

*А. А. Троянов¹, Г. Г. Кондратенко¹, М. П. Потапнев^{1,2},
Т. С. Колесникова¹, Е. В. Ходосовская¹, А. А. Арабей¹, П. С. Неверов¹*

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПРИМЕНЕНИЯ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ
РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ,
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН
ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии
и медицинских биотехнологий»²*

В экспериментальных условиях изучено действие плазмы, обогащенной растворимыми факторами (ПОРФТ) в различных разведениях на пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Проведен сравнительный анализ пролиферативной активности ПОРФТ

и плазмы крови, полученных от пациентов с сахарным диабетом (СД) и здоровых доноров. В проспективном рандомизированном клиническом исследовании оценены эффективность и безопасность применения ПОРФТ из аутокрови пациентов с СД при хронических поражениях кожи нижних конечностей. Установлено, что разведение 1:20 образцов ПОРФТ является оптимальным для обеспечения выраженного рост-стимулирующего действия в отношении МСК человека. По способности стимулировать рост мезенхимальных стволовых клеток человека *in vitro* образцы аутологичной ПОРФТ, приготовленной из тромбоцитов периферической крови пациентов с СД достоверно не отличаются от ПОФРТ, полученной от здоровых лиц. Результаты клинического исследования свидетельствуют о том, что местное лечение с использованием ПОРФТ оказывает выраженное положительное влияние на динамику и сроки полного заживления кожных ран у пациентов при СД.

Полученные данные позволяют сделать вывод о целесообразности применения аутологичной ПОРФТ в клинической практике в качестве средства для местного лечения длительно незаживающих ран (язв) кожи у пациентов с сахарным диабетом.

Ключевые слова: плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов; пролиферативная активность, мезенхимальные стволовые клетки, сахарный диабет, заживление ран.

**A. A. Troyanov, G. G. Kondratenko, M. P. Potapnev,
Zh. A. Ibragimova, T. S. Kolesnikova, E. V. Hodosovskaya,
A. A. Arabey, P. S. Neverov**

EXPERIMENTAL AND CLINICAL JUSTIFICATION FOR THE USE OF PLATELET-RICH PLASMA TO TREAT LONG-TERM HEALING WOUNDS IN DIABETES

In experimental conditions studied effect of platelet-rich plasma (PRP) in various dilutions on proliferation of mesenchymal stem cells (MSC). The comparative analysis of PRP and proliferative activity of blood plasma obtained from patients with diabetes (MD) and healthy donors. In a prospective randomized clinical study evaluated the efficacy and safety of PRP of autohemotransfusion for patients with chronic skin lesions of the lower limbs. It is established that the cultivation of 1:20 PRP samples is optimal for ensuring growth-stimulating action expressed against human MSC, autologous PRP platelets prepared from peripheral blood patients with MD reliably does not differ from the PRP obtained from healthy individuals, in their ability to stimulate the growth of human mesenchymal stem cells in vitro. Results of clinical studies have shown that topical treatment with the use of PRP has a strong positive impact on the dynamics and timing complete healing of skin wounds of diabetes patients.

The data obtained suggest the feasibility of autologous PRP in clinical practice as a means for topical treatment of long-term healing wounds (ulcers) of the skin in patients with diabetes mellitus.

Key words: platelet-rich plasma, proliferative activity, mesenchymal stem cells, diabetes mellitus, wound healing.

По данным ВОЗ распространенность сахарного диабета (СД) среди населения экономически развитых стран составляет около 6 %. В Республике Беларусь число пациентов за последние 15 лет удвоилось и на начало 2017 года по данным официальной статистики достигло уровня 295 000 человек. Одним из грозных осложнений СД является поражение кожи нижних конечностей как результат диабетической ангиопатии и нарушения трофики кожи. Патологические изменения в тканях нижних конечностей формируют синдром диабетической стопы (СДС), который встречается у 15 % пациентов. Наибольшая частота поражений кожи стоп отмечена у пациентов в возрасте 45–64 лет. Образование хронических, медленно заживающих кожных язв и других

