

Государственное бюджетное учреждение  
«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи  
им. И.И. Джанелидзе»  
Отдел термических поражений

# **Биотехнологические методы восстановления кожного покрова при ожогах**

*Учебно-методическое пособие для врачей*



Санкт-Петербург  
2024

*Авторы:*

Зиновьев Е.В., Костяков Д.В., Мануковский В.А.,  
Демко А.Е., Ермоленко В.С., Дерий Э.К.

*Рецензенты:*

д.м.н. профессор Крылов К.М.;  
д.м.н. доцент Шаповалов С.Г.

*Редакторы:*

д.м.н. профессор Парфенов В.Е.

**Биотехнологические методы восстановления кожного покрова при ожогах:** учебно-методическое пособие для врачей. – СПб.: СПб НИИ СП им. И.И. Джанелидзе, 2024. – 44 с.

Пособие подготовлено сотрудниками отдела термических поражений ГБУ «Санкт-Петербургский НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе». В пособии представлены основные теоретические аспекты применения клеточных продуктов в комбустиологии, сформулированы показания к их трансплантации, а также описаны последовательные алгоритмы выполнения данных манипуляций.

Пособие предназначено для комбустиологов, травматологов, хирургов, анестезиологов-реаниматологов, организаторов здравоохранения, в задачи которых входит оказание медицинской помощи пострадавшим с термическими поражениями, а также для обучающихся (клинических ординаторов, слушателей циклов дополнительного профессионального образования и др.).

*Утверждено в качестве учебного пособия проблемной комиссией № 2  
ГБУ СПб НИИ СП им. И.И. Джанелидзе протокол № 1 от 08.02.2024*

ISBN 978–5–907834–15–6

© Авторы, 2024  
© ГБУ СПб НИИ скорой помощи  
им. И.И. Джанелидзе, 2024

---

## ОГЛАВЛЕНИЕ

---

Введение . . . . .	4
1. Строение кожного покрова . . . . .	6
1.1. Эпидермис . . . . .	7
1.2. Дерма . . . . .	8
1.3. Гиподерма (подкожно-жировая клетчатка) . . . . .	8
2. Классификация ожоговых поражений по глубине . . . . .	9
3. Клеточные продукты . . . . .	12
3.1. Аутологичные или аллогенные кератиноциты . . . . .	13
3.2. Аутологичные или аллогенные фибробласты . . . . .	14
3.3. Аутологичные или аллогенные стволовые клетки . . . . .	14
3.4. Обогащенная тромбоцитами плазма . . . . .	15
3.5. Стромально-вазкулярная фракция . . . . .	15
4. Методики трансплантации клеточных продуктов . . . . .	16
4.1. Изолированная трансплантация . . . . .	16
4.2. Последовательная трансплантация . . . . .	19
5. Применение обогащенной тромбоцитами плазмы (рgr терапия) . . . . .	21
6. Применение клеточной суспензии стромально-вазкулярной фракции . . . . .	23
7. Возможности использования сведений о способах биотехнологического восстановления кожного покрова у обожженных в образовательных программах . . . . .	28
Заключение . . . . .	29
Список литературы . . . . .	30
Приложение А . . . . .	32
Приложение Б . . . . .	35
Приложение В . . . . .	39
Приложение Г . . . . .	41

## ВВЕДЕНИЕ

История развития человеческого общества неразрывно связана с огнем. Огонь помогал защищать людей от диких животных, согревать в холодные времена года, а также изготавливать оружие и инструменты. Закономерно, что взаимодействие с термическими агентами приводило к высокой частоте травм, нередко заканчивающихся летальным исходом. Данное обстоятельство послужило одним из триггеров развития медицины и комбустиологии, перед которой стояла задача поиска новых способов лечения раневых дефектов при ожоговых поражениях.

Согласно высказыванию Allgower (1956): «Едва ли найдется что-нибудь в поле, лесу, на лугу, кухне и в аптеке, что не было бы испытано для лечения ожогов». Как известно из древних источников, врачи пытались оказывать помощь пострадавшим с термическими травмами путем аппликации масла и вина (папирус Эберста 3000 до н. э.), повязок из смолы и измельченных рубцов (Гиппократ, III в до н. э.), кипящего масла или раскаленного железа (А. Паре, 1510–1590) и т. д. На Руси предлагали наносить на ожоги мази из скипидара, розового масла, а также яичных желтков. Уже в то время врачи понимали, что правильный выбор местного лечения ожоговой раны определяет физиологическое состояние всего организма и исход лечения, но были ограничены соответствующим уровнем знаний.

Неуклонный прогресс науки и техники увлекал за собой в том числе и медицину. В распоряжении специалистов начали появляться новые лекарственные препараты, ранозаживляющие средства, а также различные раневые покрытия. В ногу со временем развивалась и хирургия. В 1869 г. J. Reverden выполнил первую пересадку аутодермотрансплантата, ознаменовавшую начало становления отдельного ее направления – кожной пластики. Заложены основы регенеративной медицины, которая представляет собой комплекс методик, направленных на восстановление дефектов мягких тканей путем трансплантации различных культур клеток. Ключевой точкой развития клеточных технологий стало исследование Rheiwald J.G и Green H., позволившее в 1975 г. разработать методику культивирования кератиноцитов, пригодных для трансплантации. Вслед за данной работой последовали сообщения об успешном использовании данной культуры при лечении пострадавших с ожогами кожи (Bell S.C., 1983). К концу XX в. насчитывалось уже более 500 исследований, демонстрирующих эффективность применения кератиноцитов. Значительный вклад в развитие регенеративной медицины внесли и отечественные ученые. В 1990 г. в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А. В. Вишневского» МЗ РФ Алексеевым А.А. с соавт. под руководством Саркисова Д.С. был разра-

ботан оригинальный метод лечения пострадавших с обширными ожогами путем трансплантации фибробластов. Первый случай успешного применения стволовых клеток у обожженных в 2004 г. также был представлен российским ученым Расуловым М.В. Параллельно с методиками применения живых клеток активно совершенствовались и разрабатывались различные типы их носителей. Полимерные матрицы на основе биорезорбируемых материалов обеспечивают оптимальные условия для существования в них клеток и стимулируют репаративные процессы в ране. При этом послойная культивация в них кератиноцитов, фибробластов и стволовых клеток позволяет изготавливать структурные аналоги естественного кожного покрова.

В основе технологии биопринтинга заложены все передовые достижения регенеративной медицины. В настоящее время разработаны методики изготовления нервов, кровеносных сосудов, хрящей, а также комплексов тканей. В 2006 г. была опубликована работа коллектива авторов во главе с Atala J.A. по первой успешной трансплантации пациенту мочевого пузыря, изготовленного технологией 3D-биопринта. Развитие данного направления открывает широкие возможности не только для комбустиологии, но и всей системы здравоохранения в целом.

Несмотря на обширный опыт применения клеточных культур в медицине, который был накоплен за последние десятилетия, регенеративная медицина продолжает активно развиваться. В настоящее время не до конца выяснена роль трансплантируемых клеток в раневом процессе, т. е. они непосредственно участвуют в регенерации или осуществляют паракринную стимуляцию. Остаются открытыми многие вопросы, связанные со стволовыми клетками и их возможностями дифференцировки, а также нормативно-правовой регуляцией.

В Российской Федерации все аспекты, связанные с производством, регистрацией, применением, транспортировкой, утилизацией и т. д. лекарственных средств, содержащих живые клетки человека, регламентируются Федеральным законом от 23.06.2016 № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» с поправками, внесенными Федеральным законом от 04.08.2023 № 466-ФЗ «О внесении изменений в статью 4 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» и Федеральный закон «О биомедицинских клеточных продуктах». Согласно данному нормативно-правовому акту под биомедицинским клеточным продуктом понимают (БМКП) комплекс, состоящий из клеточной линии (клеточных линий) и вспомогательных веществ либо из клеточной линии (клеточных линий) и вспомогательных веществ в сочетании с прошедшими государственную регистрацию лекарственными препаратами для медицинского применения, и (или) фармацевтическими субстанциями, включенными в государственный реестр лекарственных средств, и (или) медицинскими изделиями. К аутологичным,

аллогенным или смешанным БМКП не относятся объекты трансплантации, а также высокотехнологические лекарственные средства (ВТЛС), включая генно-терапевтические лекарственные средства, подлежащие регистрации в соответствии с правом Евразийского экономического союза и (или) государственной регистрации в соответствии с Федеральным законом от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». Согласно актам Евразийского экономического союза, ВТЛС включают в себя генотерапевтические лекарственные препараты, лекарственные препараты на основе соматических клеток, препараты тканевой инженерии. Таким образом, имеются два возможных пути определения и регистрации продуктов, содержащих клетки. При этом в каждом случае применяются различные регламентирующие документы, что вносит очевидную неопределенность.

