

РЕАКЦІЯ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ НА ТРАНСПЛАНТОВАНІ АЛОГЕННІ МЕЗЕНХІМАЛЬНІ СТОVBУРОВІ КЛІТИНИ ТА ЕМБРІОНАЛЬНІ ФІБРОБЛАСТИ

А. Й. Мазуркевич, Ю. О. Харкевич, В. В. Ковпак, М. О. Малюк,
В. Б. Данілов, В. І. Журба

Національний університет біоресурсів і природокористування України
Кафедра фізіології, патологічної фізіології та імунології тварин

Досліджено цитотоксичну активність лімфоцитів крові щурів відносно до алогенних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку та ембріональних фібробластів після їх застосування з метою корекції репаративних процесів у шкірі щурів. Встановлено, що лімфоцити крові щурів контрольної та дослідної груп не проявляють цитотоксичної активності до мезенхімальних стовбурових клітин. Цитотоксична активність лімфоцитів крові тварин контрольної групи відносно до ембріональних фібробластів була відмічена на 3 добу після формування дефекту шкіри. На 8, 15 та 24 доби після формування дефекту шкіри лімфоцити крові тварин контрольної та дослідної груп не проявляють цитотоксичності до цих клітин.

Вивчення властивостей мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) та їх ролі в репаративних процесах в організмі тварин та людини є одним з найбільш актуальних та перспективних завдань сучасної клітинної біології та практичної ветеринарної медицини. З вітчизняних та іноземних літературних джерел відомо, що ці клітини є ефективними при лікуванні хвороб нирок, переломах кісток, дефектах суглобового хряща, опіках та механічних ушкодженнях шкіри [1–5]. Відкриття імуномодуючих властивостей МСК разом з їх здатністю диференціюватися в остецити, хондроцити, клітини шкіри, що ставить їх на перше місце серед інших клітин у регенераційній терапії [4, 6–8]. Культивовані *in vitro* фібробласти — продуценти ростових факторів — після пересадження на рану шкіри виявляють безпосередній вплив на її заживлення та епітелізацію шляхом стимуляції росту кератиноцитів і ангиогенезу [9]. Клітини донора несуть на своїй поверхні антигени, що відрізняються від антигенів реципієнта, імунна система якого спричинює відповідь на трансплантат, де істотне значення має ступінь цитотоксичної активності лімфоцитів донора до клітин реципієнта.

Мета роботи: вивчити цитотоксичну активність лімфоцитів крові щурів відносно до алогенних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку та ембріональних фібробластів щурів (ЕФЩ) після їх застосування.

Експерименти на тваринах були виконані у відповідності до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених I Національним конгресом з біоетики (20.09.04 р., Київ, Україна) і узгоджених з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Матеріали і методи. У досліді використовували самок щурів віком 4–5 місяців середньою масою 230 г, які були розділені на три групи (по 9 гол. у кожній): перша — контрольна; друга та третя — дослідні. Усі маніпуляції з тваринами проводили під загальним наркозом. Для цього внутрішньом'язево застосовували суміш кетаміну (25 мг/кг) та ксилазину (10 мг/кг). Дефект шкіри у тварин формували шляхом повношарового видалення її ділянки діаметром 12 мм ($S=1,13\text{ см}^2$) у ділянці спини, дотримуючись стерильних умов. З метою попередження інфікування, утворений дефект закривали 1 %-им розчином желатину та клеєм

БФ-6. На третю добу після формування дефекту ($S=0,84 \text{ см}^2$) в усіх тварин з ділянки рани знімали клеєву плівку. Тваринам першої групи нічого не вводили; другої — вводили 750 тис. алогенних МСК у ділянку дефекту шкіри; третьої — 750 тис. ЕФЦ. На 3, 8, 15 та 24 доби експериментальних досліджень, в кожній групі тварин шляхом внутрішньом'язевого введення летальної дози суміші кетаміну (150 мг/кг) та ксилазину (60 мг/кг), здійснювали евтаназію трьох тварин та брали проби крові для імунологічних досліджень.