воспалительно-некротических поражений мягких тканей ног при синдроме диабетической стопы увеличивает риск развития гангрены нижних конечностей в 20 раз, на долю данной категории пациентов приходится 50–70 % общего числа высоких ампутаций нижних конечностей. В течение первых трех лет после ампутации умирает до 35 % больных, а в течение 5 лет – 60–75 %. Продолжительность пребывания больных с диабетическими язвами стоп в стационаре превышает таковую больных сахарным диабетом без язв на 60 % [1, 2, 3, 4]. Вышеприведенное свидетельствует о значительной социальной, экономической и медицинской проблеме оказания помощи при диабетических поражениях кожи при СДС. Лечение данной патологии является комплексным, оно

включает медикаментозную терапию с применением различных фармакологических средств и местное воздействие для улучшения заживления кожных ран [5, 6].

В последние годы в мировой практике интенсивное развитие получило новое направление – регенеративная медицина. В результате поиска более современных подходов к лечению поражений кожи выявлена эффективность применения естественных продуктов тромбоцитов для заживления ран [7, 8]. Термин «плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов» (ПОРФТ) в сокращенном виде обозначается как «плазма, обогащенная тромбоцитами», а в иностранной транскрипции – platelet-rich plasma (PRP). Согласно данным специальной литературы PRP содержит множество биологически активных субстанций, оказывающих противовоспалительное, обезболивающее, ангиогенное, регенеративное действие [9, 10]. Среди многочисленного перечня вариантов биологической активности PRP [11, 12] наиболее распространенным считается их влияние на пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Мишенью растворимых факторов тромбоцитов в очагах повреждения выступают как локально расположенные клетки-предшественницы различного гистологического типа, так и мигрирующие в очаг повреждения (привлекаемые за счет локально выделяемых хемокинов (PF-4, IL-8 и других) мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки. Под действием факторов микроокружения МСК пролиферируют и дифференцируются в гладкомышечные, остеогенные, хондрогенные, нейрогенные клетки, включая клетки дермы и клетки других гистологических типов [13, 14]. Белорусскими учеными недавно был разработан оригинальный способ получения аутологичной ПОРФТ [15]. В связи с этим, следовало *in vitro* изучить влияние полученных образцов ПОРФТ на пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток. В последствии была разработана и утверждена Минздравом РБ инструкция по применению данного средства для лечения диабетических язв кожи у пациентов с сахарным диабетом (регистрационный № 085-0915), которая регламентировала клинические условия использования ПОРФТ. Возникла необходимость с позиций доказательной медицины подробно изучить ближайшие и отдаленные результаты клинического применения полученной стандартизованным способом ПОРФТ при СДС.

Цель работы – выявить оптимальные концентрации ПОРФТ и определить влияние растворимых факторов тромбоцитов от пациентов с СД на пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток, а также оценить клиническую эффективность применения ПОРФТ из аутокрови пациентов с СД при хронических поражениях кожи нижних конечностей.

Материалы и методы

Проведена оценка пролиферативного действия растворимых факторов тромбоцитов в образцах ПОРФТ, полученных от пациентов с СД и здоровых лиц (доноров крови), приготовленных отдельно. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани (МСК) получали из республиканского банка мезенхимальных стволовых клеток при РНПЦ «Трансплантации органов и тканей». В лунки 24-луночного культурального планшета («Sarstedt») вносили образцы ПОРФТ (или контрольной плазмы) в конеч-

ном разведении 1:20 или 1:40 и доводили до объема 0,9 мл в полной питательной среде (ППС). МСК с исходной жизнеспособностью не менее 95 % добавляли в лунки и культивировали в течение 72-х часов при +37 °С. По окончании инкубации, подсчет клеток проводили в камере Горяева при увеличении в 100 раз в присутствии трипанового синего («Sigma»). Результаты оценивали по количеству выросших МСК в расчете на 1 мл культуры клеток или как индекс стимуляции (ИС), рассчитываемый как отношение количества выросших клеток в присутствии исследуемого образца ПОРФТ к количеству выросших клеток в культуральной среде с ЭТС (контроль клеток) или выросших в контрольной плазме (контроль плазмы) [16]. Для исследования использовали 12 серий образцов ПОРФТ, каждый вариант постановки культуры клеток ставили в двух повторах.

