



(51) МПК
A61K 35/28 (2015.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61M 5/00 (2006.01)
A61N 5/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 35/28 (2023.08); A61P 17/02 (2023.08); A61M 5/00 (2023.08); A61N 5/00 (2023.08)

(21)(22) Заявка: 2023110944, 26.04.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.04.2023

Дата регистрации:
15.01.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.04.2023

(45) Опубликовано: 15.01.2024 Бюл. № 2

Адрес для переписки:

634021, г. Томск, а/я 1769, Зубаревой Н.Г.

(72) Автор(ы):

Самойлова Анна Викторовна (RU),
 Гостюхина Алена Анатольевна (RU),
 Большаков Михаил Алексеевич (RU),
 Ростов Владислав Владимирович (RU),
 Кутенков Олег Петрович (RU),
 Зайцев Константин Васильевич (RU),
 Ярцев Вадим Вадимович (RU),
 Евсева София Сергеевна (RU),
 Мочалова Валентина Михайловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
 учреждение науки Институт сильноточной
 электроники Сибирского отделения
 Российской академии наук (ИСЭ СО РАН)
 (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: RU 2687007 C2, 06.05.2019. RU
 2176911 C2, 20.12.2001. RU 2679449 C1,
 11.02.2019. RU 2574017 C1, 27.01.2016. RU
 2419441 C2, 27.05.2011. WO 2009121503 A2,
 08.10.2009. US 6541024 B1, 01.04.2003. А.В.
 Самойлова и др. Эффект стимуляции
 заживления ожоговых ран у крыс
 наносекундными микроволновыми
 импульсами. Современные вопросы
 биомедицины. 2022, Т. 6 (см. прод.)

(54) Способ стимуляции заживления ожоговых травм в эксперименте

(57) Реферат:

Изобретение относится к экспериментальной
 медицине, конкретно к способам стимуляции
 заживления ожоговых травм в эксперименте.
 Проводят локальное воздействие
 наносекундными микроволновыми импульсами
 однократно на область ожога 4000 импульсов за
 1 сеанс облучения / день с пиковой плотностью
 потока мощности 140 Вт/см^2 с частотой
 повторения импульсов 8 Гц локально в течение
 4-х дней. Дополнительно перед первым

воздействием подкожно вводят однократно
 суспензию мезенхимальных стволовых клеток
 (МСК) в общем количестве 1×10^6 в две точки
 раневой поверхности на 6 и 12 часах. Изобретение
 обеспечивает ускорение процесса заживления ран
 за счет образования грануляционной ткани и
 уменьшения толщины струпа в более короткие
 сроки для обеспечения безрубцового заживления.
 3 ил.

(56) (продолжение):

(1), с. 62-68. Зиновьев Е.В., Юдин В.Е., Асадулаев М.С., др. Опыт применения стволовых клеток при лечении ожогов кожи // Педиатр. 2018. Т. 9. N 4. С. 12-27. Подойницына М.Г., Цепелев В.Л., Степанов А.В.

ПРИМЕНЕНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВ КОЖИ // Современные проблемы науки и образования. 2015. N 5. Strauch B. Evidence-based use of pulsed electrofield therapy in clinical plastic surgery / B. Strauch, C. Herman, R. Dabb, L.J. Ignarro, A.A. Pilla // Aesthet. Surg. J. 2009.N 29 (2). P. 135-143.

R U 2 8 1 1 6 6 2 C 1

R U 2 8 1 1 6 6 2 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 35/28 (2015.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61M 5/00 (2006.01)
A61N 5/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 35/28 (2023.08); A61P 17/02 (2023.08); A61M 5/00 (2023.08); A61N 5/00 (2023.08)

(21)(22) Application: **2023110944, 26.04.2023**

(24) Effective date for property rights:
26.04.2023

Registration date:
15.01.2024

Priority:

(22) Date of filing: **26.04.2023**

(45) Date of publication: **15.01.2024** Bull. № 2

Mail address:

634021, g. Tomsk, a/ya 1769, Zubarevoj N.G.