Новое постановление Правительства Российской Федерации предусматривает новые ограничения для клинических учреждений, имеющих клеточные лаборатории. В них БМКП должны использоваться только в рамках изделия произведенного для отдельного пациента и каждый клинический случай их применения должен быть обоснован и зарегистрирован в единой информационной системе. Правила обращения с такими продуктами утверждены Постановлением Правительства Российской Федерации № 384 от 28 марта 2024 г. «Об утверждении Правил обращения биомедицинских клеточных продуктов, предназначенных для исполнения индивидуального медицинского назначения биомедицинского клеточного продукта, специально произведенного для отдельного пациента непосредственно в медицинской организации, в которой применяется данный биомедицинский клеточный продукт».

В настоящее время биотехнологии являются одним из наиболее перспективных направлений с точки зрения оказания медицинской помощи пациентам не только с хирургической, но и терапевтической патологией. В представленном пособии приведены сведения о доступных для практикующего специалиста методах биотехнологического восстановления кожного покрова, используемых для лечения пациентов с ожогами кожи.

## 1. СТРОЕНИЕ КОЖНОГО ПОКРОВА

Кожа является самым большим органом в теле человека, общая площадь которого составляет около 1,5–2 м<sup>2</sup>. Она выполняет не только защитную, но и экскреторную, терморегуляционную, а также бактерицидную функции. Наличие значительного объема нервных окончаний позволяет реализовать сигнальную функцию путем реакции на боль, температуру или давление. Кожный покров участвует в процессах газообмена, метаболизма и состоит

из трех основных слоев: эпидермис, дерма и гиподерма (подкожно-жировая клетчатка). Они отличаются друг от друга по своим функциям, строению и происхождению (Рис. 1).

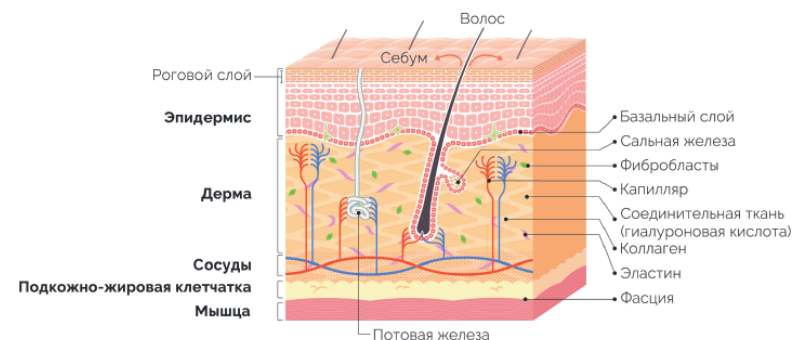


Рис. 1. Общая структура кожного покрова

### 1.1. Эпидермис

Эпидермис – эпителиальный слой кожного покрова эктодермального происхождения, толщина которого варьируется от 0,03 до 1,5 мм. Он представляет собой барьер, защищающий организм от облигатной и факультативной микрофлоры, а также обезвоживания. Эпителиальные клетки характеризуются высокой скоростью деления. Полный цикл обновления происходит за 26–28 суток. В состав эпидермиса входит 5 слоев: базальный, шиповатый, зернистый, блестящий и роговой. В области ладоней и стоп эпидермис значительно толще относительно других анатомических областей и содержит дополнительный блестящий слой (Рис. 2).

### ЭПИДЕРМИС

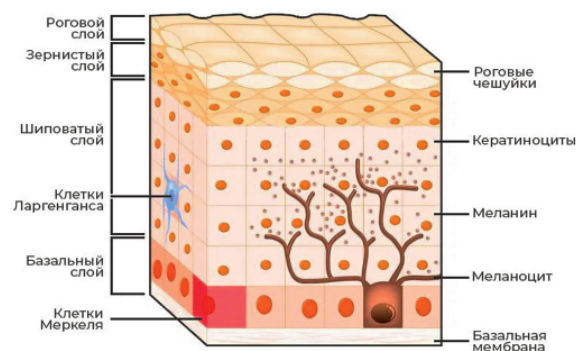


Рис. 2. Структура эпидермального слоя кожного покрова



## 1.2. Дерма

Глубже эпидермиса располагается дерма, состоящая из сосочкового и ретикулярного слоев (Рис. 3). Данная область заполнена соединительной тканью – коллагеном I, III, IV, V, VI, VII типа и эластичными волокнами, объединенными гликопротеинами, молекулами воды и гликозамингликанами. Это обуславливает упругость, эластичность дермального слоя кожного покрова, позволяя ему восстанавливать свою форму при деформации. Несмотря на плотную структуру, в дерме располагаются нервно-сосудистая сеть, лимфатические микрососуды, а также придатки кожи: волосы, потовые и сальные железы. Последние отсутствуют только на поверхности ладоней, стоп и выделяют за сутки до 20 г секрета, обладающего фунгицидным эффектом. Потовые железы располагаются на всей площади кожного покрова. За счет выделительной функции осуществляется экскреция от 700 до 1300 мл пота, обеспечивая детоксикацию организма и удаление излишков воды. Дермальный слой разделен на две части: папиллярную (сосочковую) и ретикулярную (сетчатую).

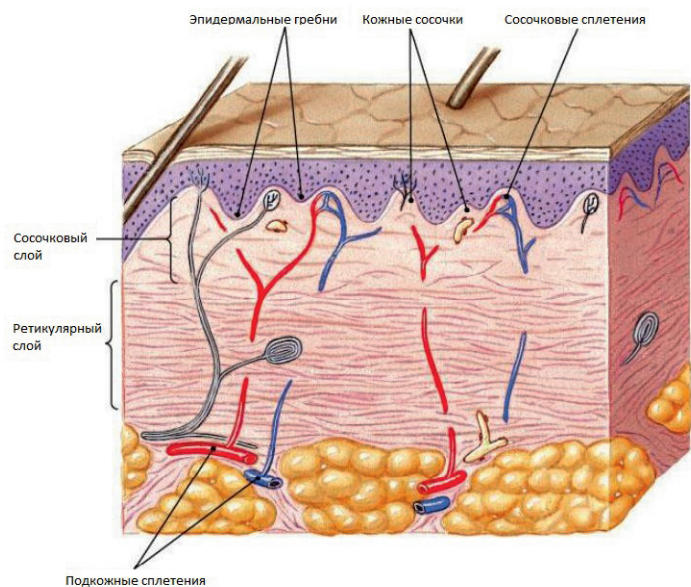


Рис. 3. Структура дермального слоя кожного покрова

## 1.3. Гиподерма (подкожно-жировая клетчатка)

Гиподерма, или подкожно-жировая клетчатка локализуется под дермальным слоем кожного покрова (Рис. 4).



Подкожная жировая клетчатка

Рис. 4. Подкожно-жировая клетчатка

Она обеспечивает механическую защиту подлежащих тканей и органов, регулирует теплообмен. Данный слой кожного покрова также выступает в роли «депо» метаболитов. Толщина гиподермы на различных участках тела неодинакова и зависит от пола, типа телосложения организма. Основной массив тканей подкожно-жировой клетчатки представлен адипоцитами, разделенными перпендикулярными соединительнотканными перегородками. В гиподерме располагаются основания волосяных фолликулов, потовых желез, а также крупные сосуды и нервы.

## 2. КЛАССИФИКАЦИЯ ОЖОГОВЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПО ГЛУБИНЕ

Ожоговые поражения являются полиэтиологичной травмой. Они могут возникать в результате воздействия пламени, горячих жидкостей, электричества, химических веществ, радиационного излучения. Повреждение кожных покровов также возникает вследствие прямого контакта с высокотемпературным агентом (контактные ожоги).

Для выбора тактики ведения ожоговой раны и возможности применения клеточных технологий необходимо точно определить глубину поражения. В настоящее время в лечебных учреждениях применяются две основные классификации, сравнение которых представлено в таблице 1.

Таблица 1. Сравнение классификаций ожогов кожи по глубине поражения

XXVII съезд хирургов СССР, 1960	МКБ-10	Глубина поражения
I степень	I степень	поверхностные
II степень		

XXVII съезд хирургов СССР, 1960	МКБ-10	Глубина поражения
IIА степень	II степень	пограничные
IIБ степень	III степень	глубокие
IV степень		

В соответствии с рекомендациями Министерства здравоохранения и ведущих специалистов в области комбустиологии, все медицинские учреждения в своей клинической практике должны использовать классификацию ожогов по МКБ-10. Градация, предложенная XXVII съездом хирургов СССР в 1960 г., в настоящее время носит общеобразовательный, исторический характер.