Лімфоцити отримували шляхом центрифугування проб стабілізованої гепарином крові у фікол-тріомбрасовому радієнті щільності ($\rho=1,077$) протягом 25 хв при відцентровій силі 300 g.

Для вивчення цитотоксичної активності лімфоцитів крові в 96-лункові плоскодонні планшети вносили 0,1 мл суспензії МСК або ЕФЦ, у концентрації 3×10^4 та ставили в CO_2 -інкубатор з метою прикріплення клітин до дна культуральних лунок. Через одну годину в лунки з клітинами-мішенями вносили 0,1 мл лімфоцитів у концентрації 1×10^5 (співвідношення клітини-мішені (МСК або ЕФЦ): лімфоцити — 1:3) та інкубували в CO_2 -інкубаторі протягом 18 год при 5 % вмісті CO_2 , 100 % вологості, $t=37^\circ\text{C}$. Після закінчення інкубації лунки тричі промивали фосфатно-буферним розчином для видалення неприкріплених клітин та лімфоцитів. У кожну лунку вносили по 100 мкл розчину трипсину/версену ($t=37^\circ\text{C}$), знімали прикріплені клітини та підраховували їх кількість у камері Горяєва.

Результати й обговорення. Аналіз результатів досліджень показав, що проліферативна активність алогенних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку та ембріональних фібробластів щурів у цитотоксичному тесті з лімфоцитами крові контрольних й дослідних груп щурів відрізняється.

При вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові відносно до МСК у тварин контрольної групи на 3 добу після формування дефекту шкіри проліферативна активність цих клітин дещо зменшилась, проте була достовірно вищою за ЕФЦ. Коефіцієнт проліферації, як і у вихідному стані, був більшим за одиницю. На 8, 15 та 24 доби після формування дефекту шкіри проліферативна активність МСК достовірно збільшувалась, проте була достовірно меншою, ніж у ЕФЦ у ці періоди дослідження. Коефіцієнт проліферації МСК на 8, 15 та 24 доби становив відповідно 1,15, 1,18 та 1,22 (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Проліферативна активність МСК та ЕФЦ при вивченні цитотоксичної активності лімфоцитів крові тварин контрольної групи, ($n=3$, $M \pm m$)

Клітини-мішені	Вихідний стан (контроль, інтактні тварини)		3 доба після формування дефекту		8 доба після формування дефекту		15 доба після формування дефекту		24 доба після формування дефекту	
	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.
МСК	$32,1 \pm 0,17$	1,07	$31,6 \pm 0,64$	1,05	$34,4 \pm 0,39^{**}$	1,15	$35,4 \pm 1,18^*$	1,18	$36,6 \pm 0,17^{***}$	1,22
ЕФЦ	$31,2 \pm 0,15$	1,04	$23,1 \pm 0,48^{***}$	0,77	$38,1 \pm 0,79^{***}$	1,27	$36,2 \pm 2,21$	1,21	$39,3 \pm 0,95^{**}$	1,28

Примітка: у цій та наступних таблицях * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$

Відсутність цитотоксичності лімфоцитів крові тварин контрольної групи до алогенних МСК, очевидно, є наслідком відсутності попередньої сенсibilізації лімфоцитів клітинами, низьких імуногенних властивостей у цих клітин завдяки відсутності у них антигенів гістосумісності II класу, експресії ко-стимулюючих молекул, необхідних для активації Т-лімфоцитів та продукції певних розчинних факторів, які інгібують проліферацію Т-лімфоцитів, зокрема триптофан катаболізуючого ферменту індоліамінази (IDO) [6, 7, 10, 11].

У присутності МСК на поверхні лімфоцитів знижується експресія активаційних рецепторів, таких як CD25, CD38, CD69 [12, 13].

