

Костюк Н.И., кандидат ветеринарных наук²
Пинчук С.В., кандидат биологических наук¹
Василевич И.Б., научный сотрудник¹
Гапеева Т.А., кандидат биологических наук
Кабачевская Е.М., кандидат биологических наук¹
Стрельчяня И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент²
Ломако Ю.В., кандидат ветеринарных наук, доцент²
Барсукова М.В., лаборант 1 категории²
Борисик Р.Н., аспирант³
Руколь В.М., доктор ветеринарных наук, профессор³
Волотовский И.Д., доктор биологических наук, академик¹

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», г. Минск

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесесского», г. Минск

³УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ БОЛЕЗНЯМИ

Резюме

Изучена эффективность применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из жировой ткани крупного рогатого скота для лечения гнойно-некротических болезней копытца и пальца у коров.

Полученные результаты клинических исследований свидетельствуют о том, что введение МСК жировой ткани в область очага поражения копытца крупного рогатого скота с наличием соответствующих заболеваний ускоряет образование здоровой грануляционной ткани и сокращает сроки заживления раневых дефектов на 5–8 суток по сравнению с лечением, основанным на использовании базовых терапевтических препаратов, применяемых в молочном скотоводстве.

Summary

The effectiveness of use of cattle adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (MSCs) for a treatment of purulent-necrotic diseases of hooves and finger of dairy cattle was studied.

The results of clinical trials indicate that the treatment with adipose tissue-derived MSCs of lesion site of cattle hooves with the presence of appropriate diseases accelerates the formation of healthy granulation tissue and reduces the healing time of wound defects by 5-8 days compared with the treatment based on the use of basic therapeutic drugs used in dairy farming.

Поступила в редакцию 18.05.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Экспорт продукции сельского хозяйства является важнейшей статьей валютных доходов в Республике Беларусь. В последнее время на внешних рынках предприятиями нашей страны ежегодно реализуется сельскохозяйственной продукции на сумму более 5 млрд долларов, при этом основная доля экспорта приходится на мо-

лочную и мясную продукцию – свыше 70 % [9, 12].

Вместе с тем вопросы повышения эффективности и рентабельности мясомолочного производства остаются актуальными. Одним из важнейших факторов, оказывающих негативное влияние на мясную и молочную продуктивность крупного рогатого скота, является развитие различ-

ных патологических состояний животных, рост которых наблюдается при переводе животноводства на промышленную основу с созданием крупных комплексов с высоким уровнем механизации производственных процессов и большой концентрацией животных на ограниченных площадях. Такая технология животноводства, при всех ее положительных моментах, послужила причиной возникновения массовых хирургических заболеваний, среди которых доминируют болезни дистального отдела конечностей (копытец).

Согласно последним исследованиям, гнойные и гнойно-некротические поражения конечностей крупного рогатого скота наблюдаются у 14–60 % от общего поголовья в зависимости от породы, возраста животных, времени года, условий содержания в животноводческом хозяйстве [10, 2]. Приводятся также высокие цифры поражения заболеваниями копытец даже в высокоразвитых странах. В частности, сообщается о том, что 90 % молочных тёлочек в доильных залах имеют заболевания копытец, спровоцированные передвижением животных с пастбищ на твёрдые покрытия доильных площадок [11]. Основной причиной возникновения таких заболеваний является наличие травм, что в условиях отсутствия активного моциона, повышенной влажности в животноводческих помещениях, неполноценного рациона и высокой обсемененности патогенной микрофлорой ведет к возникновению и развитию целого спектра патологических состояний у животных.

Среди болезней копытец наиболее распространены язвы (венчика, мякиша, свода кожи межпальцевой щели), пододерматиты и ламиниты, тиломы, язвы Рустергольца, гнойные раны и ссадины, флегмоны венчика, гнойные остеоартриты копытцевого сустава, гнойные остеоартриты путового и венечного суставов и др. Болезни дистального отдела конечностей крупного рогатого скота крайне негативно сказываются на организме животных и их продуктивности. Развитие патологий приводит к снижению иммунобиологической резистентности организма, особенно у высоко-

продуктивных коров. У больных животных снижается аппетит, что отрицательно сказывается на их весе (потеря до 40 %) и молочной продуктивности (снижение на 14–50 %) [12]. Негативными последствиями болезней копытец крупного рогатого скота также являются вынужденная выбраковка животных (50–60 % от общего поголовья бракуемых животных), повышение ротации стада, что нарушает планы селекционно-племенной работы и не позволяет полноценно реализовать генетический потенциал породы, рост частоты задержки последа, кратности осеменения и продолжительности бесплодия (до 90–120 дней). На 100 переболевших коров недополучают до 17 телят [12]. Экономические потери от болезней копытец крупного рогатого скота, согласно оценке американских ученых, могут достигать 1000 долларов США на один случай заболевания [13, 14, 15], по оценкам российских – более 48 000 российских рублей [7].