Клиническое исследование проводили на базе центра «Диабетическая стопа» УЗ «10 клиническая больница» г. Минска, с одобрения Этического комитета клиники. В исследование включались пациенты с I и II степенью распространения раневого дефекта по шкале Wagner с максимальной площадью поражения кожи до 100 см² при нейропатической или нейроишемической формах СДС. Противопоказаниями к применению метода являлись:

- Клинико-метаболическая декомпенсация сахарного диабета (уровень гликированного гемоглобина крови 9 % и более, уровень глюкозы более 9,0 ммоль/л).
- Критическая ишемия конечности, требующая реваскуляризации.
- Бактериальная обсемененность раны более 10⁴ колониеобразующих единиц.
- Уровень гемоглобина в периферической крови менее 110 г/л.
- Уровень тромбоцитов крови менее 200 x 10⁹/л.
- Хроническая почечная недостаточность II степени тяжести и выше.
- Сердечная недостаточность ФК III и выше.
- Системные воспалительные заболевания в стадии обострения.

Исследование было проспективным и рандомизация проводилась сплошным методом, отказ пациента от применения ПОРФТ служил основанием для включения в группу сравнения (n = 21), в основной группе (n = 19) местно применяли ПОРФТ.

Группы были сопоставимы по возрасту, полу, длительности и тяжести заболевания, размерам раневого дефекта, уровню глюкозы крови, биохимических и морфологических показателей крови (таблица 1).

Как следует из таблицы 1, статистически значимых различий между сравниваемыми показателями пациентов обеих групп не было.

Пациентам обеих групп проводилась однотипная традиционная терапия СД, включающая сахароснижающие, метаболические, ангиопротективные препараты. Все пациенты на основе мультидисциплинарного подхода осматривались эндокринологом, кардиологом, неврологом, другими смежными специалистами. Отличия заключались в местном лечении. Пациентам группы сравнения местное лечение выполняли общепринятым способом: механически очищали раны, обрабатывали раствором 3 % перекиси водорода, физиологическим раствором, использовали повязки с жидкими растворами антисептиков

Таблица 1. Сравнительная характеристика групп пациентов с СД, включенных в исследование

Параметры	Группа сравнения (n = 15)	Основная группа (n = 16)
Возраст	55,9 ± 7,4	55 ± 6,3 (t = 0,09; p = 0,9269)
Соотношение муж/жен.	11/4	10/6
Длительность Заболевания в годах	8,9 ± 2,7	8,4 ± 3,6 (t = 0,11; p = 0,9123)
Длительность наличия раны кожи (месяцы)	11,5 ± 8,2	12,9 ± 8,4 (t = 0,12; p = 0,9059)
Степень тяжести по Wagner I/II	11/4	9/7
Гликированный Hb (%)	8,05 ± 0,88	8,09 ± 0,73 (t = 0,03; p = 0,9723)
Глюкоза переф. Крови	6,68 ± 1,38	7,32 ± 1,21 (t = 0,72; p = 0,7299)
Лейкоциты	7,31 ± 1,49	7,85 ± 1,03 (t = 0,30; p = 0,7678)
СОЭ	27,60 ± 5,71	27,31 ± 4,73 (t = 0,04; p = 0,9690)
Тромбоциты	272,69 ± 37,99	287,79 ± 42,02 (t = 0,27; p = 0,7918)
Эритроциты	4,64 ± 0,73	5,05 ± 0,61 (t = 0,43; p = 0,6700)
Геиоглобин	122,33 ± 6,76	137,81 ± 11,52 (t = 1,16; p = 0,2554)
Мочевина	5,97 ± 1,24	7,26 ± 2,29 (t = 0,50; p = 0,6242)
Креатинин	86,71 ± 16,99	99,70 ± 21,48 (t = 0,47; p = 0,6390)
Белок крови	67,73 ± 6,06	68,33 ± 6,21 (t = 0,07; p = 0,9454)

Примечание: в таблице указаны средние $M \pm SE$ числовые значения.

(5 % раствор перманганата калия, 0,05 % хлоргексидина, 3 % борной кислоты и др.) или мазевые повязки (левомеколь, мазь гентамициновая, повидон йод и др.) в зависимости от состояния раневого процесса.