(72) Inventor(s):

**Samojlova Anna Viktorovna (RU),
Gostyukhina Alena Anatolevna (RU),
Bolshakov Mikhail Alekseevich (RU),
Rostov Vladislav Vladimirovich (RU),
Kutenkov Oleg Petrovich (RU),
Zajtsev Konstantin Vasilevich (RU),
Yartsev Vadim Vadimovich (RU),
Evseeva Sofiya Sergeevna (RU),
Mochalova Valentina Mikhajlovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Institut silnotochnoj
elektroniki Sibirskogo otdeleniya Rossijskoj
akademii nauk (ISE SO RAN) (RU)**

(54) **METHOD FOR STIMULATING HEALING OF BURN INJURIES IN EXPERIMENT**

(57) Abstract:

FIELD: experimental medicine.

SUBSTANCE: methods for stimulating healing of burn injuries in an experiment. Local exposure to nanosecond microwave pulses is carried out once on the burn area, 4,000 pulses per 1 irradiation session/day with a peak power flux density of 140 W/cm² with a pulse repetition rate of 8 Hz locally for 4 days. Additionally, before the first exposure, a single

suspension of mesenchymal stem cells (MSCs) is injected subcutaneously in a total amount of 1×10⁶ at two points on the wound surface at 6 and 12 o'clock.

EFFECT: accelerated wound healing process due to formation of granulation tissue and reducing the thickness of the scab in a shorter time to ensure scar-free healing.

1 cl, 3 dwg

C 1
2 8 1 1 6 6 2
R U

R U
2 8 1 1 6 6 2
C 1

Изобретение относится к экспериментальной медицине, конкретно к способам стимуляции заживления ожоговых травм в эксперименте.

Термические поражения кожи различной степени тяжести являются одним из широко распространенных видов травм в структуре бытового и производственного травматизма и представляют не только медицинскую, но и социально-экономическую проблему [1]. Поиск эффективных способов, ускоряющих заживление ожоговых травм на сегодняшний день, является актуальной проблемой медицины, биоинженерии и физиотерапии. Это связано с резким ухудшением социально-экономической обстановки и ростом числа пострадавших с ожоговыми ранами, а также с огнестрельными ранениями, которые зачастую сочетают в себе пулевое ранение и обширный ожог.

Среди множества известных способов лечения и коррекции ожоговых ран в современном медицинском сообществе наиболее распространены фармакологические, терапевтические и хирургические подходы. Они включают в себя применение растворов, электролитов, средств коррекции кислотного равновесия, питательных сред; средств, влияющих на центральную нервную систему; анальгетиков; антипсихотических средств; миорелаксантов; ненаркотических анальгетиков и нестероидных

противовоспалительных средств, наружных средств (мазей, кремов), пластырей, покрывающих ожоговую поверхность для регенерации тканей и приостановления образования струпа; аутодермопластики (аутотрансплантации) и прочих хирургических манипуляций. В последнее время для восстановления кожных покровов активно внедряются тканеинженерные заменители кожи с использованием клеточных продуктов и физических факторов. Местное лечение ожоговой раны различными комбинациями вышеуказанных методов является важнейшим компонентом в комплексном и быстром заживлении кожных ран различной этиологии.

К основным консервативным методам лечения ожогов относятся: оказание первой медицинской помощи (наложение асептической повязки, предупреждающей дальнейшее инфицирование); первичная хирургическая обработка; на амбулаторном этапе применяется закрытый, или повязочный метод. Повязка предупреждает вторичное инфицирование, создает микроклимат в окружении раны и уменьшает боль, удерживает на ране лекарственные препараты, незаменима при транспортировке пострадавших. Недостатками закрытого метода являются трудоемкость процесса, большой расход перевязочного материала и лекарственных препаратов, болевой эффект. Открытый (бесповязочный) метод лишен таковых и поэтому привлекает внимание специалистов. Однако он требует создания антибактериальной среды вокруг раны или больного с использованием специального оборудования и оснащения для постоянной поддержки этих условий. При глубоких ожогах открытый метод лечения не применяется.