В настоящее время лечение животных с заболеваниями копытец основывается на использовании средств, направленных на санацию очага поражения (своевременная функциональная расчистка копытцевого рога, удаление некротизированных фрагментов тканей, использование ванн с антибактериальными и пробиотическими препаратами), лечение очага поражения (использование бактерицидных мазей и присыпок, изолирующих повязок и накладок), увеличение резистентности организма (вакцинация, витаминно-минеральные комплексы) [1, 3, 7, 8]. В качестве профилактических действий и на начальных стадиях заболевания данные лечебные мероприятия достаточно эффективны, однако при прогрессировании заболевания и его переходе в более тяжелую стадию необходимо не только местное, но и системное применение антибиотиков [1, 12]. Эффективность лечения крупного рогатого скота с болезнями конечностей даже при комплексном подходе составляет около 80 %, при этом часты случаи рецидивов заболевания – до 30 % [2]. Период восстановления больного животного в зависимо-

сти от вида и стадии заболевания, методов лечения достаточно длителен и составляет от 20 до 60 и более дней [1, 8]. Сокращение сроков лечения важно, поскольку применение антибиотиков приводит к тому, что мясо болящих животных и производимое ими в данный период молоко не соответствуют санитарно-гигиеническим нормативам и запрещены к употреблению [12].

В связи с этим поиск новых эффективных методов лечения заболеваний копыт крупного рогатого скота остается крайне актуальным. Новые методы должны быть направлены на увеличение эффективности лечения, снижение случаев рецидивов болезней, сокращение срока выздоровления, уменьшение стоимости лечения, фармакологической нагрузки на организм и сохранение качества мяса и молока болящих животных в соответствии с санитарно-гигиеническими нормами, что позволяет не исключать их из технологического процесса.

Использование клеточных технологий может являться одним из наиболее перспективных подходов в разрешении проблем лечения заболеваний крупного рогатого скота, в том числе копыт животных. Исследования последних лет убедительно свидетельствуют, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) из жировой ткани обладают высоким противовоспалительным и регенерационным потенциалом. Это позволяет рассматривать их в качестве эффективного средства восстановления функционального состояния поврежденных органов и тканей. В совокупности с доступностью источника клеток, простотой выделения, высокой пролиферативной активностью МСК в условиях культуры их применения в регенеративной медицине человека получило бурное и плодотворное развитие. Эффективность и безопасность применения МСК подтверждена многочисленными литературными данными и работами белорусских ученых, разработавших на данный момент более 15 клеточных технологий лечения различных заболеваний человека [4, 5, 6].

Клеточная терапия набирает все боль-

шую популярность в ветеринарии [13, 14]. Наиболее часто стволовые клетки используются в клинической ветеринарной медицине для лечения опорно-двигательного аппарата после травм у лошадей и собак. Несколько реже разрабатываются способы лечения заболеваний крупного и мелкого рогатого скота. Лечение МСК потенциально может сократить время восстановления крупного рогатого скота и уменьшить экономические потери, связанные с заболеваниями копыт, сокращая время на восстановление.

Высокий терапевтический потенциал МСК в лечении болезней конечностей крупного рогатого скота основывается также на особенностях данных клеток стимулировать процессы васкуляризации и восстановления поврежденных тканей.

До настоящего момента исследования по использованию клеточных технологий при лечении заболеваний копыт крупного рогатого скота в Республике Беларусь не проводились. В имеющейся научной литературе также отсутствуют сведения о результатах исследований по данной тематике в Российской Федерации и странах дальнего зарубежья. Таким образом, разработка клеточной технологии использования МСК для лечения болезней конечностей крупного рогатого скота является инновацией, соответствующей мировому уровню.

Исследования были проведены на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минского мясокомбината, фермы Строчица ОАО «Щомыслица».