Пациентам основной группы проводилось местное лечение с использованием аутологичной ПОФРТ. Перед проведением лечения каждый пациент был проинформирован о методе лечения и подписывал «Информированное согласие» на сдачу крови для получения ПОФРТ и ее применения для местного лечения. Забор 350 мл крови и приготовление ПОФРТ производили на базе отделения переливания крови УЗ «9 ГКБ» г. Минска по методу, предложенному нами (инструкция по применению метода, утвержденная Минздравом РБ, регистрационный № 085-0915). Полученные образцы ПОФРТ расфасовывали в стерильные пробирки и хранили в замороженном состоянии при -20°C до применения.

У пациентов основной группы кожные раны нижних конечностей предварительно очищали механическим путем от некротизированных участков кожи, санировали растворами антисептиков. Перед нанесением ПОФРТ рану промывали 0,9 % физиологическим раствором, после подсушивания стерильным тампоном поверхность раны обрабатывали 10 % раствором глюконата кальция. На поверхность раны круговыми движениями от периферии к центру шприцем наносили аутологичный ПОФРТ до пол-

ного закрытия поверхности. Затем такими же движениями наносили раствор тромбина (20 Ед/мл), формирующий гелеобразную пленку, которая предотвращала вытекание ПОФРТ за пределы раны. Раневую поверхность, покрытую гелем ПОФРТ, оставляли в течение 3–5 минут для подсушивания и закрывали марлевой салфеткой.

Безопасность применения ПОФРТ оценивали по отсутствию реакций на процедуру нанесения. Контроль за раной осуществляли в течение первой недели ежедневно. В случае краевого подтекания или снятия части гелеобразной пленки повязкой, ПОФРТ наносили повторно по описанной выше методике. Клиническую эффективность местной терапии с использованием ПОФРТ оценивали по динамике и срокам заживления кожных в обеих группах пациентов путем планиметрии сфотографированных ран в день лечения, через 7, 14, 21 и 28 суток с момента начала лечения. Контроль за состоянием ран в последующем проводили каждые 2 недели до полного заживления, а также в срок 3 и 6 месяцев. В случаях замедления динамики регенеративного процесса ПОФРТ наносили повторно через 2–3 недели.

Для измерения площади раневого дефекта кожи использовали программу Colour-Science Image Editor v 3.01.02 Professional (SoftoRoom). Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Стьюдента t , критерия χ^2 Пирсона и точного теста Fisher.

Результаты и обсуждение

Поскольку белки плазмы крови сами по себе обладают способностью вызывать пролиферацию МСК *in vitro* [16], для выявления биологической активности образцов ПОФРТ от здоровых доноров крови и от пациентов с СД в сравнительном плане отдельно оценено их влияние на пролиферацию стволовых клеток. При этом в качестве контроля использована плазма, полученная из крови того же донора крови и отдельно от пациента с СД.

Задачей первой серии эксперимента было определение наиболее эффективной концентрации ПОФРТ для индукции пролиферации МСК. Исследованы образцы ПОФРТ 1 (из 2-кратно концентрированного КТ) и ПОФРТ 2 (из 4-кратно концентрированного КТ). Изучена пролиферация МСК в присутствии контрольной плазмы и обоих образцов ПОФРТ в конечном разведении 1:5, 1:10, 1:20, 1:40. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2. Зависимость пролиферации мезенхимальных стволовых клеток *in vitro* от степени разведения плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов

Разведения	Количество клеток ($\times 1000$ /мл) в присутствии плазмы или образцов ПОФРТ			
	1:5	1:10	1:20	1:40
Плазма (n = 12)	125 ± 12,9	68 ± 8,4	60 ± 21,6	30 ± 8,2
ПОФРТ 1 (n = 12)	82,5 ± 12,6	95 ± 10	72 ± 16,4	57,5 ± 12,6*
ПОФРТ 2 (n = 12)	92,5 ± 15	85 ± 17,3	112,5 ± 15*	67,5 ± 9,6*
Контроль клеток (n = 12)	30 ± 8,2			

Примечание: * обозначает достоверные отличия ($p < 0,05$) от внесения плазмы.