Результати досліджень свідчать, що в якості медіаторів супресії проліферації лімфоцитів можуть виступати експресовані МСК трансформуючий ростовий фактор та ростовий фактор гепатоцитів [6, 14]. Простагландин E2 виступає іншим кандидатом в якості медіатора супресії, так як МСК постійно його продукують. Показано, що інгібіція синтезу PGE2 знижує МСК-опосередковану супресію Т-лімфоцитів і продукцію ними цитокінів [15].

При вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові відносно до ЕФЦ у тварин контрольної групи визначено достовірне зниження проліферативної активності цих клітин на 3 добу, порівняно з вихідним станом та проліферативною активністю МСК у цей період. Коефіцієнт проліферації становив 0,77, тобто був нижчим за одиницю, що свідчить про наявність цитотоксичності зі сторони лімфоцитів крові до ЕФЦ (табл. 1, 2).

На 8, 15 та 24 доби після формування дефекту шкіри у тварин цієї групи проліферативна активність ЕФЦ при вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові достовірно збільшувалась та була достовірно більшою, ніж у МСК у зазначені періоди дослідження (табл. 1, 2).

Таблиця 2

Порівняння проліферативної активності МСК та ЕФЦ при вивченні цитотоксичної активності лімфоцитів крові тварин контрольної групи, (n=3, M±m)

Клітини-мішені	Вихідний стан		3 доба після формування дефекту		8 доба після формування дефекту		15 доба після формування дефекту		24 доба після формування дефекту	
	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.
МСК (контроль)	32,1±0,17	1,07	31,6±0,64	1,05	34,4±0,39	1,15	35,4±1,18	1,18	36,6±0,17	1,22
ЕФЦ	31,2±0,15*	1,04	23,1±0,48***	0,77	38,1±0,79*	1,27	36,2±2,21	1,21	39,3±0,95*	1,28

Коефіцієнт проліферації становив відповідно 1,27, 1,23 та 1,28, тобто був більшим за одиницю, що свідчить про відсутність цитотоксичності зі сторони лімфоцитів крові в періоди дослідження.

Достовірне зниження проліферативної активності ЕФЦ на 3 добу після формування дефекту шкіри при вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові, порівняно з вихідним станом та проліферативною активністю МСК у вказаний період, очевидно, є свідченням підвищеної активності лімфоцитів тварин саме в цей період та неможливістю імуномодуючих властивостей ЕФЦ, на відміну від МСК, допомогти уникати впливу на них лімфоцитів.

Відсутність цитотоксичності лімфоцитів крові тварин контрольної групи на 8, 15 та 24 доби до ЕФЦ, очевидно, пов'язана з входом регенеративного процесу в проліферативну фазу та зниженням активності лімфоцитів тварин, що також пов'язано з відсутністю попередньої сенсibilізації лімфоцитів фібробластами.

Як відомо, низька продукція ембріональними фібробластами прозапальних цитокінів, зокрема, IL-6 та IL-8, а також підвищена продукція протизапального цитокіну IL-10, триптофан катаболізуючого ферменту індолеамін 2,3-диоксигенази (IDO) сприяє зниженій реакції імунної системи на досліджувані клітини, адже відомо, що останній призводить до руйнування незамінного триптофану до кінуреніну та зниження проліферативної здатності лімфоцитів, а регенеративний процес у шкірі ембріонів проходить з менш вираженою запальною реакцією на пошкодження, порівняно із фазою запалення при пошкодженні шкіри у постембріональному періоді розвитку [16–20]. Деякі дослідники імуносупресивні властивості фетальних

фібробластів пов'язують з їх властивістю знижувати на поверхні Т-лімфоцитів експресію CD25 та активність *granzyme B* [21].

Низька експресія антигенів гістосумісності на поверхні ембріональних фібробластів також має значення при взаємодії останніх з імунокомпетентними клітинами [22].

Динаміка зміни проліферативної активності МСК, порівняно з ЕФЩ, при вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові у тварин контрольної групи показана на рисунку 1.