Жировую ткань крупного рогатого скота получали от убойных животных в условиях Минского мясокомбината, с соблюдением правил антисептики, от бычков черно-пестрой породы в возрасте 16–18 месяцев из благополучных по инфекционным и инвазионным болезням хозяйств.

Материалом для отбора служил подкожный жир. Забор жировой ткани осуществляли не позднее 30 минут после убоя

стерильными инструментами в стерильную посуду. Поверхность жировой ткани на месте разреза прижигали нагретым шпателем и делали глубокий надрез скальпелем, извлекая стерильным пинцетом жировую ткань. Биоптат предварительно помещали на 30 секунд в 70%-ный этиловый спирт, обеспечивающий стерильность и функциональность биоматериала, а затем – в стерильные флаконы с фосфатно-буферным раствором с добавлением антибиотиков (пенициллин 200 мкг на мл, стрептомицин 200 мкг на мл).

Для выделения МСК биоптат жировой ткани доставляли в ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» в течение часа от времени эксплантации, в контейнере при температуре 4 °С. С целью проверки на стерильность отобранную жировую ткань крупного рогатого скота доставляли в отдел культур клеток РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Стерильность отобранных образцов оценивалась по отсутствию видимых изменений в образцах, характерных для контаминации микроорганизмами, а также посевами на селективные бактериологические питательные среды (МПА, МПБ, среда Китта-Тароцци и среда Сабуро) в течение 2–3 недель наблюдения.

Жировую ткань отмывали от кондиционированной среды в растворе фосфатно-солевого буфера (ФСБ), содержащего антибиотики, добавляли 0,1%-ный раствор коллагеназы и инкубировали при постоянном перемешивании в течение 60 мин при температуре 37 °С. Затем содержимое флаконов нейтрализовали добавлением ФСБ, содержащего также 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС). После этого клеточную суспензию центрифугировали при 370 g в течение 10 мин, удаляли супернатант, осадок, состоящий из стромально-васкулярной фракции, заливали ростовой средой (ДМЕМ, содержащей 10 % ЭТС, 2 mM L-глутамин, 0,01 мл базового раствора комплексного антибиотика-антимикотика). Клетки высевали в количестве 8×10^5 кл/мл. Культивирование клеток про-

водили в одноразовых пластиковых чашках Петри диаметром 35 мм или культуральных флаконах для адгезионных культур («Sarstedt», Германия) в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С во влажной атмосфере при постоянном давлении 5 % CO₂.

Полную смену ростовой среды проводили первый раз через 24 ч, а затем – каждые 72 ч. МСК пассировали после достижения конfluenceности монослоя клеток 80–90 %. Для этого монослой промывали стерильным ФСБ и обрабатывали 0,25%-ным раствором трипсин-ЭДТА в течение 1–3 мин при температуре 37 °С. Трипсин инактивировали 3 % ЭТС. После двукратного промывания с использованием центрифугирования определяли титр жизнеспособных клеток.

Морфологические характеристики клеток определяли методом фазово-контрастной микроскопии с применением инвертированного микроскопа «Olympus CKX41» (Япония). Жизнеспособность клеток оценивали в камере Горяева путём окрашивания 0,04%-ным раствором трипанового синего (0,01 мл раствора на 0,01 мл суспензии клеток) с подсчётом окрашенных и неокрашенных (жизнеспособных) клеток.

Имунофенотип МСК определяли с использованием моноклональных антител к CD44, CD90 и CD45 на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США).

Среды и растворы стерилизовали фильтрованием через нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм («Sarstedt», Германия).

Накопленную биомассу МСК криоконсервировали в криопротекторной среде, содержащей 45 % среды ДМЕМ, 45 % ЭТС и 10 % ДМСО. Замораживание клеток проводили с помощью программируемого криозамораживателя «Cryologic CL8800i». Согласно программе, образцы выдерживались при температуре 5,5 °С в течение 10 мин, далее охлаждались до температуры минус 120 °С со скоростью 1 °С в мин.

Испытание клеточного трансплантата на животных с заболеваниями копытцев проводили на клинически больных коровах в условиях фермы Строчица ОАО «Щомыслица» Минского района.