Препараты для местного лечения ожогов имеют антибактериальную направленность и должны отвечать следующим требованиям: широкий спектр антибактериального действия; эффективная концентрация; медленное развитие устойчивости микроорганизмов в процессе лечения; отсутствие инактивации тканевыми субстратами; быстрая абсорбция и экскреция; отсутствие местного токсического и резорбтивного действия; хорошая растворимость в воде и раневом экссудате. Примерами являются растворы 0,02% фурацилина, борной кислоты 3%, 0,02-0,05% хлоргексидина биглюконата, водные растворы йода с детергентами 0,5-1% (йодискин, йодиол) и др.; гидрофильные мази и кремы, кремы на основе 1% сульфадиазина серебра и 2% сульфатиазола серебра и др. Антибактериальные мази на жировой основе утратили свою актуальность из-за низкого эффекта и плохих дренажных свойств повязок (линимент по Вишневскому, фурацилиновая мазь и др.). К недостаткам предлагаемых

средств относятся быстрое развитие резистентности организма к препаратам, нарушение микрофлоры, аллергические реакции. В качестве препаратов, обладающих противовоспалительным, подсушивающим, адсорбирующим, вяжущим и антисептическим действием в лечении глубоких ожогов применяются соединения цинка (в виде присыпок, мазей, паст, линиментов). В последнее время для заживления ожогов II-III степени используются мази или гели растительного и животного происхождения на основе водного экстракта из пантов [2], пихты сибирской, водного экстракта пшеницы и облепихи и др. Однако большинство препаратов не универсальны, а эффект далек от оптимального. Известно, что при использовании нескольких мазей/кремов может возникать ингибирующий эффект и образование токсических продуктов.

Известные тактики хирургического лечения термических ожогов включают в себя полное иссечение некротизированных тканей с последующим ранним закрытием кожного дефекта аутологичным кожным лоскутом или другими материалами. Кожная рана может быть временно закрыта алло- или ксенографтом, которые, как правило, отторгаются в течение одной недели. Алло- и ксенографты служат барьером между кожной раной и внешней средой, предохраняя рану от механических воздействий, снижая болевые ощущения, препятствуя инфицированию, а также потере тепла, жидкости и белка с ее поверхности [3]. Кроме того, аллографты, предположительно, выделяют ростовые факторы, положительно влияющие на течение раневого процесса [4]. В настоящее время применяется широкий спектр бесклеточных аналогов дермы, созданных искусственно, и полученных из алло или ксенодермы [5]. Аутологичный кожный лоскут является наилучшим материалом для закрытия кожной раны, однако доступность донорской кожи, например, при обширных поражениях может быть значительно ограничена.

Одним из современных активно используемых методов в лечении ожогов разной глубины и степени является использование аутологичных клеточных продуктов, например, культивированного эпителиального аутографта, основанного на методике культивирования эпидермальных кератиноцитов. Продукт имеет несколько слоев эпидермиса, что делает его хрупким и сложным в использовании [6], обладает высокой склонностью к инфицированию [7]. Результаты клинического использования данного препарата также оказались скорее разочаровывающими [8], что, в сочетании с высокой стоимостью и длительным временем, необходимым для его процессинга, ограничивает область применения препарата временным закрытием кожного дефекта у больных с обширными ожогами [9].

Известен способ лечения раны, включающий хирургическую обработку и покрытие раны культурой клеток фибробластов человека [10]. После приживления фибробластов проводят аутодермопластику с использованием культуры эпидермоцитов.

Недостатками рассмотренных способов лечения ожоговых ран на основе применения культивированных клеток являются длительные сроки изготовления трансплантата, слабый лечебный эффект из-за медленного заживления при трансплантации.

Одним из направлений лечения кожных ран с использованием свежесделанных клеточных продуктов является применение технологии «ReCell». Данная технология подразумевает ферментативную обработку аутологичного биоптата кожи с получением кератиноцитов, меланоцитов, фибробластов и клеток Лангерганса. Метод используется преимущественно для лечения неглубоких ожогов [11]. В сочетании с дермальными эквивалентами «ReCell» может применяться и при более глубоких поражениях кожи [9]. Данная технология зарегистрирована для медицинского применения на территории Российской Федерации, проведена ее клиническая апробация в ряде ожоговых центров

страны. По опыту отечественных врачей среди недостатков «ReCell» следует выделить высокую стоимость, увеличение времени нахождения пациента под наркозом и небольшие по площади и глубине ожоговые поражения, на которых данная технология эффективна.