Рис. 1. Динаміка зміни проліферативної активності МСК та ЕФЩ при вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові у тварин контрольної групи

При вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові відносно до МСК у тварин другої групи на 8, 15 та 24 доби після формування дефекту шкіри не було помічено достовірного підвищення проліферативної активності останніх, порівняно з тваринами контрольної групи. Коефіцієнт проліферації при вивченні цитотоксичності лімфоцитів становив відповідно 1,11, 1,14 та 1,20, що свідчить про відсутність цитотоксичності зі сторони лімфоцитів крові також і після застосування МСК (табл. 3).

Таблиця 3

Проліферативна активність МСК та ЕФЩ при вивченні цитотоксичної активності лімфоцитів крові тварин другої та третьої груп, (n=3, M±m)

Клітини-мішені	Вихідний стан		3 доба після формування дефекту		8 доба після формування дефекту		15 доба після формування дефекту		24 доба після формування дефекту	
	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.
МСК (друга група)	32,1±0,17	1,07	31,6±0,64	1,05	33,2±0,56	1,11	34,2±0,54	1,14	35,9±0,41	1,20
ЕФЩ (третья група)	31,2±0,15	1,04	23,1±0,48***	0,77	30,9±0,27***	1,03	32,9±0,56	1,10	43,6±0,54*	1,45

При вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові відносно до ЕФЩ у тварин третьої групи було помічено зниження проліферативної активності ЕФЩ на 8 добу після формування дефекту шкіри та достовірне підвищення проліферативної активності останніх та 24 добу, порівняно з відповідними періодами у контрольній групі тварин. Коефіцієнт проліферації становив відповідно 1,03, 1,10 та 1,45.

Порівнюючи проліферативну активність МСК та ЕФЩ між собою при вивченні цитотоксичної активності лімфоцитів крові тварин другої та третьої груп до цих клітин,

відзначено достовірне зниження проліферативної активності ЕФЩ на 8 добу після формування дефекту шкіри, порівняно з проліферативною активністю МСК у зазначений період, та достовірне її підвищення на 24 добу (табл. 4).

Таблиця 4

Порівняння проліферативної активності МСК та ЕФЩ при вивченні цитотоксичної активності лімфоцитів крові тварин дослідних груп, (n=3, M±m)

Клітини-мішені	Вихідний стан		3 доба після формування дефекту		8 доба після формування дефекту		15 доба після формування дефекту		24 доба після формування дефекту	
	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.	к-сть кл., тис	коэф. прол.
МСК (друга група, контроль)	32,1±0,17	1,07	31,6±0,64	1,05	33,2±0,56	1,11	34,2±0,54	1,14	35,9±0,41	1,20
ЕФЩ (третя група)	31,2±0,15*	1,04	23,1±0,48***	0,77	30,9±0,27*	1,03	32,9±0,56	1,10	43,6±0,54***	1,45

Примітка: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$

Достовірне зниження проліферативної активності ЕФЩ на 8 добу після формування дефекту шкіри у тварин третьої групи, порівняно з проліферативною активністю МСК відповідного періоду в тварин другої групи, очевидно, є результатом підвищеної реакції Т-лімфоцитів у зазначений період до цих клітин після їх застосування.

Динаміка зміни проліферативної активності МСК, порівняно з ЕФЩ, при вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові у тварин другої та третьої груп показана на рисунку 2.