Эффективность выздоровления оценивали по динамике сокращения язвенного дефекта и течению раневого процесса, а также состоянию окружающих тканей (отек, гиперемия). Критериями эффективности служили сроки образования грануляционной ткани, уменьшение болезненности и эпителизация раневого дефекта. Течение патологического процесса и степень заживления раны оценивали путем клинических исследований, при этом следили за характером выделяемого экссудата, макроскопическим методом определяли степень развития в ране грануляционной ткани. За животными вели клиническое наблюдение на 3-и, 7-е, 14-е, 21-е, 25-е сутки, т.к. это время наиболее информативно для получения клинической картины регенеративного процесса.

Для проведения клинических испытаний в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского» из ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», по акту передачи с аналитическим паспортом, была передана культура МСК жировой ткани крупного рогатого скота.

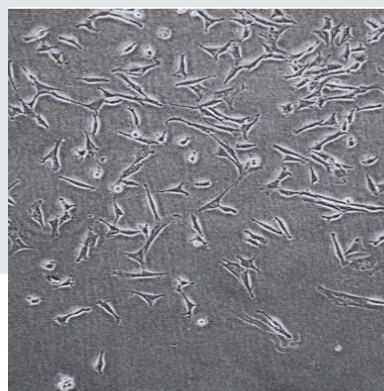
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Характеристика процесса культивирования МСК и параметров полученной культуры. Для получения МСК использовали биоптат подкожного жира в области хвоста. Метод получения МСК заключался в выделении стромально-васкулярной фракции и селекции данных клеток при последующем культивировании за счет их способности адгезировать на пластике. Было установлено, что использование 0,1 % коллагеназы в течение 60 мин приводит к дезагрегации жировой ткани и выходу клеток в среду, при этом количество жизнеспособных клеток составило более 90 %.

Культивирование клеток проводили в течение 30–35 суток со сменой ростовой питательной среды каждые 3-е суток.

На 5-е сутки в культуре появились клетки вытянутой формы, некоторые из них имели треугольную или полигональную форму, размер более 40 мкм, более крупное ядро и располагались на большом расстоянии друг от друга.

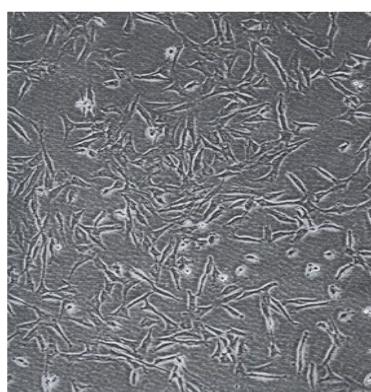
На 10-е сутки роста культуры в клетках при дополнительном увеличении ($\times 400$) отчетливо было видно ядро с ядрышком, гомогенная цитоплазма. Размер данных клеток варьировал от 20 до 40 мкм, они делились и начинали образовывать колонии (рисунок 1).



Увеличение $\times 100$

Рисунок 1. – Морфология МСК из жировой ткани крупного рогатого скота на 10-е сутки культивирования

На 17-е сутки роста в культуре были видны колонии, образованные клетками, имеющими фибробластоподобную форму (рисунок 2).

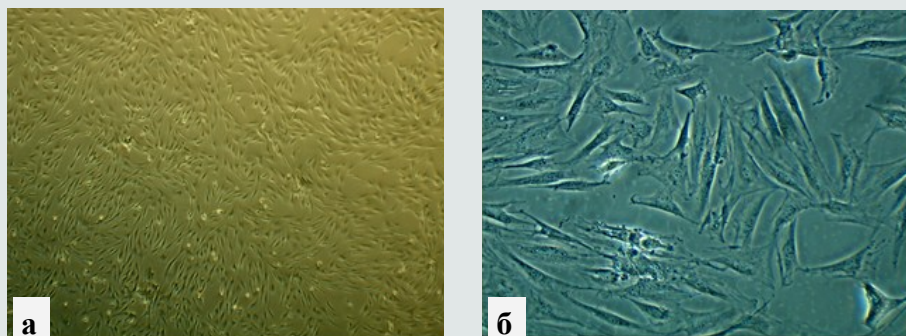


Увеличение $\times 100$

Рисунок 2. – Морфология МСК из жировой ткани крупного рогатого скота на 17-е сутки культивирования

На 20-е сутки культивирования образовывался монослой клеток с конfluenceностью 90 %. После пассирования культура МСК жировой ткани к 30–35-м суткам культивирования была представлена в основном гомогенной популяцией фибробластоподобных веретеновидных клеток (рисунк 3). Клетки были протестированы на

наличие типичных для МСК белковых маркеров. Результаты иммунофенотипирования показали, что в культурах преобладали клетки, экспрессирующие такие маркеры, как CD44 (>95 %) и CD90 (>90 %), тогда как количество клеток, экспрессирующих маркер гемопоэтических клеток CD45, было незначительным (<1,5 %).



