстановления экспериментальной раны уже к 28-м суткам наблюдения, а также увеличить толщину соединительной ткани в области дефекта в 2,8 ($p<0,05$) раза по сравнению с группой животных без лечения.

2. Аппликация клеточных продуктов с аллофибробластами позволяет оптимизировать течение раневого процесса за счет снижения концентрации клеток воспалительного звена на 52,2% ($p<0,05$) и увеличения популяции ответственной за репаративную регенерацию в 3,4 раза ($p<0,05$). Это подтверждается результатами морфологических исследований биоптатов ран, свидетельствующих о формировании более зрелой соединительной ткани и высокодифференцированного эпителия.

3. Применение биотехнологий стимулирует не только рост соединительной ткани, но и ангиогенез. Изучение биоптатов ран позволило подтвердить увеличение количества новообразованных сосудов в 2,8 раза ($p<0,05$) по сравнению с контролем.

Заключение. Результаты экспериментального исследования подтверждают перспективность разработки и применения клеточных продуктов на основе аллогенных фибробластов при лечении ожогов кожи. Данная клеточная линия снижает интенсивность воспаления повышая при этом активность клеток регенераторного звена. Аппликация культуры аллофибробластов обладает выраженным влиянием на рост и созревание соединительной ткани, что подтверждается результатами морфологических исследований. Полученные данные обосновывают необходимость проведения углубленного клинического изучения клеточной линии у пострадавших как с пограничными, так и глубокими ожогами кожи.

Список литературы

1. Канев А.А., Кураков Ф.А., Черченко О.В., Цветкова Л.А. Развитие регенеративной медицины в России и в мире: исследователи-лидеры и технологические драйверы. *Экономика науки*. 2022; 8(3-4): 202-219.
2. Дерий Э.К., Костяков Д.В., Мовчан К.Н. и др. Биотехнологические методы местного лечения ожоговых поражений (Обзор литературы). *Medline.ru*. 2022; 23(1): 481-498.
3. Алексеев А.А., Зиновьев Е.В., Костяков Д.В. и др. Эффективность аутодермопластики в комбинации с инъекционным введением аутологичной стромально-васкулярной клеточной фракции при лечении глубоких ожогов. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2024; 17; 2(63): 51-59.
4. Давиденко А.О. Особенности правового регулирования наименований биомедицинских клеточных продуктов. *Социально-политические науки*. 2022; 12(2): 55-59.
5. Таубэ А.А., Болатбекова М.С., Мельникова Е.В. и др. Особенности развития сферы биомедицинских клеточных продуктов в России. *Фармакоэкономика: теория и практика*. 2021; 9(3): 18.
6. Приходько Е.М., Супильникова О.В., Масленникова И.И. и др. Создание банка клеточных культур: опыт Центра клеточных технологий «Покровский». *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2024; 23(11): 4173.
7. Мельникова Е.В., Рачинская О.А., Меркулова О.В. и др. Методические аспекты разработки нормативной документации на биомедицинский клеточный продукт. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021; 21(2): 122-135.
8. Ласточкина Д.В., Касьянов А.Д., Гришина Г.В. и др. Измерение тромбоцитарных микрочастиц в контексте оценки безопасности концентратов тромбоцитов. *Medline.ru*. 2024; 25: 352-363.
9. Крайнюков П.Е., Арцимович И.В., Зиновьев Е.В. и др. Применение клеточных технологий в лечении ран различной этиологии. *Вестник*

Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2021; 16(2): 132-137.

10. Гришина Г.В., Касьянов А.Д., Кробинец И.И. и др. Микрочастицы – потенциальный маркер оценки качества концентрата тромбоцитов. *Medline.ru.* 2024; 25: 542-565.

REFERENCES

1. Kanev A.A., Kurakov F.A., Cherchenko O.V., Tsvetkova L.A. Development of regenerative medicine in Russia and in the world: leading researchers and technological drivers. *Economics of Science.* 2022; 8(3-4): 202-219. (in Russian).

2. Deriy E.K., Kostyakov D.V., Movchan K.N. et al. Biotechnological methods of local treatment of burn lesions (Literature review). *Medline.ru.* 2022; 23(1): 481-498. (in Russian).

3. Alekseev A.A., Zinoviev E.V., Kostyakov D.V. et al. Efficiency of autodermoplasty in combination with injection of autologous stromal-vascular cell fraction in the treatment of deep burns. *Bulletin of Experimental and Clinical Surgery.* 2024; 17; 2(63): 51-59. (in Russian).

4. Davidenko A.O. Features of legal regulation of names of biomedical cell products. *Social and political sciences.* 2022; 12(2): 55-59. (in Russian).

5. Taube A.A., Bolatbekova M.S., Melnikova E.V. et al. Features of the development of the sphere of biomedical cell products in Russia. *Pharmacoeconomics: theory and practice.* 2021; 9(3): 18. (in Russian).

6. Prihodko E.M., Supilnikova O.V., Maslennikova I.I. et al. Creation of a cell culture bank: experience of the Pokrovsky Cell Technology Center. *Cardiovascular therapy and prevention.* 2024; 23(11): 4173. (in Russian).

7. Melnikova E.V., Rachinskaya O.A., Merkulova O.V. and others. Methodological aspects of developing regulatory documentation for a biomedical cell product. BIOpreparations. *Prevention, diagnostics, treatment.* 2021; 21(2): 122-135. (in Russian).

8. Lastochkina D.V., Kasyanov A.D., Grishina G.V. et al. Measurement of platelet microparticles in the context of assessing the safety of platelet concentrates. Medline.ru. 2024; 25: 352-363. (in Russian).
9. Kraynyukov P.E., Artsimovich I.V., Zinoviev E.V. et al. Application of cellular technologies in the treatment of wounds of various etiologies. Bulletin of the *National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov*. 2021; 16(2): 132-137. (in Russian).
10. Grishina G.V., Kasyanov A.D., Krobinets I.I. et al. Microparticles as a potential marker for assessing the quality of platelet concentrate. Medline.ru. 2024; 25: 542-565. (in Russian).