Поверхностные поражения I степени характеризуются повреждением только эпидермального слоя кожного покрова с выраженным экссудативным воспалением (Рис. 5). Они могут возникать при воздействии солнечного или других видов ультрафиолетового излучения. Чаще всего проявляются гиперемией (ожоговой эритемой), которая полностью регрессирует в течение трех суток с незначительным местным шелушением. При более глубоком повреждении возможно образование тонкостенных пузырей, заполненных прозрачной жидкостью, близкой по составу к плазме. Формирующиеся раны заживают самостоятельно в течение десяти суток за счет сохранившегося пула эпителиальных клеток в базальной мембране и придатках кожи (волосяные фолликулы, сальные и потовые железы). В ряде случаев развивается нарушение пигментации.

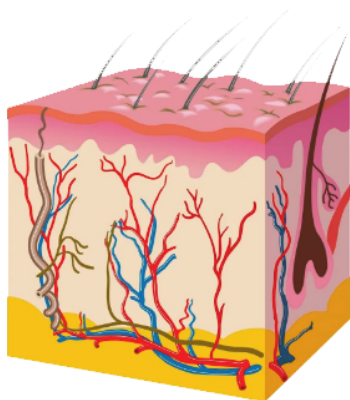


Рис. 5. Структура поражений кожи при ожогах I степени (по МКБ-10)

Ожоги II степени являются пограничными или дермальными поражениями. При этом повреждается эпидермис и дерма до сетчатого слоя с сохранением волосяных фолликулов, сальных и потовых желез, за счет которых

происходит эпителизация раны (Рис. 6). Воспалительный процесс затрагивает всю дерму, а также подкожно-жировую клетчатку, снижая интенсивность микроциркуляции в области травмы. Ожоги II степени эпителизируются самостоятельно в течение 18–20 суток. В большинстве случаев отмечается нарушение пигментации. При осложненном течении раневого процесса или отсутствии адекватного местного лечения могут формироваться рубцы. Последние наиболее характерны для «мозаичных поражений», которые представляют собой чередование точечных повреждений II и III степени.

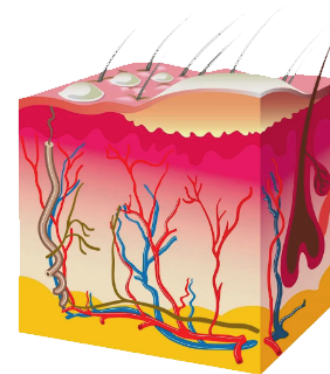


Рис. 6. Структура поражений кожи при ожогах II степени (по МКБ-10)

При глубоких ожогах III степени происходит поражение кожного покрова на всю толщину (Рис. 7).

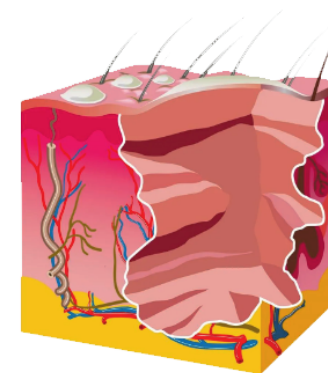


Рис. 7. Структура поражений кожи при ожогах III степени (по МКБ-10)

Часто отмечается некроз глубже лежащих тканей: подкожно-жировой клетчатки, мышц, фасции, кости и т. д. Самостоятельное восстановление

таких дефектов возможно только при незначительной их площади – до 0,5 % п. т. Основным способом лечения глубоких ожогов является кожная пластика. После заживления всегда отмечается нарушение пигментации, формируются послеожоговые рубцы, в том числе патологические и рубцовые деформации.

### 3. КЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

БМКП представляет собой комплекс, состоящий из клеточной линии и вспомогательных веществ/лекарственных препаратов.

По своему происхождению они могут быть аутологичными, аллогенными или комбинированными.

В первом случае источником клеточной линии является пациент, во втором – донор. При комбинированном типе клетки изготавливаются из материала, полученного от нескольких людей.

Вспомогательные вещества неорганического или органического происхождения, используемые при разработке и производстве БМКП имеют важное значение. Их основной задачей является обеспечение жизнеспособности клеток и стимуляция репарации за счет деградации на структурные элементы. Клеточная культура может применяться в нескольких формах: на коллагеновом носителе и в виде геля. Каждый вид изделия обладает как положительными, так и отрицательными сторонами (Рис. 8).

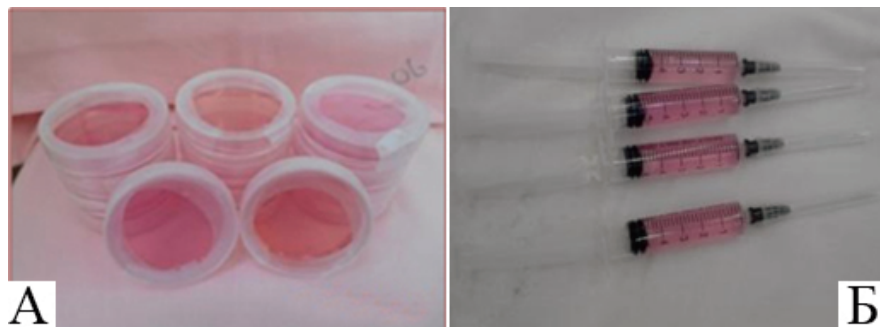


Рис. 8. БМКП на основе аллогенных фибробластов:  
А – на коллагеновом носителе (ФГБУН «ИНЦ РАН»);  
Б – в виде геля (ООО «Покровский БСК»)

В случае коллагенового носителя биологический материал формируется в чашке Петри и изолируется от внешней среды. Разгерметизация упаковки в процессе транспортировки недопустима, так как приводит к нарушению стерильности клеточной культуры. Также извлечение БМКП требует от спе-

циалиста определенных навыков. Это обусловлено тем, что коллагеновый носитель обладает низкой механической устойчивостью и повреждается при незначительном воздействии.

У БМКП в виде геля отсутствует большинство указанных недостатков. Транспортировка биологического материала осуществляется в стерильных емкостях (шприце), надежно изолированных от внешней среды. Нанесение клеточного продукта на раневую поверхность также не представляет сложностей. Гель легко распределяется на ожоговой ране и моделируется в соответствии с ее рельефом. Основным недостатком данной формы изготовления БМКП является невозможность адекватной его аппликации на наклонные поверхности, например, боковая поверхность бедра или плеча, что обусловлено дислокацией геля под силой собственной тяжести.

Как указывалось ранее, в основе любого БМКП лежит клеточная линия. Она представляет собой стандартизованную аутологичную или аллогенную популяцию клеток одного типа с воспроизводимым клеточным составом, полученную путем изъятия из организма человека биологического материала. С целью восстановления целостности кожного покрова особый интерес представляют культуры кератиноцитов, фибробластов, а также стволовых клеток. Отдельно необходимо отметить возможность применения обогащенной тромбоцитами плазмы и клеточной суспензии стромально-васкулярной фракции.

#### 3.1. Аутологичные или аллогенные кератиноциты

Кератиноциты относятся к эпителиоцитам и составляют 85 % всех клеток эпидермиса. Они располагаются слоями и переходят из одного уровня в другой за счет постоянного митоза. Базальные и шиповатые кератиноциты иногда объединяют общим понятием – ростковый (мальпигиевый) слой. За счет указанных клеточных линий происходит восстановление дефектов эпидермиса. В последующих слоях способность кератиноцитов к митозу уменьшается, что связано с морфологическими изменениями на фоне их ороговения. При этом происходит утрата свойств, характерных для живых клеток (разрушение ядра, утрата органелл), увеличиваются размеры цитоплазмы, изменяется ее форма. Итогом данного процесса является образование корнеоцитов (роговых чешуек), составляющих роговой слой. Полное обновление эпидермиса происходит в течение 3–4 недель.

Помимо защитной, барьерной, иммуногенной, регенераторной функций кератиноциты способны синтезировать различные биологические вещества. Особый интерес представляют эпидермальный фактор роста, факторы роста фибробластов, тромбоцитов. Это позволяет кератиноцитам воздействовать на другие клеточные линии, обеспечивая паракринный эффект трансплантации.



### 3.2. Аутологичные или аллогенные фибробласты

Фибробласты – основные компоненты дермы, непрерывно синтезирующие в межклеточное пространство элементы матрикса и ферменты. Данная популяция обеспечивает морфофункциональную организацию кожного покрова не только в физиологических условиях, но и при различных травмах или раневых дефектах.

Фибробласты кожного покрова гетерогенны, т. е. в различных слоях дермы они отличаются по структуре. Их можно разделить на две большие популяции: митотически активные и постмитотические клетки. Первые характеризуются высокой способностью к митозу и синтезу специфических биологически активных веществ.