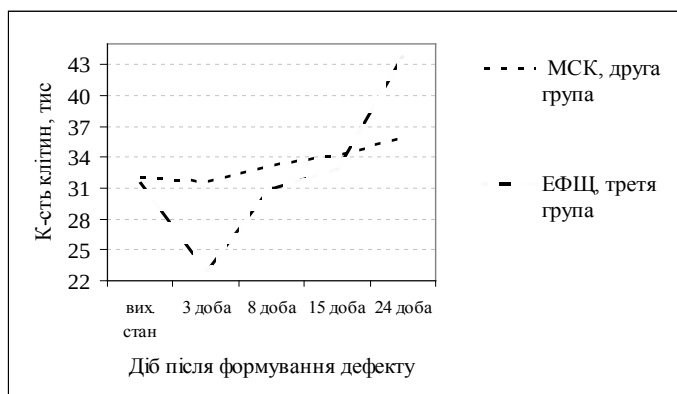


Рис. 2. Динаміка зміни проліферативної активності МСК та ЕФЩ при вивченні цитотоксичності лімфоцитів крові у тварин дослідних груп

Загалом вища проліферативна активність ЕФЩ, порівняно з МСК у тварин контрольної та третьої дослідної груп, очевидно, пов'язана з наявністю серед ембріональних фібробластів великої кількості фетальних стовбурових клітин мезенхімального походження, інтенсивнішою аутокринною та паракринною діяльністю при здійсненні супресивного ефекту на лімфоцити та біологічною властивістю клітин більш ранніх етапів онтогенезу здійснювати процес реплікації інтенсивніше в порівнянні з клітинами (які мають спільне походження, морфологію та функції) більш пізніх етапів, що узгоджується з результатами досліджень інших авторів [23–30].

В И С Н О В К И

1. Мезенхімальні стовбурові клітини не зазнають цитотоксичного ефекту лімфоцитів крові тварин контрольної і дослідної груп.

2. Ембріональні фібробласти щурів зазнають цитотоксичного ефекту лімфоцитів крові тварин контрольної групи лише на 3 добу після формування дефекту шкіри.

3. На 8, 15 та 24 доби після формування дефекту шкіри ембріональні фібробласти щурів не зазнають цитотоксичного ефекту лімфоцитів крові тварин контрольної і дослідної груп.

Перспективи подальших досліджень. Слід було б вивчити цитотоксичну активність лімфоцитів крові щурів (самців) відносно до алогенних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку та ембріональних фібробластів щурів після їх введення та у різних дозах.

THE REACTION OF IMMUNE SYSTEM OF RATS ON TRANSPLANTED ALLOGENIC MESENCHYMAL STEM CELLS AND EMBRYO FIBROBLASTS

A. Mazurkevych, I. Kharkevych, V. Kovpak, N. Maluk, V. Danilov, V. Zhurba

S U M M A R Y

The cytotoxic activity of lymphocytes of blood of rats in relation to allogenic mesenchymal stem cells of bone marrow and embryo fibroblasts after their application with the purpose of correction of reparative processes in their skin was investigated. It is confirmed that the lymphocytes of blood of rats of control and experimental groups does not show the cytotoxic activity to mesenchymal stem cells. At the study of cytotoxic activity of lymphocytes of blood of animals of control group in relation to embryo fibroblasts its presence on day 3 after forming skin defect. On 8, 15 and 24 days after forming skin defect of lymphocytes of blood of animals of control and an experimental group does not show the cytotoxic activity to these cells.

РЕАКЦИЯ ИМУННОЙ СИСТЕМЫ КРЫС НА ТРАНСПЛАНТОВАННЫЕ АЛОГЕННЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ

*А. И. Мазуркевич, Ю. А. Харкевич, В. В. Ковпак, Н. А. Малюк,
В. Б. Данилов, В. И. Журба*

А Н Н О Т А Ц И Я

Исследовано цитотоксическую активность лимфоцитов крови крыс в отношении алогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и эмбриональных фибробластов после их применения с целью коррекции репаративных процессов в их коже. Установлено, что лимфоциты крови крыс контрольной и опытной групп не проявляют цитотоксической активности к мезенхимальным стволовым клеткам. Цитотоксическая активность лимфоцитов крови животных контрольной группы в отношении эмбриональных фибробластов отмечена на 3 сутки после формирования дефекта кожи. На 8, 15 и 24 сутки после формирования дефекта кожи лимфоциты крови крыс контрольной и опытной групп не проявляют цитотоксичности к данным клеткам.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Деев Р. В. Результаты трансплантации культуры аутогенных стромальных клеток костного мозга в область краевого дефекта длинных трубчатых костей / Р. В. Деев,

Н. В. Цупкина, Д. Е. Иванов и др. // Травматология и ортопедия России. — 2007. — 2 (44). — С. 57–63.