Увеличение: а – $\times 40$, б – $\times 200$

Рисунок 3. – Образование монослоя в культуре МСК второго пассажа, полученной из жировой ткани крупного рогатого скота

В результате из биоптата подкожного жира крупного рогатого скота получена культура клеток с высокой адгезивной способностью, образующих монослой и обладающих высокой клоногенностью и пролиферативной активностью.

Применение МСК жировой ткани для лечения гнойно-некротических болезней копыт крупного рогатого скота. Подготовленные клеточные культуры для инъекций подвергались типологическому, микробиологическому и вирусологическому тестированию и переданы в герметичной стерильной упаковке (рисунк 4).



Рисунок 4. – Инъекционный препарат на основе МСК жировой ткани крупного рогатого скота

С целью определения эффективности МСК жировой ткани для лечения крупного рогатого скота была сформирована группа из 10 животных с заболеваниями копыт. Животные отбирались по принципу условных аналогов (с явно выраженными клиническими признаками): хромота разной степени, отведение конечности в сторону (снимается нагрузка с пораженного копыта), повышенная местная температура, наличие патологического очага, покраснение и др.

Контрольную группу составили 10 коров с поражениями копыт и пальца, которым ветеринарными специалистами оказывалась лечебная помощь препаратами INTRA HOOF-FIT или Klauengel Premium в соответствии со схемой лечения, принятой в данном хозяйстве.

Всем животным перед проведением эксперимента провели обязательную тщательную механическую очистку дистальных отделов конечностей, функциональную расчистку копыт, полное удаление омертвевших тканей и разросшихся патологических грануляций. После расчистки проводили обработку язвенного очага (3%-ным раствором перекиси водорода). Язвенный очаг осушался стерильными салфетками (рисунк 5).



Рисунок 5. – Механическая расчистка копыт и пальцев

Суспензию МСК в ФСБ вводили коровам в область свода кожи межпальцевой щели возле зоны поражения. Введение осуществляли инъекцией клеточного препарата объемом 4 мл, содержащего 10×10^6 МСК. Во время опыта за животными вели клинические наблюдения. Дополнительное лечение коров опытной группы не проводилось.

После введения суспензии МСК на обработанное копыто накладывалась антисептическая повязка, которая обеспечивала защиту раны и пересаженной культуры клеток от инфицирования.

Животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания, в чистом помещении с сухим полом и мягкой подстилкой.

Результаты исследований показали, что у всех больных коров до лечения отмечалось угнетение общего состояния, понижение пищевой возбудимости и реакции на окружающую обстановку. Дыхание и пульс были учащены. При передвижении у животных отмечалась выраженная хромота опорного типа. При клиническом осмотре диагностировались язвы пальца с выраженной воспалительной реакцией окружающих тканей, которые были отечными, болезненными, с наличием очагов некроза.

Исследование динамики выздоровления подопытных животных по сравнению с контролем показало, что у коров опытной группы на 7-е сутки уменьшились раз-

меры раневого дефекта, и поверхность раны заполнялась грануляционной тканью, животные более уверенно опирались на больную конечность. К 14-м суткам вся поверхность раневого дефекта покрылась здоровой мелкозернистой грануляционной тканью розового цвета (рисунки 6, 7), у двух животных большая часть раны покрылась струпом. Патологический очаг уменьшался за счет активного роста эпидермального ободка. Общее состояние всех животных группы улучшилось, наблюдалась незначительная хромота. Животные не отводили ногу в сторону и полностью опирались на пораженную конечность. К 21-м суткам после начала лечения на месте язвы сформировалась молодая эпителиальная ткань. У животных с поражениями копыт наступило полное клиническое выздоровление.



Рисунок 6. – Введение МСК ЖТ в область раневого повреждения копыт животных опытной группы



Рисунок 7. – Раневое повреждение копытец животных опытной группы на 14-е сутки после клеточной терапии

У животных контрольной группы с местным применением гелей и мазей по сравнению с опытной через 14 суток после лечения размеры дефекта патологического очага лишь слегка уменьшились (рисунки 8, 9). Болезненность сохранена, животные с осторожностью опирались на больную конечность и были повторно подвергнуты лечению. У трех коров к 21-м суткам хромота исчезла, остальным было проведено дополнительное лечение. Клиническое выздоровление животных данной группы наступило на 25–28-е сутки.