Основной функцией данной клеточной линии является формирование и репарация дермы за счет активной продукции коллагена, фибронектина и других компонентов внеклеточного матрикса. Однако, также как и кератиноциты, фибробласты способны синтезировать ряд биологически активных веществ, например, основной фактор роста фибробластов, трансформирующий ростовой фактор альфа и бета, эпидермальный фактор роста и фактор роста кератиноцитов и др. Последние имеют важное значение не только для регенерации дефектов кожного покрова, но и паракринного взаимодействия с клетками эпидермиса.

### 3.3. Аутологичные или аллогенные стволовые клетки

Стволовые клетки являются относительно новой популяцией, активное исследование которой началось с конца XIX в. Данная линия обладает наибольшей универсальностью, так как может восстановить любую поврежденную клеточную линию в организме. В настоящее время существуют следующие классификации стволовых клеток.

По способу получения:

- эмбриональные;
- фетальные;
- постнатальные.

По возможности дифференцировки:

- тотипотентные;
- плюрипотентные;
- мультипотентные;
- унипотентные;
- олигопотентные.

С точки зрения возможности применения для терапии не только хирургических, но и терапевтических патологий наибольший интерес представляют эмбриональные плюрипотентные стволовые клетки человека. Данная популяция способна к делению вне зависимости от типа зароды-

шевого листка (экто-, мезо- или энтодерма), т. е. осуществлять непосредственное восстановление не только эпидермиса, но и дермы. Однако их получение и использование ограничивается рядом моральных, юридических и религиозных факторов. В связи с чем активное развитие получили методики, направленные на изготовление клеточных продуктов на основе постнатальных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток. В отличие от предыдущей популяции, они способны дифференцироваться только в одном направлении, выбор которого зависит от источника биологического материала. Чаще всего с этой целью применяется жировая ткань пациента, которая происходит из мезодермы. Таким образом, трансплантируемые постнатальные мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки теоретически могут дифференцироваться в клеточные популяции дермы, в то время как стимуляция эпителизации будет осуществляться только паракринным путем.

### 3.4. Обогащенная тромбоцитами плазма

Плазму крови с целью стимуляции регенерации дефектов кожных покровов начали активно использовать еще с середины XX в. Современное развитие медицины позволило усовершенствовать данную технологию и повысить ее эффективность. Одной из основных вариаций ее применения является изготовление обогащенной тромбоцитами плазмы. Последняя представляет собой концентрат биологических активных веществ, содержащий, например, тромбоцитарный фактор роста, трансформирующий фактор роста бета, фактор роста фибробластов, инсулиноподобные факторы роста, факторы роста эндотелия сосудов, эпидермальный фактор роста, интерлейкин 8, фактор роста кератиноцитов, эндостатин и др.

Обогащенная тромбоцитами плазма изготавливается из цельной венозной крови пациента путем ее однократного центрифугирования. Методика не требует от персонала специфических навыков и наличия специализированного оборудования. Полученный концентрат может вводиться в область дефекта кожного покрова как инъекционно, так и путем аппликации на раневую поверхность.

### 3.5. Стромально-васкулярная фракция

Стромально-васкулярная фракция (СВФ) представляет собой гетерогенный конгломерат клеток, выделенный из жировой ткани. В ее состав входят: эндотелиоциты, фибробласты, эритроциты, перициты, моноциты/макрофаги, мезенхимальные стволовые клетки и др. Терапевтический механизм действия СВФ основан на многоуровневом паракринном взаимодействии с реципиентной зоной. При этом отмечается выраженная сти-

муляция регенерации, ангио- и нейрогенеза, иммуномодуляция и ингибирование апоптоза.

СВФ изготавливается из жировой ткани пациента путем ее липоаспирации, механической деструкции и двукратного центрифугирования. Данная технология является чрезвычайно простой. СВФ может применяться инъекционно (в толщу грануляционной ткани) и аппликационно как изолированно, так и в комбинации с обогащенной тромбоцитами плазмой.

## 4. МЕТОДИКИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

### 4.1. Изолированная трансплантация

Клеточная культура аутологических или аллогенных кератиноцитов относится к основному клеточному дифферону эпидермального слоя кожного покрова и ответственна за эпителизацию ожоговых ран. Показания к применению данной линии представлены на рисунке 9.



Рис. 9. Перечень показаний для трансплантации культуры аутологических или аллогенных кератиноцитов

Фибробласты уже относятся к основной популяции дермального слоя кожного покрова. Они принимают непосредственное участие в восстановлении структуры межклеточного пространства и синтезе межклеточного вещества дермы. Показания к применению данной клеточной линии представлены на рисунке 10.



Рис. 10. Перечень показаний для трансплантации культуры аутологических или аллогенных фибробластов

Методика изолированной трансплантации (Приложение А) клеточной культуры кератиноцитов или фибробластов представлена следующими этапами:

1. В условиях операционной или перевязочного кабинета после снятия повязок выполняют обработку раневой поверхности антисептиками с последующим обильным ее орошением физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %.

2. После смены стерильных перчаток осуществляют вскрытие емкости с клеточным продуктом и его трансплантацию на ожоговую рану (Рис. 11).

3. Для фиксации БМКП используют раневые покрытия «Парапран с хлоргексидином», «Lomatuell Н», «Воскопран с мазью Левомеколь», «Metalline», «Активтекс с хлоргексидином» (Силиобинт) или один слой стерильной марли, пропитанной физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % (Рис. 12).

4. Область трансплантации дополнительно закрывается несколькими слоями повязок и орошается физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % с целью формирования влажной среды.

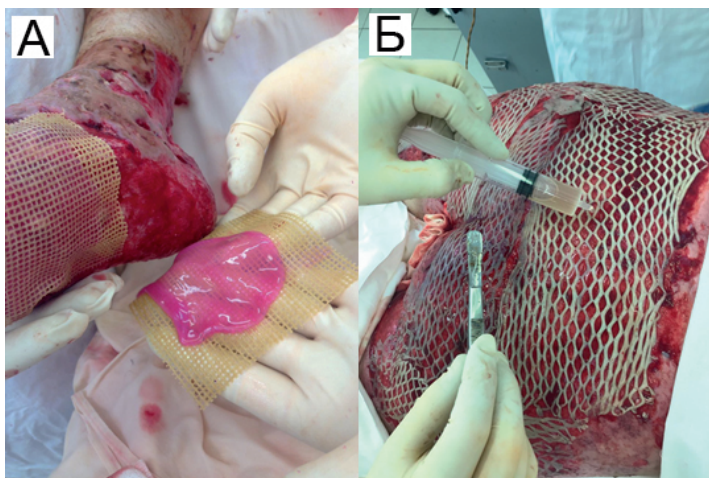


Рис. 11. Трансплантация аллогенных фибробластов:  
 А – на collagenовом носителе (ФГБУН «ИНЦ РАН»);  
 Б – в виде геля (ООО «Покровский БСК»)



Рис. 12. Клеточная культура аллогенных фибробластов с раневым покрытием «Воскопран с мазью левомеколь»

5. Фиксация перевязочного материала бинтом.
6. Поддержание условий влажной среды на раневой поверхности проводится путем дополнительного пропитывания повязок физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % каждые 3 часа на протяжении суток с момента манипуляции.
7. При неосложненном течении раневого процесса первая перевязка осуществляется не ранее чем через 5 суток с момента трансплантации.

#### 4.2. Последовательная трансплантация

Изолированная трансплантация культур кератиноцитов и фибробластов позволяет стимулировать эпителизацию ожоговых ран, а также ускорить подготовку грануляционной ткани к хирургическому лечению. Однако ни один из указанных способов не обладает возможностью восстановления глубоких поражений без использования кожной пластики. С целью биотехнологической репарации ограниченных по площади полнослойных дефектов кожного покрова у пациентов с неблагоприятным коморбидным фоном или в случае отказа от операции была разработана методика последовательной трансплантации клеточных культур, учитывающая физиологические связи между кератиноцитами и фибробластами. Данные клеточные линии находятся в тесном паракринном взаимодействии, стимулируя активность друг друга посредством синтеза различных биологически активных веществ (EGFR, FGF и др.). Это было подтверждено результатами исследований Rheinwald J.G. и Green H. (Rheinwald J.G., 1975), которые продемонстрировали отсутствие адекватного роста кератиноцитов на средах, не содержащих фибробласты. При изолированной трансплантации клеточных культур нарушается данная физиологическая связь, что приводит к снижению эффективности терапии. При этом первой выполняется трансплантация культуры фибробластов, подготавливающая основу (межклеточный матрикс) для дальнейшей ее эпителизации кератиноцитами.

Показания к применению данной линии клеток представлены на рисунке 13.