2. *Gun-II Im.* Repair of cartilage defect in the rabbit with cultured mesenchymal stem cells from bone marrow / Im. Gun-II, Do-Young Kim, Joo-Ho Shin et al. // The journal of bone and joint surgery. — 2001. — Vol. 23-B, № 2. — P. 289–294.

3. *Kevin B. L.* Injectable Mesenchymal Stem Cell Therapy for Large Cartilage Defects — A Porcine Model / B. L. Lee Kevin, H. P. Hui James, Im Chim Song et al. // Stem cells. — 2007. 25 : 2964–2971.

4. *Mikako Sasaki.* Mesenchymal Stem Cells Are Recruited into Wounded Skin and Contribute to Wound Repair by Transdifferentiation into Multiple Skin Cell Type. / Mikako Sasaki, Riichiro Abe, Yasuyuki Fujita et al. // The Journal of Immunology. — 2008. — 180 : 2581–2587.

5. *Wang Yang.* Administration of bone marrow-derived stem cells suppresses cellular necrosis and apoptosis induced by reperfusion of ischaemic kidneys in rats / Wang Yang, Hu Feng, Wang Zhi-jian et al. // Chinese Medical Journal. — 2008. — 121 (3): 268–271.

6. *Di Nicola M.* Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli / M. Di Nicola, C. Carlo-Stella, M. Magni et al. // Blood. — 2002. — 99 : 3838–3843.

7. *Krampera M.* Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells / M. Krampera, L. Cosmi, R. Angeli et al. // Stem Cells. — 2006. — 24 : 386–398.

8. *Yuehua Jiang.* Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow / Yuehua Jiang, N. Balkrishna Jahagirdar, R. Lee Reinhardt et al. // Nature. — 2002. — 418 : 41–49.

9. *Vlad Constantin Sandulache.* Elucidating interactions between the dermal fibroblast phenotype, inflammatory signals and extra-cellular matrix components / Vlad Constantin Sandulache. // Dissertation for the degree of doctor of philosophy. University of Pittsburgh. — 2006. — P. 112.

10. *Augello A.* Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway / A. Augello, R. Tasso, S. M. Negrini et al. // Eur J Immunol. — 2005. — 35 : 1482–1490.

11. *Devine S. M.* Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates / S. M. Devine, M. Cobbs Jennings, A. Bartholomew et al. // Blood. — 2003. — 101 : 2999–3001.

12. *Klyushnenkova E.* T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells: immunogenicity, tolerance, and suppression / E. Klyushnenkova, J. D. Mosca, V. Zernetkina et al. // J Biomed Sci. — 2005. — 1 2: 47–57.

13. *Le Blanc K.* Mesenchymal stem cells inhibit the expression of CD25 (interleukin-2 receptor) and CD38 on phytohaemagglutinin-activated lymphocytes / K. Le Blanc, I. Rasmusson, C. Gotherstrom et al. // Scand. J. Immunol. — 2004. — 60 : 307–315.

14. *Chen J. L.* Mesenchymal stem cells suppress allogeneic T cell responses by secretion of TGF-beta 1. / J. L. Chen, Z. K. Guo, C. Xu et al. // Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. — 2002. — 10. — P. 285–288.

15. *Aggarwal S.* Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses / S. Aggarwal, M. F. Pittenger // Blood. — 2005. — 105 : 1815–1822.

16. *Абаев Ю. К.* Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю. К. Абаев. — Ростов н/Д : Феникс, 2006. — 427 с.

17. *Liechty K. W.* Diminished interleukin 6 (IL-6) production during scarless human fetal wound repair / K. W. Liechty, N. S. Adzick, T. M. Crombleholme // Cytokine. — 2000. — 12 (6) : 671–676.