Таблица 3. Пролиферативная активность образцов плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, в отношении мезенхимальных стволовых клеток человека

Контроль клеток (M ± SE)	Количество МСК (M ± SE) в конце культивирования (x 10 ³ /мл)					
	плазмы			ПОРФТ2		
	плазмы	ПОРФТ1	ПОРФТ2	плазмы	ПОРФТ1	ПОРФТ2
	в конечном разведении 1:20			в конечном разведении 1:40		
46,01 ± 2,58	81,13 ± 6,43	123,46 ± 12,05	125,76 ± 10,0	59,32 ± 4,26	90,52 ± 8,02	95,5 ± 8,14
	P ₁₋₂ = 0,00001	P ₂₋₃ = 0,0036	P ₂₋₄ = 0,000586	P ₁₋₅ = 0,011 P ₂₋₅ = 0,0075	P ₅₋₆ = 0,0014	P ₅₋₇ = 0,00033

Примечание: проведено по 12 серий эксперимента в каждой группе (n = 12).

Как следует из таблицы 2, добавление в культуру МСК образцов ПОРФТ 2 в разведении 1:20 приводило к достоверному и наибольшему повышению количества МСК. Таким образом, было определено, что разведение 1:20 образцов ПОРФТ 2 является оптимальным для обеспечения выраженного рост-стимулирующего действия в отношении МСК человека.

Результаты более подробного исследования образцов ПОРФТ в разведении 1:20 и 1:40 в другой серии эксперимента приведены в таблице 3.

Образцы ПОРФ 2 и ПОРФТ 1 в разведении 1:20 были наиболее эффективными и достоверно не отличались по способности стимулировать рост МСК *in vitro*. Поэтому для последующего использования в качестве основного образца принята ПОРФТ 1 с конечным разведением 1:20. При этом расчетная концентрация тромбоцитов при приготовлении таких образцов ПОРФТ соответствует стандартной (около 1,0 млрд/мл) [11, 12]. При более высоком (1:40) разведении образцов ПОРФТ 1 и ПОРФТ 2 их рост-стимулирующее влияние на МСК было существенно меньше, чем при разведении 1:20. В то же время, в образцах ПОРФТ 1 степень концентрации тромбоцитов была меньше, что позволяло из одной дозы цельной крови приготовить больше таких образцов.

Проведенные исследования зависимости биологической активности ПОРФТ от сроков хранения показали, что приготовленные образцы обладают выраженной способностью стимулировать пролиферацию МСК *in vitro* после хранения при -20 °С в течение 6 месяцев. Это обосновывает гарантированную возможность ее клинического применения в указанные сроки. Установлено также, что наличие лейкоцитов в исходном концентрате тромбоцитов не имеет влияния на рост-стимулирующую активность ПОРФТ.

Нами оценено влияние на концентрацию МСК образцов ПОРФТ, полученных от пациентов с СД в сравнении с и аналогичными образцами, полученными от здоровых доноров крови (таблица 4). Как следует из таблицы 4, образцы ПОРФТ, приготовленные из тромбоцитов периферической крови пациентов с СД, обладают достоверным стимулирующим действием на культивируемые *in vitro* МСК. При этом стимулирующий эффект образцов ПОРФТ диабетиков достоверно не отличался от эффекта образцов ПОРФТ, полученных от здоровых доноров крови (P = 0,064). Это обосновало возможность и целесообразность использования ПОРФТ, полученную из периферической аутокрови пациентов с СД, в качестве средства местного лечения для усиления регенерации хронических кожных язв нижних конечностей у диабетиков.

Таблица 4. Влияние плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, пациентов с сахарным диабетом или здоровых лиц на пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток человека *in vitro*

Группы лиц*	Количество клеток, выросших в присутствии		ИС†
	контроль	ПОРФТ	
Здоровые лица (n = 20)	46,02 ± 2,58	125,76 ± 10,0 P < 0,001	2,73
Пациенты с сахарным диабетом (n = 6)	52,5 ± 2,5	89,17 ± 6,47 P = 0,021	1,70

Примечание: * группы лиц, от которых получали плазму, обогащенную растворимыми факторами тромбоцитов;

† - индекс стимуляции как отношение количества клеток, выросших в культуре за 3 суток в присутствии 5 % ПОРФТ по сравнению с контролем без ПОРФТ.