Рис. 13. Перечень показаний для применения методики последовательной трансплантации аутологичной или аллогенной культуры фибробластов и кератиноцитов



Методика последовательной трансплантации (приложение Б) культуры фибробластов и кератиноцитов заключается в выполнении следующих манипуляций:

1. В условиях операционной или перевязочного кабинета после снятия повязок выполняют обработку раневой поверхности антисептиками с последующим обильным ее орошением физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %.

2. После смены стерильных перчаток осуществляют вскрытие емкости с культурой фибробластов и ее трансплантацию на ожоговую рану.

3. Для фиксации БМКП используют раневые покрытия «Парапран с хлоргексидином», «Lomatuell Н», «Воскопран с мазью Левомеколь», «Metalline», «Активтекс с хлоргексидином» (Силиобинт) или один слой стерильной марли, пропитанной физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %.

4. Область трансплантации дополнительно закрывается несколькими слоями повязок и орошается физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % с целью формирования влажной среды.

5. Фиксация перевязочного материала бинтом.

6. Поддержание условий влажной среды на раневой поверхности проводится путем дополнительного пропитывания повязок физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % каждые 3 часа на протяжении суток с момента манипуляции.

7. При неосложненном течении раневого процесса перевязка не выполняется до следующего этапа – трансплантация культуры кератиноцитов.

8. На 2–3 сутки после аппликации фибробластов в условиях операционной или перевязочного кабинета хирургического отделения после снятия повязок выполняют обработку раневой поверхности антисептиками с последующим обильным ее орошением физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %.

9. После смены стерильных перчаток осуществляют вскрытие емкости с культурой кератиноцитов и ее трансплантацию на ожоговую рану.

10. Для фиксации БМКП используют раневые покрытия «Парапран с хлоргексидином», «Lomatuell Н», «Воскопран с мазью Левомеколь», «Metalline», «Активтекс с хлоргексидином» (Силиобинт) или один слой стерильной марли, пропитанной физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %.

11. Область трансплантации дополнительно закрывается несколькими слоями повязок и орошается физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % с целью формирования влажной среды.

12. Фиксация перевязочного материала бинтом.

13. Поддержание условий влажной среды на раневой поверхности проводится путем дополнительного пропитывания повязок физиологическим

раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % каждые 3 часа на протяжении суток с момента манипуляции.

14. При неосложненном течении раневого процесса первая перевязка осуществляется не ранее чем через 5 суток с момента трансплантации.

## 5. ПРИМЕНЕНИЕ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ (PRP ТЕРАПИЯ)

Плазма крови является высокоэффективным стимулятором репаративной регенерации, которая используется в комбустиологии на протяжении последних нескольких десятков лет. В настоящее время внедряется современная вариация данной методики, которая предусматривает применение обогащенной тромбоцитами фракции плазмы, содержащей большую концентрацию биологически активных веществ. Показания к применению данной линии клеток представлены на рисунке 14.



Рис. 14. Перечень показаний к стимуляции репаративной регенерации ожоговых ран с использованием плазмы крови пациента

Методика получения плазмы крови (Приложение В) не требует от специалистов специальных навыков и оборудования за исключением лабораторной центрифуги. Биологически активный материал может применяться несколькими способами: инъекционно, в толщу грануляционной ткани с помощью инсулинового шприца (расстоянием между вколами иглы до 2 см) и аппликационно на раневую поверхность, в т. ч. под аутодермотрансплантаты.

Методика стимуляции репаративной регенерации ожоговых ран с помощью данной технологии представлена следующими этапами:

1. В условиях операционной или перевязочного кабинета хирургического отделения после снятия повязок выполняют обработку раневой поверхности антисептиками с последующим обильным ее промыванием физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %.

2. После смены стерильных перчаток осуществляют забор венозной крови в шприц 10 мл содержащем антикоагулянт (цитрат натрия) 0,1 мл. Возможно изготовление обогащенной тромбоцитами плазмы без ингибиторов коагуляции, однако в таком варианте значительно возрастает риск ее преждевременного свертывания (Рис. 15).



Рис. 15. Целая венозная кровь пациентов

3. Емкость с биологическим материалом центрифугируют при 2 600 оборотов в течение 10 минут (Рис. 16).



Рис. 16. Сепарация цельной венозной крови пациента после ее центрифугирования

4. После разделения фракций плазму крови переносят в другой шприц, а форменные элементы в осадке утилизируют.

5. Плазму крови инъектируют в грануляционную ткань или наносят на раневую поверхность аппликационно.

6. Дальнейшее ведение ран осуществляется по общепринятым методикам, утвержденным в лечебном учреждении.

## 6. ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТЧНОЙ СУСПЕНЗИИ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ

Стромально-васкулярная фракция в настоящее время является одним из наиболее перспективных клеточных продуктов, которые возможно применять в качестве биологического стимулятора репаративной регенерации ожоговых ран. Данный метод не требует специальных навыков и оборудования, а значит, может быть внедрен в клиническую практику лечебных учреждений различного ранга. В качестве клеточного продукта выступает стромально-васкулярная фракция, содержащая широкий перечень клеточных линий, таких как фибробласты, эндотелиоциты, перициты, мезенхимальные

стволовые клетки и др. Данная методика может применяться изолированно, а также в сочетании с обогащенной тромбоцитами плазмой, образуя высокоэффективный продукт. Показания к ее применению приведены на рисунке 17.



Рис. 17. Перечень показаний к стимуляции репаративной регенерации ожоговых ран с использованием клеток стромально-васкулярной фракции

Методика изготовления (Приложение Г) и применения клеточной суспензии стромально-васкулярной фракции представлена следующими этапами:

1. Подготовка раствора для инфильтрации: в емкость с физиологическим раствором NaCl 0,9 % объемом 500 мл добавляется 0,5 мл 1 % эпинефрина (из расчета 0,1 мл на 100 мл).
2. Липоаспирация не менее двух зон до заполнения адипогенной тканью пары шприцев емкостью по 20 мл каждый (Рис. 18).
3. Первичное центрифугирование в течение четырех минут при 2 500 оборотах в минуту (Рис. 19).
4. Удаление верхней (фрагменты разрушенных клеток) и нижней фракций (раствор для инфильтрации), образовавшихся в шприцах после центрифугирования. Средняя сохраняется, так как она представлена жизнеспособными адипоцитами (Рис. 20).



Рис. 18. Липоаспирация



Рис. 19. Первичное центрифугирование липоаспирата



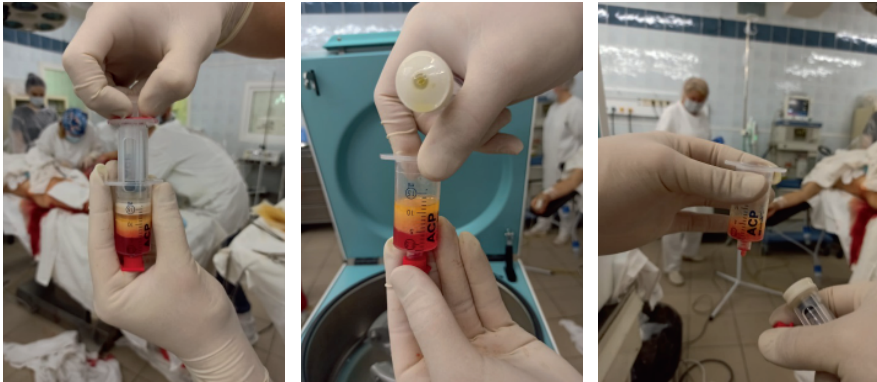


Рис. 20. Выделение средней фракции (адипоциты)

5. Механическая деструкция жировой ткани (средняя фракция) путем ее деструкции через коннектор или эмульсификатор до образования гомогенной суспензии (Рис. 21).



Рис. 21. Механическая деструкция жировой ткани

6. Объединение содержимого обоих шприцев в один с его повторным центрифугированием в течение 2 минут при 3 000 оборотах в минуту (Рис. 22).



Рис. 22. Суспензия жировой ткани

7. Извлечение нижней фракции, представленной клетками стромально-васкулярной фракции в отдельный шприц. Остатки разрушенных адипоцитов утилизируются (Рис. 23).



Рис. 23. Стромально-васкулярная фракция и обогащенная тромбоцитами плазма

8. Аппликация на раневую поверхность или инъекция в грануляционную ткань изготовленного клеточного продукта изолированно или после объединения его с плазмой крови пациента, полученную по методике, описанной в главе 6.

## 7. ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СВЕДЕНИЙ О СПОСОБАХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ КОЖНОГО ПОКРОВА У ОБОЖЖЕННЫХ В ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММАХ

Биотехнологии и регенеративная медицина относятся к наиболее перспективным направлениям современной медицины. В большинстве существующих программ по подготовке высших и средних медицинских кадров вопросы клеточной терапии освещаются недостаточно, а зачастую и не упоминаются. Это обстоятельство послужило основанием для формирования проекта учебного плана новой дополнительной профессиональной программы повышения квалификации «Биотехнологические методы восстановления кожного покрова в хирургии-комбустиологии» (Табл. 2).