Рисунок 8. – Раневое повреждение копытец животных контрольной группы, обработанное препаратом INTRA HOOF-FIT



Рисунок 9. – Раневое повреждение копытец животных контрольной группы на 14-е сутки после лечения препаратом INTRA HOOF-FIT

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований отработана технология отбора жировой ткани в условиях мясокомбината, методы выделения из жировой ткани МСК и их культивирования. Показано, что МСК, полученные из биоптатов подкожной жировой клетчатки крупного рогатого скота, обладают высокой адгезивностью, клоногенностью и пролиферативной активностью, формируют монослой гомогенной популяции клеток с фибробластоподобной морфологией.

Результаты проведенных клинических исследований свидетельствуют о том, что применение МСК жировой ткани крупного рогатого скота для лечения животных с гнойно-некротическими заболеваниями копытец и пальца ускоряет в очаге поражения образование здоровой грануляционной ткани и на 5–8 суток сокращает сроки заживления раневых дефектов у коров с заболеваниями копытец по сравнению с использованием базовых лечебных препаратов, применяемых в молочном скотоводстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болезни конечностей у коров в условиях молочных комплексов, профилактика, лечение / А. Н. Елисеев [и др.] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 9. – С. 124–132.
2. Болезни пальцев и копытец у коров их профилактика и лечение / Д. А. Хузин [и др.] // Ветеринарный врач. – 2014. – № 5. – С. 24–28.
3. Волотко, И. И. Профилактика и лечение эндогенного кормового травматизма у коров / И. И. Волотко, А. И. Безин, Н. И. Бутакова // Известия ОГАУ. – 2014. – № 6 (50). – С. 34–42.
4. Волотовский, И. Д. Стволовые клетки: перспективы развития клеточных технологий / И. Д. Волотовский, Е. С. Лобанок, Е. Н. Лойко // Наука и инновации. – 2011. – № 1 (95). – С. 17.
5. Клеточные технологии в лечении пациентов с рецессией десны / С. П. Рубникович [и др.]. – Минск : Беларуская навука, 2019. – 199 с.
6. Клинические возможности применения аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани при лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей / Е. В. Баранов [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2013. – Т. VIII, № 2. – С. 78–83.
7. Методические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике некробактериоза, пальцевого дерматита и болезней копытец крупного рогатого скота незаразной этиологии / Д. А. Хузин [и др.] / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. – М. : Минсельхоз России, 2017. – 41 с.
8. Мистейко, М. Системный подход к профилактике болезней конечностей крупного рогатого скота / М. Мистейко, А. Лемеш // Ветеринарное дело. – 2013. – № 1. – С. 19–20.
9. Организация сельскохозяйственного производства: учеб. пособие / Н. С. Яковчик, Н. Н. Котковец, П. И. Малихтарович; под общ. ред. проф. Н. С. Яковчика. – Минск : ИВЦ Минфина, 2016. – 598 с.
10. Руколь, В. М. Активный моцион – здоровые копыта / В. М. Руколь // Белорусское сельское хозяйство. – 2015. – № 1 (153). – С. 35–39.
11. Johann Kofler Pathogenesis and Treatment of Toe Lesions in Cattle Including «Nonhealing» Toe Lesions // Vet.Vet. Clin. Food Anim. – 2017. – Vol. 33. – С. 301–328.
12. Estimating the value of infectious or noninfectious foot disorder prevention strategies within dairy farms, as influenced by foot disorder incidence rates and prevention effectiveness / K. A. Dolecheck [et al.] // Journal of Dairy Science. – Vol. 102. – Issue 1. – P. 731–741.
13. Fortier, L. A. Stem cells in veterinary medicine / L. A. Fortier, A. J. Travis // Stem Cell Res. Ther. – 2011. – V. 2. – P. 9.
14. Applications of mesenchymal stem cell technology in bovine species / A.B.T. Hill [et al.] // Stem Cell Res. Ther. – 2019. – Vol. 10. – P. 44.
15. Implantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells demonstrates improved outcome in horses with overstrain injury of the superficial digital flexor tendon / E. E. Godwin [et al.] // Equine Vet. J. – 2012. – Vol. 44. – P. 25–32.

наша продукция