5 В плане сочетания нескольких факторов для лечения и коррекции ран имеются данные о способах, предполагающих использование аллогенных фибробластов, как в качестве самостоятельного средства, так и в сочетании с аутодермопластикой [12; 13]. Основным преимуществом указанной технологии является возможность ее раннего использования (практически с первых дней травмы), возможность создания банков охарактеризованных
10 клеток, невысокая стоимость при высокой эффективности. Основным недостатком методов, основанных на применении культур фибробластов, является ограниченная область применения из-за невозможность их эффективного самостоятельного применения при глубоких и обширных поражениях (только совместно с аутологичными трансплантатами или эпидермальными пластами).

15 Известен способ с применением дермального эквивалента на основе коллагена, нанесенного на полилактидную матрицу, и аллогенных фибробластов, который успешно апробирован при лечении трофических язв и ожоговых ран [14].

Однако эпидермальные эквиваленты характеризуются рядом существенных недостатков: длительным временем процессинга клеточной составляющей (не менее
20 трех недель), высокой себестоимостью и особо тщательной подготовкой раневого ложа (что делает их достаточно неудобными в практическом применении). Кроме того, данные клеточные продукты успешно используются только при сохраненном дермальном слое или при сочетанном применении с дермальными эквивалентами [15].

Описанные клеточные продукты, несмотря на такое достоинство как значительное
25 уменьшение числа перевязок при их использовании, не могут рассматриваться как замена аутологичному кожному лоскуту, их применение при глубоких ожогах целесообразно только в качестве средства для временного укрытия раны. Кроме того, практически все «живые эквиваленты» кожи отличает высокая стоимость, что делает данные продукты малодоступными для широкого применения.

30 Известен способ, включающий раннюю хирургическую некрэктомию и одномоментную кожную пластику с пересадкой трансплантата. При этом вводят аллогенные адипогенные мезенхимальные стволовые клетки по периметру ожоговой раны и субфасциально под пересаженный трансплантат. В частном случае дополнительно проводят внутримышечное введение аллогенных адипогенных
35 мезенхимальных стволовых клеток [16].

Известен м способ лечения длительно незаживающей раны и/или раневой полости с многократным нанесением на поверхность раны пациента композиции, включающей культуральную питательную среду, кондиционированную продуктами жизнедеятельности и ростовыми факторами мезенхимальных стволовых клеток человека
40 [17].

К недостаткам вышеописанных способов можно отнести высокую длительность процедур, наличие хирургического вмешательства с риском развития инфекционного процесса, низкую приживаемость трансплантата, методы использования стволовых клеток и их продуктов жизнедеятельности.

45 Для восстановления различных кожных ран на сегодняшний день внедряются и применяются физические методы: УФ-облучение, ультразвук в непрерывном режиме, низкоинтенсивная лазерная терапия, фототерапия, магнито-лазерная терапия, криотерапия, КВЧ-терапия, ИФ-терапия и другие [18; 19; 20].

Использование при лечении ожоговых ран света от источника ультрафиолетового излучения обеспечивает бактерицидный эффект, вызывает стимуляцию репаративных процессов и ускорение эпителизации, что, по мнению авторов, приводит к уменьшению сроков госпитализации [21].

5 Метод фотодинамической терапии, используемый для лечения ран различного генеза с различными фотосенсибилизаторами, иммобилизованными на амфифильных полимерах, способствует нормализации микроциркуляторных нарушений, активации пролиферации клеточных элементов макрофагального и фибробластического ряда, ангио- и коллагеногенеза, сокращению сроков отторжения первичного ожогового
10 струпа и ускорению созревания грануляционной ткани [22].

Известно, что светодиодное излучение синего цвета с длиной волны 470 нм обладает анальгетическим и антибактериальным эффектом, улучшает капиллярный кровоток, стимулирует пролиферацию эпителия и соединительной ткани, повышает интенсивность тканевого и местного иммунитета, тем самым происходит более быстрое заживление
15 ожоговой раны и сокращение сроков лечения [23]. Лечение ран мягких тканей красным некогерентным монохроматизированным светом (600-680 нм) позволяет сократить сроки госпитализации, эффективно подходит для лечения длительно незаживающих и ожоговых ран, трофических язв. Указанная методика проста и доступна в клинических условиях, однако, представляет значительные неудобства при светолечении ран большой
20 площади, так как одномоментно облучает небольшую поверхность.