**Таблица 2. Рекомендуемый учебный план  
дополнительной профессиональной программы повышения  
квалификации «Биотехнологические методы восстановления кожного  
покрова в хирургии-комбустиологии»**

Наименование темы	Содержание учебного материала	Трудоемкость, ак/ч	
		Теор. занятия	Практ. занятия
Тема 1. «Строение кожного покрова с позиции биотехнологических методов его восстановления»	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Эпидермис</li> <li>• Дерма</li> <li>• Гиподерма (подкожно-жировая клетчатка)</li> </ul>	2	
Тема 2. «Классификация ожоговых поражений»	<ul style="list-style-type: none"> <li>• По МКБ-10</li> <li>• По глубине поражения</li> </ul>	1	
Тема 3. «Клеточные продукты»	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Аутологичные или аллогенные кератиноциты</li> <li>• Аутологичные или аллогенные фибробласты</li> <li>• Аутологичные или аллогенные стволовые клетки</li> <li>• Обогащенная тромбоцитами плазма</li> <li>• Стромально-васкулярная фракция</li> </ul>	2	

Наименование темы	Содержание учебного материала	Трудоемкость, ак/ч	
		Теор. занятия	Практ. занятия
Тема 4. «Методики трансплантации клеточных продуктов»	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Изолированная трансплантация</li> <li>• Последовательная трансплантация</li> </ul>	2	
Практическое занятие 1. «Применения обогащенной тромбоцитами плазмы»	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Порядок выполнения PRP-терапии инъекционным способом</li> <li>• Порядок выполнения PRP-терапии аппликационным способом</li> </ul>		4
Практическое занятие 2. «Применение клеточной суспензии стромально-васкулярной фракции»	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Порядок выполнения SVF-терапии в условиях операционной</li> </ul>		4
Итоговая аттестация	Собеседование	1	
ИТОГО		8	8
ВСЕГО		16	

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ожоги кожи продолжают оставаться одной из наиболее значимых проблем системы здравоохранения. Несмотря на совершенствование методов консервативного и хирургического лечения обожженных, летальность среди данной группы пострадавших продолжает оставаться на высоком уровне и не имеет тенденции к снижению. Ни одно из доступных в настоящее время высокотехнологичных раневых покрытий не может полностью заменить естественный кожный покров, а аппликация аллогенной кожи, являющейся «золотым стандартом», в РФ ограничена. В свете данных событий клеточные технологии и регенеративная медицина в целом являются наиболее перспективным направлением развития комбустиологии. Разработка новых БМКП, совершенствование их носителей, а также модификация существующих методик трансплантации культур позволит приблизиться к полностью биотехнологическому восстановлению кожного покрова как альтернативе традиционной аутодермопластике. Имеющиеся технологии уже способны на это при ограниченных по площади глубоких поражениях. Активная методическая и практическая работа по внедрению биотехнологий в практическую деятельность лечебных учреждений различного ранга позволит значительно повысить эффективность оказания медицинской помощи пострадавшим от ожогов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Блинова М.И., Юдинцева Н.М., Александр-Синклер Э.И., Кухарева Л.В., Нашекина Ю.А., Плескач Н.М., Крылова Т.А., Зиновьев Е.В., Крылов К.М., Костяков Д.В., Вагнер Д.О., Крылов П.К., Солошенко В.В., Биниенко М.А., Давыденко В.В., Мельцова А.Ж., Хабарова И.Г., Лапин А.Ю. Эквивалент дермальный ЭД. – СПб., 2022. – 270 с.
2. Вагнер Д.О., Зиновьев Е.В., Крылов К.М., Крылов П.К., Солошенко В.В., Костяков Д.В., Юркевич Ю.В., Енукашвили Н.И., Блинова М.И., Александрова О.И., Михайлова Н.А. Опыт клинического применения аллогенных фибробластов у пострадавших с обширными ожогами кожи // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2018. Т. 10, № 3. – С. 65–72.
3. Дерий Э.К., Зиновьев Е.В., Костяков Д.В., Пятаков С.Н., Мануковский В.А. Эффективность применения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, и стромально-васкулярной клеточной фракции жировой ткани при аутодермопластике // Инновационная медицина Кубани. 2023. Т. 8, № 3. – С. 87–93.
4. Зиновьев Е.В., Костяков Д.В., Крылов П.К., Вагнер Д.О., Солошенко В.В. Биомедицинские клеточные продукты в комбустиологии // Клиническая патофизиология. 2020 Т. 26, № 3. – С. 56–60.
5. Зиновьев Е.В., Крайнюков П.Е., Асадулаев М.С., Костяков Д.В., Вагнер Д.О., Крылов П.К., Османов К.Ф. Клиническая оценка эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток при термических ожогах // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2018. Т. 13, № 4. – С. 62–67.
6. Костяков Д.В., Зиновьев Е.В., Арцимович И.В., Гостимский А.В., Заворотный О.О., Семиглазов А.В. Первый опыт применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток и аутоплазмы при аутодермопластике // Журнал «Неотложная хирургия» им. И.И. Джанелидзе. 2021. № S1. – С. 35–36.
7. Костяков Д.В., Зиновьев Е.В., Асадулаев М.С., Солошенко В.В. Результаты первого применения комбинированной последовательной трансплантации дермального эквивалента и культуры аллокератиноцитов // Всероссийская научная-практическая конференция с международным участием «Скорая медицинская помощь – 2020». 2021. – С. 40–41.
8. Постановление Правительства Российской Федерации № 384 от 28 марта 2024 г. «Об утверждении Правил обращения биомедицинских клеточных продуктов, предназначенных для исполнения индивидуального медицинского назначения биомедицинского клеточного продукта, специально произведенного для отдельного пациента непосредственно в медицинской организации, в которой применяется данный биомедицинский клеточный продукт». URL: <http://publication.pravo.gov.ru/document/0001202403290033>.
9. Расулов М.Ф. Использование мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и эмбриональных фибробластов в лечении ожоговых ран. Тихоокеанский медицинский журнал. 2004. № 1. – С. 7–9.
10. Федеральный закон Российской Федерации № 180-ФЗ от 23 июня 2016 г. «О биомедицинских клеточных продуктах». URL: <https://base.garant.ru/71427992/>.
11. Федеральный закон Российской Федерации № 466-ФЗ от 04 августа 2023 г. «О внесении изменений в статью 4 Федерального закона “Об обращении лекарственных средств” и Федеральный закон «О биомедицинских клеточных продуктах». URL: <https://base.garant.ru/407484125/>.



## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)

#### «Изолированная трансплантация клеточных культур аллогенных/ аутологичных кератиноцитов или фибробластов на ожоговую рану»

1. Назначение:

- стимуляция репаративной регенерации поверхностных, пограничных (дермальных) и донорских ран;
- ускорение подготовки ран к хирургическому лечению;
- повышение эффективности кожной пластики.

2. Ответственность:

2.1. Пользователи, ответственные за выполнение процедуры:

- медицинские сестры, отвечающие за подготовку к манипуляции на основании должностных инструкций;
- лечащий врач (хирург, травматолог).

2.2. Контроль исполнения процедуры:

- лечащий врач (хирург, травматолог);
- заведующий отделением.

2.3. Критерии оценки:

- соответствие СОП;
- отсутствие осложнений.

3. Область применения

3.1. *Операционные и перевязочные кабинеты хирургических/травматологических отделений стационаров.*

3.2. *Место трансплантации клеточных культур:*

- поверхностные ожоги;
- пограничные (дермальные) ожоги;
- донорская рана;
- гранулирующая рана;
- поверх или под расщепленные, перфорированные аутодермотрансплантаты.

3.3. *Возможные проблемы пациента:*

- отказ от манипуляции;
- отказ от подписания добровольного информированного согласия;
- индивидуальная непереносимость компонентов клеточного продукта;
- ухудшение состояния пациента;
- инфицирование ожоговой раны.

4. *Оборудование и материалы:*

- ёмкость с биомедицинским клеточным продуктом на основе фибробластов или кератиноцитов (чашка Петри диаметром 5 мм или 10 мм);

- стерильные перчатки;
- стерильный пинцет;
- стерильные ножницы;
- стерильный набор перевязочного материала (салфетки, марли);
- стерильные бинты (узкие, широкие);
- физиологический раствор NaCl 0,9 %;
- раствор фурацилина 0,02 %;
- раствор антисептика для обработки ожоговой раны («Хлоргексидина биглюконат», «Мирамистин»).