Как было уже отмечено, в клиническом исследовании сравниваемые группы пациентов были сопоставимы по поло-возрастным характеристикам, длительности и тяжести заболевания, показателям периферической крови.

Установлено, что местное лечение с использованием ПОРФТ оказывало выраженное положительное влияние на динамику заживления кожных ран у пациентов основной группы (рисунок).

Как показано на рисунке, уменьшение площади кожной раны у пациентов в группе, где проводилось местное

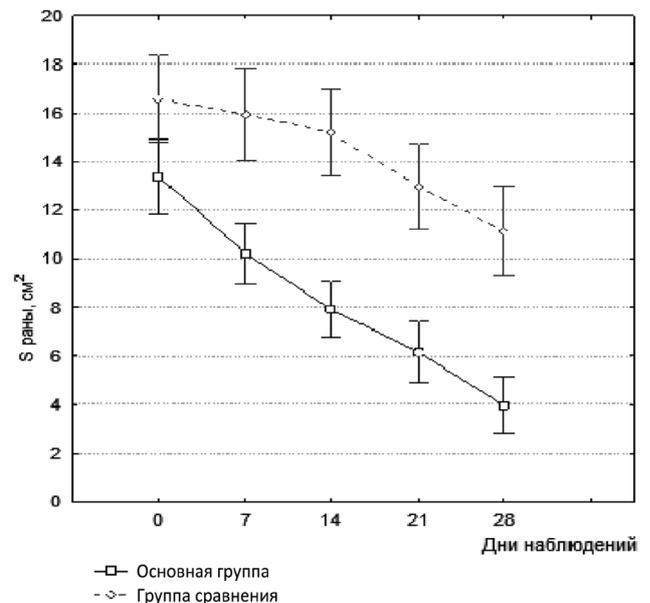


Рисунок. Динамика заживления ран у пациентов основной группы сравнения в разные сроки наблюдения

Таблица 5. Сроки полного заживления хронических ран кожи нижних конечностей у пациентов с СД

Группы исследования	Зажило в срок				
	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток	6 месяцев наблюдения
Группа сравнения	0 из 14	0 из 14	0 из 14	2 из 14 (15 %)	3 из 14 (21 %)
Основная Группа	0 из 14	1 из 14	3 из 14	7 из 14 (50 %)	13 из 14 (93 %)
		$\chi^2 = 1,037$ P = 0,31	$\chi^2 = 3,36$ P = 0,047	$\chi^2 = 4,094$ P = 0,043	$\chi^2 = 15,64$ P < 0,0001

лечение с применением ПОРФТ, происходило значительно быстрее, чем в группе сравнения.

Сроки полного заживления ран у пациентов основной группы были также достоверно меньше чем у пациентов, у которых ПОРФТ не применялась (таблица 5).

Как следует из таблицы 5, к 28 суткам с момента начала лечения в группе пациентов с применением ПРОФТ полное заживление раны произошло в 50 % наблюдений, а к 6 месяцам полная эпителизация ран наступила в 93 % случаев. В группе сравнения такого выраженного эффекта от проводимого лечения не наблюдалось (15 и 21 % соответственно). Начиная с 21 суток и позже количество пациентов с полным заживлением хронических ран нижних конечностей в основной группе было достоверно большим ($p < 0,05$).

При применении ПОРФТ ни одного случая аллергических и других нежелательных патологических реакций отмечено не было.

Таким образом результаты исследования свидетельствуют о целесообразности и высокой эффективности применения аутологичной ПОРФТ для местного лечения диабетических язв кожи нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом.

Выводы

1. Плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов, приготовленная предложенным стандартизированным способом, *in vitro* обладает выраженным рост-стимулирующим действием на мезенхимальные стволовые клетки человека.

2. Образцы ПОРФТ, полученные путем 2-кратного центрифугирования тромбоцитов, в конечном разведении 1:20 являются оптимальными по пролиферативной активности в отношении мезенхимальных стволовых клеток человека.

3. Образцы ПОРФТ из периферической крови страдающих сахарным диабетом пациентов обладают достоверным стимулирующим действием на культивируемые *in vitro* МСК человека.