Проведены клинические исследования поляризованного полихроматического некогерентного света в диапазоне 480-3400 нм в консервативном лечении глубоких ожогов кожи [24]. В России к этому методу относят светотерапию аппаратом «Биоптрон». После воздействия поляризованным полихроматическим светом на
25 ожоговую рану отмечается уменьшение болевого синдрома и отека, усиление пролиферации клеток (фибробластов), высвобождение факторов роста и усиление синтеза коллагена, активный рост краевого и росткового эпителия. Отмечается, что терапия поляризованным светом снижает потребность в хирургических операциях при лечении глубоких ожогов кожи [24; 25]. В условиях эксперимента установлено, что
30 локальное применение фоторегуляторного воздействия с использованием монохроматического поляризованного светодиодного излучения с длиной волны 0,63 мкм и плотностью энергии 10 Дж/см² и мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани приводит к ускорению смены фаз раневого процесса и к достоверному
35 сокращению сроков эпителизации раневых дефектов [26]. Применение инфракрасных лучей способствует умеренному прогреванию ткани, вызывает мумификацию ожогового струпа при глубоких ожогах, что позволяет в более ранние сроки провести его удаление и подготовить ожоговую рану к аутодермопластике [18].

Известно, что низкочастотное ультразвуковое воздействие усиливает действие многих антибиотиков, антисептиков, ферментов и других лекарственных веществ, снижает
40 антибиотикорезистентность возбудителей раневой инфекции, а также позволяет доставлять антисептик или лекарственный препарат непосредственно к патологическому очагу и создавать в нем максимальную подавляющую концентрацию [1]. Одновременно с этим, УЗ-волны ускоряют синтез коллагена фибробластами и образование
45 грануляционной ткани в пролиферативной стадии воспаления [27].

В плане комбинации нескольких факторов имеются данные об использовании ультразвуковой обработки ожоговой раны озонированным физиологическим раствором с применением ультразвукового аппарата «Sonaca». Этот метод обработки позволяет обеспечить интенсивное удаление гнойного отделяемого, участков отторгающегося

струпа и налета фибрина; при поверхностных ожогах отмечается активная эпителизация, а при глубоких ожогах сокращаются сроки подготовки гранулирующих ран к аутодермопластике, тем самым позволяя сократить сроки пребывания в стационаре [28]. Известен способ лечения локальной ожоговой травмы III степени, включающий наложение повязки, проведение магнитотерапии и лазеротерапии. При этом перед наложением повязки в течение 6 минут проводят лазерное облучение поверхности раны с помощью аппарата «УЛФ-01» (длина волны 0,63 мкм, на курс 7 сеансов), после наложения раневого покрытия в течение 20 минут осуществляют воздействие на область ожога. Воздействуют магнитным полем индукцией 100% от аппарата «Алимп-1» (частота воздействия 20 Гц, курс 10 сеансов) [29].

Магнитотерапия в лечении ожоговых ран используется как самостоятельно, так и в комплексе с другими видами физического воздействия. Под влиянием магнитного поля уменьшается выраженность отека тканей (лимфодренирующий эффект), значительно уменьшается болевой синдром, снижается количество гнойного отделяемого в ранах, быстрее происходит созревание грануляций, улучшается эпителизация [30]. Отмечается уменьшение сроков подготовки ран к аутодермопластике, снижение частоты отторжения трансплантатов [31]. Магнито-лазерная терапия в инфракрасном диапазоне оптического спектра усиливает микроциркуляцию в ожоговой ране, снижает отек, повышает показатели общего и местного гомеостаза [24].

Известно о применении в клинической медицине сочетанного воздействия постоянного магнитного поля, инфракрасного облучения и импульсного квазикогерентного лазерного излучения (МИЛ-терапия). Для лечения больных по этой методике используют аппарат «МИЛТА», что способствует более быстрому очищению ожоговых ран и позволяет выполнить аутодермопластику в более ранние сроки [32; 33; 34].