Этапы	Обоснование
Снятие повязок с ожоговой раны	Оценка состояния раневой поверхности, определение противопоказаний к трансплантации клеточных культур
Обработка раневой поверхности раствором антисептика, просушивание раны стерильной марлей	Элиминация/подавление активности раневой инфекции, удаление остатков раствора антисептика, способного оказывать цитотоксический эффект на апплицируемые клетки
Обильное промывание области трансплантации биомедицинского клеточного продукта физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %	Удаление с поверхности ожога остатков раневого детрита, растворов цитотоксических антисептиков
Смена стерильных перчаток	Работа с биомедицинским клеточным продуктом должна сопровождаться строгим соблюдением правил асептики
Вскрытие чашки Петри с биомедицинским клеточным продуктом и его мобилизация	Необходимо подготовить биомедицинский клеточный продукт для удобства его трансплантации на ожоговую рану
Трансплантация биомедицинского клеточного продукта: – непосредственно на ожоговую рану; – перенос клеточного продукта на однослойную стерильную марлю, пропитанную физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % с последующей ее аппликацией на раневую поверхность	Нанесение биомедицинского клеточного продукта на ожоговую рану с целью стимуляции ее регенерации. Клетки могут трансплантироваться на дефект кожного покрова сразу и потом фиксироваться на ней марлей, пропитанной физиологическим раствором/ фурацилином, а также в обратной последовательности. Последняя является более практичной при нанесении биомедицинского клеточного продукта на боковые поверхности циркулярных сегментов туловища (руки, ноги и т. д.), так как сразу предотвращает ее дислокацию

**СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)**

**«Последовательная трансплантация клеточных культур аллогенных/аутологических фибробластов и кератиноцитов на ожоговую рану»**

1. Назначение:
  - стимуляция репаративной регенерации поверхностных, пограничных (дермальных) и донорских ран;
  - восстановление ограниченных по площади (до 0,5 % п. т.) глубоких поражений кожного покрова;
  - повышение эффективности кожной пластики.
2. Ответственность:
  - 2.1. Пользователи, ответственные за выполнение процедуры:
    - медицинские сестры, отвечающие за подготовку к манипуляции на основании должностных инструкций;
    - лечащий врач (хирург, травматолог).
  - 2.2. Контроль исполнения процедуры:
    - лечащий врач (хирург, травматолог);
    - заведующий отделением.
  - 2.3. Критерии оценки:
    - соответствие СОП;
    - отсутствие осложнений.
3. Область применения
  - 3.1. *Операционные и перевязочные кабинеты хирургических/травматологических отделений стационаров.*
  - 3.2. *Место трансплантации клеточных культур:*
    - поверхностные ожоги;
    - пограничные (дермальные) ожоги;
    - донорская рана;
    - ограниченные по площади глубокие поражения (до 0,5 % п. т.)
  - 3.3. *Возможные проблемы пациента:*
    - отказ от манипуляции;
    - отказ от подписания добровольного информированного согласия;
    - индивидуальная непереносимость компонентов клеточного продукта;
    - ухудшение состояния пациента;
    - инфицирование ожоговой раны.

Этапы	Обоснование
Фиксация биомедицинского клеточного продукта дополнительным одним слоем марли, пропитанным физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %	Профилактика дислокации
Бинтование	Дополнительная фиксация клеточного продукта и его механическая защита
Орошение перевязочного материала (марля, бинты) в области трансплантации клеточных культур физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % каждые 3 часа в течение 1 суток	Создание условий влажной среды для повышения эффективности репаративной регенерации, профилактика дегидратации клеточной культуры

#### 4. Оборудование и материалы:

- емкость с биомедицинским клеточным продуктом на основе фибробластов или кератиноцитов (чашка Петри диаметром 5 мм или 10 мм);
- стерильные перчатки;
- стерильный пинцет;
- стерильные ножницы;
- стерильный набор перевязочного материала (салфетки, марли);
- стерильные бинты;
- физиологический раствор NaCl 0,9 %;
- раствор фурацилина 0,02 %;
- раствор антисептика для обработки ожоговой раны («Хлоргексидина биглюконат», «Мирамистин»).

Этапы	Обоснование
Снятие повязок с ожоговой раны	Оценка состояния раневой поверхности, определение противопоказаний к трансплантации клеточных культур
Обработка раневой поверхности раствором антисептика, просушивание раны стерильной марлей	Элиминация/подавление активности раневой инфекции, удаление остатков раствора антисептика, способного оказывать цитотоксический эффект на апплицируемые клетки
Обильное промывание области трансплантации биомедицинского клеточного продукта на основе фибробластов физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %	Удаление с поверхности ожога остатков раневого детрита, растворов цитотоксических антисептиков
Смена стерильных перчаток	Работа с биомедицинским клеточным продуктом должна сопровождаться строгим соблюдением правил асептики
Вскрытие чашки Петри с биомедицинским клеточным продуктом на основе фибробластов и его мобилизация	Необходимо подготовить биомедицинский клеточный продукт на основе фибробластов для удобства его трансплантации на ожоговую рану
Трансплантация биомедицинского клеточного продукта: – непосредственно на ожоговую рану; – перенос клеточного продукта на однослойную стерильную марлю, пропитанную физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %, с последующей ее аппликацией на раневую поверхность	Нанесение биомедицинского клеточного продукта на ожоговую рану с целью стимуляции ее регенерации. Клетки могут трансплантироваться на дефект кожного покрова сразу и потом фиксироваться на ней марлей, пропитанной физиологическим раствором/фурацилином, а также в обратной последовательности. Последняя является более практичной при нанесении биомедицинского клеточного продукта на боковые поверхности циркулярных сегментов туловища (руки, ноги и т. д.), так как сразу предотвращает ее дислокацию

Этапы	Обоснование
Фиксация биомедицинского клеточного продукта дополнительным одним слоем марли, пропитанным физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %	Профилактика дислокации
Бинтование	Дополнительная фиксация клеточного продукта и его механическая защита
Орошение перевязочного материала (марля, бинты) в области трансплантации клеточных культур физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % каждые 3 часа в течение 1 суток	Создание условий влажной среды для повышения эффективности репаративной регенерации, профилактика дегидратации клеточной культуры
Через двое суток осуществляют снятие повязок с области трансплантации биомедицинского клеточного продукта на основе фибробластов	Оценка состояния раневой поверхности, определение противопоказаний к трансплантации биомедицинского клеточного продукта на основе культуры кератиноцитов
Обработка раневой поверхности раствором антисептика, просушивание раны стерильной марлей	Подавление сохранившейся раневой инфекции, удаление остатков раствора антисептика, способного оказывать цитотоксический эффект на апплицируемые клетки
Обильное промывание области трансплантации биомедицинского клеточного продукта на основе кератиноцитов культуры физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %	Удаление с поверхности ожога остатков раневого детрита, растворов цитотоксических антисептиков
Смена стерильных перчаток	Работа с биомедицинским клеточным продуктом на основе кератиноцитов клеточной культурой должна сопровождаться строгим соблюдением правил асептики
Вскрытие чашки Петри с биомедицинским клеточным продуктом на основе кератиноцитов и его мобилизация	Необходимо подготовить биомедицинский клеточный продукт на основе кератиноцитов для удобства его трансплантации на ожоговую рану

**СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)  
«Изготовление обогащенной тромбоцитами плазмы крови»**

Этапы	Обоснование
Трансплантация биомедицинского клеточного продукта: – непосредственно на ожоговую рану; – перенос клеточного продукта на однослойную стерильную марлю, пропитанную физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилина 0,02 %, с последующей ее аппликацией на раневую поверхность	Нанесение биомедицинского клеточного продукта на основе кератиноцитов на ожоговую рану с целью стимуляции ее регенерации. Клетки могут трансплантироваться на дефект кожного покрова сразу и потом фиксироваться на ней марлей, пропитанной физиологическим раствором/фурацилином, а также в обратной последовательности. Последняя является более практичной при нанесении биомедицинского клеточного продукта на основе кератиноцитов на боковые поверхности циркулярных сегментов туловища (руки, ноги и т. д.), так как сразу предотвращает ее дислокацию
Фиксация биомедицинского клеточного продукта на основе кератиноцитов дополнительным одним слоем марли, пропитанным физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 %	Профилактика дислокации
Бинтование	Дополнительная фиксация биомедицинского клеточного продукта и его механическая защита
Орошение перевязочного материала (марля, бинты) в области трансплантации клеточных биомедицинского клеточного продукта на основе кератиноцитов физиологическим раствором NaCl 0,9 % или фурацилином 0,02 % каждые 3 часа в течение 1 суток	Создание условий влажной среды для повышения эффективности репаративной регенерации, профилактика дегидратации клеточной культуры