18. *Liechty K. W.* Diminished interleukin-8 (IL-8) production in the fetal wound healing response / K. W. Liechty, T. M. Crombleholme, D. L. Cass, et al. // J. Surg. Res. — 1998. — 77 (1) : 80–84.

19. *Liechty K. W.* Fetal wound repair results in scar formation in interleukin-10-deficient mice in a syngeneic murine model of scarless fetal wound repair / K. W. Liechty, H. B. Kim, N. S. Adzick, T. M. Crombleholme // *J. Pediatr. Surg.* — 2000. — 35 (6) : 866–873.
20. *Sarkhosh Kourosh.* Immune cell proliferation is suppressed by the interferon-induced Indoleamine 2,3-dioxygenase expression of fibroblasts populated in collagen gel (FPCG) / Sarkhosh Kourosh, Tredget Edward E., Karami Ali et al. // *Journal of cellular biochemistry.* — 2003. — Vol. 90, № 1. — P. 206–217.
21. *Sandrine Cappelesso-Fleury.* Human fibroblasts share immunosuppressive properties with bone marrow mesenchymal stem cells / Sandrine Cappelesso-Fleury, Benedicte Puissant-Lubrano, Pol-Andre Apoil et al. // *J. Clin. Immunol.* — 2010. — Jul, 30 (4). P. 607–619.
22. *Niranjan Bhattacharya.* Use of Human Fetal Tissue in Bionic and Biomaterial Devices / Niranjan Bhattacharya and Subrata Pal // *Trends Biomater. Artif. Organs.* — 2005. — Vol. 18 (2). — P. 96–100.
23. *Baksh D.* Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow / D. Baksh, R. Yao, R. S. Tuan // *Stem Cells.* — 2007. — 25. — P. 1384–1392.
24. *Baxter M. A.* Study of telomere length reveals rapid aging of human marrow stromal cells following in vitro expansion / M. A. Baxter, R. F. Wynn, S. N. Jowitt et al. // *Stem Cells.* — 2004. — 22. — P. 675–682.
25. *Bruce S. A.* In vitro senescence of Syrian hamster mesenchymal cells of fetal to aged adult origin. Inverse relationship between in vivo donor age and in vitro proliferative capacity / S. A. Bruce, S. F. Deamond, P. Tsó // *Mech. Ageing Dev.* — 1986. — 34. — P. 151–173.
26. *C. Chang I. Lee.* Comparison of Growth and Differentiation of Fetal and Adult Rhesus Monkey Mesenchymal Stem Cells / C. Chang I. Lee, Fang Ye., Alice F. Tarantal // *Stem Cells and Development.* — 2006. — 15 (2). — P. 209–220.
27. *Cecilia Götherström.* Difference in gene expression between human fetal liver and adult bone marrow mesenchymal stem cells / Cecilia Götherström, Anne West, Johan Liden et al. // *Haematologica.* — 2005. — 90. — P. 1017–1026.
28. *Guillot P. V.* Human first-trimester fetal MSC express pluripotency markers and grow faster and have longer telomeres than adult MSC / P. V. Guillot, C. Götherstrom, J. Chan et al. // *Stem Cells.* — 2007. — 25. — P. 646–654.
29. *Reynel Figueroa.* Telomere Erosion Varies during in Vitro Aging of Normal Human Fibroblasts from Young and Adult Donors / Reynel Figueroa, Heike Lindenmaier, Manfred Hergenhausen et al. // *Cancer research.* — 2000. — 60. — P. 2770–2774.
30. *Wilfried A. Kues.* Isolation of murine and porcine fetal stem cells from somatic tissue / Wilfried A. Kues, Bjorn Petersen, Wiebke Mysegades et al. // *Biology of reproduction.* — 2005. — 72. — P. 1020–1028.

Рецензент: завідувач ембріональної біотехнології, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник І. І. Гевкан.