4. Местное лечение с использованием ПОРФТ из аутокрови пациентов с сахарным диабетом оказывает выраженное положительное влияние на динамику заживления поврежденных кожных покровов нижних конечностей.

5. Применение аутологичной ПОРФТ для местного лечения диабетических язв нижних конечностей достоверно ($p < 0,05$) сокращает сроки полного заживления.

Литература

1. Игнатович, И. Н., Кондратенко Г. Г. Хирургия и ангиология диабетической стопы. – Минск: БГМУ, 2013.

2. Штильман, М. Ю. Современное комплексное хирургическое лечение гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы; автореф. дис. докт. – Ростов-на-Дону, 2009.

3. Чур, Н. Н. Лечение больных с синдромом диабетической стопы // Здравоохранение. – 1998. – № 3. – С. 8–11.

4. Абаев, Ю. К. Раневая инфекция в хирургии. – Минск: Беларусь, 2003.

5. Steed, D. L., Attinger Ch., Colaizzi T. et al. Guidelines for the treatment of diabetic ulcers // Wound Repair and Regeneration. 2006; 14: 680–692.

6. Tsoardi, E., Barthel A., Rietzsch H. et al. Current aspects in the pathophysiology and treatment of chronic wounds in diabetes mellitus. BioMed Research International. Vol. 2013, art. ID 385641, 6 pages.

7. Mazzucco, L., Medici D., Serra M., Panizza R., Rivara G., Orecchia S., Libener R., Cattana E., Levis A., Giacomo Betta P., Borzini P. The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: a pilot study // Transfusion. – 2004. – Vol. 44. – P. 1013–1018.

8. Nurden, A. T., Nurden P., Sanchez M., Andria I., Anitua E. Platelets and wound healing // Frontiers in Bioscience. – 2008. – Vol. 13. – P. 3525–3548.

9. Carter, M. J., Fylling C.P., Parnell L. K. S. Use of platelet rich plasma gel on wound healing: a systematic review and meta-analysis. ePlasty. 2011; 11: 382–410.

10. Поталнев, М. П., Арабей А. А., Кондратенко Г. Г. и др. Растворимые факторы тромбоцитов и регенеративная медицина // Здравоохранение. – Минск, 2014. – № 9. – С. 32–40 [Potapnev M. P., Arabey A. A., Kondratenko G. G. et al. Soluble preparations of platelet growth factors and their medical implementation. Zdravookhranenie (Minsk). 2014; (9): 32–40.]

11. Borzini, P., Mazzucco P. Tissue regeneration and in loco administration of platelet derivatives: clinical outcome, heterogenous products, and heterogeneity of the effector mechanisms // Transfusion. – 2005. – Vol. 45. – P. 1759–1767.

12. Marx, R. E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use // J. Oral. Maxillofac. Surg. – 2004. – Vol. 62. – P. 489–496.

13. Blande, I. S., Bassaneze V., Lavini-Ramos C., Fae K. C., Kalil J., Miyakawa A. A., Schettert I. T., Krieger J. E. Adipose tissue mesenchymal stem cell expansion in animal serum-free medium supplemented with autologous human platelet lysate. Transfusion. 2009; 49 (12): 2680–2685.

14. Backly, R. M., Zaky S. H., Muraglia A., Tonachini L., Brun F., Canciani B., Chiapale D., Santolini F., Cancedda R., Mastrogiacomo M. A platelet-rich plasma-based membrane as a periosteal substitute with enhanced osteogenic and angiogenic properties: a new concept for bone repair. Tissue engineering, part A. 2012 doi:10.1089/ten.tea.2012.0357.

15. Поталнев, М. П. и соавт. «Инструкция на метод получения плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов» от 11.06.2013, утверждена НТС БГМУ № 5 07.06.2013.

16. Игнатенко, С. И., Космачева С. М., Поталнев М. П., Кохно Е. А., Гончарова Н. В., Шахмуть Е. А. Ростстимулирующая активность препаратов тромбоцитов в отношении мезенхимальных стволовых клеток человека *in vitro* // Весці/Известия НАНБ. – 2016. – № 1. – С. 52–58.

Поступила 12.12.2017 г.