1. Назначение:
  - изготовление обогащенной тромбоцитами плазмы для ее последующего аппликационного/инъекционного применения у пациентов с ожогами кожи с целью стимуляции репаративной регенерации поверхностных, пограничных (дермальных), донорских ран или повышения эффективности кожной пластики.
2. Ответственность:
  - 2.1. Пользователи, ответственные за выполнение процедуры:
    - медицинские сестры, отвечающие за подготовку к манипуляции на основании должностных инструкций;
    - лечащий врач (хирург, травматолог).
  - 2.2. Контроль исполнения процедуры:
    - лечащий врач (хирург, травматолог);
    - заведующий отделением.
  - 2.3. Критерии оценки:
    - соответствие СОП;
    - отсутствие осложнений.
3. Область применения
  - 3.1. Операционные и перевязочные кабинеты хирургических/травматологических отделений стационаров.
  - 3.2. Место трансплантации клеточных культур:
    - поверхностные ожоги;
    - пограничные (дермальные) ожоги;
    - донорская рана;
    - гранулирующая рана.
  - 3.3. Возможные проблемы пациента:
    - отказ от манипуляции;
    - отказ от подписания добровольного информированного согласия;
    - гематома в области взятия венозной крови;
    - ухудшение состояния пациента;
    - инфицирование ожоговой раны.
4. Оборудование и материалы:
  - стерильные перчатки;
  - стерильный шприц (емкость 10 или 20 мл);
  - лабораторная центрифуга;
  - вакуумные или лабораторные пробирки с антикоагулянтом (например, цитрат натрия), заполненные цельной венозной кровью пациента.

Этапы	Обоснование
Открытие центрифуги, равномерное распределение нагрузки: • при наличии четного числа пробирок они устанавливаются друг напротив друга; • при их нечетном количестве в пустой контейнер напротив пробирки с цельной венозной кровью устанавливается равная ей по весу и объему емкость	Правильная подготовка оборудования является одним из основных факторов, определяющих результат манипуляции. Несоблюдение правил эксплуатации приведет к неадекватной сепарации цельной венозной крови и снижению срока службы центрифуги
Центрифугирование цельной венозной крови пациента в течение 10 минут при 2600 об/мин	Указанные параметры являются рациональными с точки зрения трудозатрат и обеспечивают полное разделение биологической жидкости на фракции
Бережное извлечение пробирки с фракционированной цельной венозной кровью пациента	Извлечение биологического материала не должно сопровождаться его ротацией и/или колебанием, так как это может привести к перемешиванию образованных фракций
Извлечение обогащенной тромбоцитами плазмы крови (верхняя фракция, прозрачная, соломенного цвета) в подготовленный стерильный шприц	При центрифугировании в пробирке с цельной венозной кровью пациента образуется две основные фракции: плазма (прозрачная, соломенного цвета, верхняя часть пробирки) и форменные элементы крови (красного цвета, нижняя часть пробирки)

**СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)  
«Изготовление клеточной суспензии стромально-васкулярной фракции»**

1. Назначение:

– изготовление клеточной суспензии стромально-васкулярной фракции для ее последующего аппликационного/инъекционного применения у пациентов с ожогами кожи с целью стимуляции репаративной регенерации поверхностных, пограничных (дермальных), донорских ран или повышения эффективности кожной пластики.

2. Ответственность:

*2.1. Пользователи, ответственные за выполнение процедуры:*

– медицинские сестры, отвечающие за подготовку к манипуляции на основании должностных инструкций;  
– лечащий врач (хирург, травматолог).

*2.2. Контроль исполнения процедуры:*

– лечащий врач (хирург, травматолог);  
– заведующий отделением.

*2.3. Критерии оценки:*

– соответствие СОП;  
– отсутствие осложнений.

3. Область применения

*3.1. Операционные и перевязочные кабинеты хирургических/травматологических отделений стационаров.*

*3.2. Место трансплантации клеточных культур:*

– поверхностные ожоги;  
– пограничные (дермальные) ожоги;  
– донорская рана;  
– гранулирующая рана.

*3.3. Возможные проблемы пациента:*

– отказ от манипуляции;  
– отказ от подписания добровольного информированного согласия;  
– местные осложнения (гематома, серома) в области липоаспирации;  
– развитие целлюлита;  
– ухудшение состояния пациента;  
– инфицирование ожоговой раны.

*4. Оборудование и материалы:*

– стерильные перчатки;

- стерильные шприцы с системой замка Luer-lock (емкость 20 мл);
- канюля для инфльтрации;
- канюля для липоаспирации;
- эмульсификатор или переходник для переноса жировой ткани;
- раствор для инфльтрации (физиологический раствор NaCl 0,9 % 500 мл с добавлением 0,1 мл эпинефрина);
- лабораторная центрифуга.

Этапы	Обоснование
Определение области липоаспирации	Для набора необходимого количества жировой ткани необходимо использовать зоны с наибольшим ее содержанием в отдалении от ожоговых ран. Они могут быть индивидуальными для каждого пациента, но в большинстве случаев липоаспирация осуществляется на передней или боковой поверхности туловища
Обработка операционного поля	Очищение кожных покровов от естественных продуктов жизнедеятельности организма (пот, кожное сало) и элиминация микроорганизмов
Разрез шириной 2–3 см	Разрез для проведения процедуры липоаспирации должен обеспечивать свободный ход канюли в тканях и не быть чрезмерно травматичным
Инфльтрация подкожн-жировой клетчатки	С помощью инфльтрационной канюли, к которой через замок Luer-lock присоединен шприц, заполненный подготовленным раствором, осуществляют гидропрепаровку тканей. Движения инструмента в подкожно-жировом слое должны быть направлены вверх от брюшной полости и контролироваться свободной рукой, которая формирует складку кожи
Липоаспирация	С помощью липоаспирационной канюли, к которой через замок Luer-lock присоединен пустой шприц, выполняют разрушение и забор жировой ткани. Движения инструмента в подкожно-жировом слое должны быть направлены вверх от брюшной полости и контролироваться свободной рукой, которая формирует складку кожи
Оценка объема липоаспирата	В случае заполнения двух шприцев объемом 20 мл жировой тканью пациента процедуру прекращают. В случае необходимости липоаспирацию можно выполнить на противоположной стороне или другом участке туловища

Этапы	Обоснование
Ушивание линии разреза	После проведения процедуры липоаспирации линии разреза ушиваются несколькими узловыми швами с целью получения наилучшего эстетического результата рубцевания
Открытие центрифуги, установка пробирок в контейнеры напротив друг друга	Правильная подготовка оборудования является одним из основных факторов, определяющих результат манипуляции. Несоблюдение правил эксплуатации приведет к неадекватной сепарации содержимого и снижению срока службы центрифуги
Центрифугирование липоаспирата в течение 4 минут при 2500 об/мин	Первый этап центрифугирования осуществляется с целью разделения в шприце остатков инфльтрационного раствора и жировой ткани пациента. В результате визуально отмечается образование трех фракций: верхняя (разрушенные адипоциты), средняя (интактные адипоциты), нижняя (физиологический раствор с адреналином)
Утилизация остатков инфльтрационного раствора и разрушенных адипоцитов в обоих шприцах	Удаление остатков инфльтрационного раствора и разрушенных адипоцитов из шприцев, так как они не имеют практического значения для последующего изготовления клеточной суспензии
Механическая деструкция жировой ткани через эмульсификатор или коннект для шприцев	Интактная жировая ткань разрушается с целью получения гомогенной смеси клеток из которой выделяется стромально-васкулярная фракция. Во время данной процедуры необходимо выполнить не менее 30 перемещений липоаспирата
Открытие центрифуги, установка пробирки в контейнер напротив которого фиксируется равная ей по весу и объему емкость или специальный груз	Соблюдение техники эксплуатации оборудования. В современных устройствах центрифугирование не начнется, пока не будет равномерно распределена нагрузка на контейнеры
Центрифугирование жировой эмульсии в течение 2 минут при 3000 об/мин	Данные параметры являются оптимальными с точки зрения объема и жизнеспособности получаемых живых клеток из жировой эмульсии. В результате в шприце образуется две фракции: верхняя (жировая эмульсия) и нижняя, объемом около 1,5 мл (клеточная суспензия стромально-васкулярной фракции)
Извлечение клеточной суспензии стромально-васкулярной фракции	Изготовленная клеточная суспензия переносится в другой шприц для последующего ее применения



**Биотехнологические методы восстановления  
кожного покрова при ожогах**

*Учебно-методическое пособие для врачей*

Технический редактор: В.Н. Васильева  
Корректор: О.С. Говорухина  
Оператор: Н.С. Орлов

Подписано в печать 12.11.2024  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная. Гарнитура Times.  
Уч.-изд. л. 2,08. Усл.-печ. л. 2,53. Заказ № 3333.7. Тираж 100.

Отпечатано в типографии ООО «Принт».  
426035, г. Ижевск, ул. Тимирязева, 5.