Известен способ воздействия электромагнитными волнами крайне высоких частот в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, ожоговых ран, пародонтита и др., а также для предупреждения стрессорных воздействий с помощью аппарата, содержащего излучающую антенну и генератор, работающий на частоте $129 \pm 0,75$ ГГц из второго диапазона резонансного молекулярного спектра поглощения атмосферного кислорода [35].

Известен способ терапевтического воздействия на биологические объекты СВЧ-излучением на участок кожного покрова на частоте 980-1030 МГц плотностью мощности 0,02-0,4 мкВт/см² обеспечивает повышение эффективности терапевтического СВЧ-воздействия вследствие нормализации изменений микроциркуляции, ускорения репарационных процессов в тканях, противовоспалительного и иммуномодулирующего действия [36].

Известен метод терагерцовой терапии ожоговых ран воздействием эндогенного и экзогенного NO, возбуждаемого электромагнитным излучением на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота, позволяет сокращать нагноения и углубления пограничных ожогов, сроки эпителизации пограничных ожогов, сроки подготовки ран к аутодермопластике [2; 37]. Известно, что сочетание мезенхимальных стволовых клеток и электромагнитного низкоинтенсивного воздействия может способствовать улучшению терапевтического действия МСК при ожогах [38].

Указанные методы воздействия физическим фактором кроме стимуляции ранозаживления, могут стимулировать ускорение эпителизации и рубцевания ран, обеспечивать противовоспалительные и бактерицидные эффекты, оказывать анальгезирующее и противоотечное действие. В качестве недостатков имеющихся

методов выступают высокая энергетическая нагрузка на организм (в результате длительного воздействия), в некоторых случаях инвазивность, высокая длительность экспозиции, следовательно, развитие побочных эффектов, наличие болезненных процедур, длительная госпитализация и дорогостоящая реабилитация, что может привести к психологическим и эмоциональным расстройствам с продолжительной нетрудоспособностью человека. Ультрафиолетовое и лазерное излучения несут в себе риск инактивации любых клеток.

Таким образом, на сегодняшний день перспективным является появление новых способов лечения и коррекции травм с использованием электромагнитного воздействия, которые позволят эффективно и качественно ускорять заживление ран и при этом не оказывать неблагоприятного влияния на организм.

Наиболее близким к предлагаемому является способ стимуляции заживления ожоговых ран путем воздействия на область поражения наносекундными микроволновыми импульсами с помощью оригинального устройства. Способ обладает высокой биологической эффективностью [39; 40; 41; 42; 43], обеспечивает неинвазивное, кратковременное воздействие (в пределах 10 минут за один сеанс), без повышения температуры в облучаемом объекте (не более $0,03^{\circ}$ [41]), имеет фиксированные режимы работы (длительность и количество импульсов, мощность импульса, частота повторения импульсов) для возможности индивидуального применения. Имеющийся диапазон режимов генератора позволяет подобрать оптимальные биотропные параметры для необходимых целей биомедицины и физиотерапии. Однако, применение только наносекундных микроволновых импульсов для восстановления кожных покровов является недостаточно эффективным, поскольку сроки полной эпителизации увеличиваются.

Новая техническая задача - расширение арсенала способов стимуляции заживления ожоговых ран.

Новый технический результат - ускорение процесса заживления ран за счет образования грануляционной ткани и уменьшения толщины струпа в короткие сроки, для обеспечения безрубцового заживления.

Для достижения нового технического результата в способе стимуляции заживления ожоговых травм в эксперименте, включающем локальное воздействие наносекундными микроволновыми импульсами на область ожога 4000 импульсов за сеанс/день с пиковой плотностью потока мощности 140 Вт/см^2 с частотой повторения импульсов 8 Гц в течение 4-х дней, дополнительно перед воздействием вводят подкожно мезенхимальные стволовые клетки (МСК) в количестве $1-1.5 \times 10^6$ в две точки раневой поверхности на 6 и 12 часов.

Способ осуществляют следующим образом.

На область ожоговой раны локально воздействуют наносекундными микроволновыми импульсами, 4000 импульсов за сеанс/день с пиковой плотностью потока мощности 140 Вт/см^2 с частотой повторения импульсов 8 Гц однократно в течение 4-х дней, а перед воздействием вводят подкожно мезенхимальные стволовые клетки (МСК) в количестве $1-1.5 \times 10^6$ в две точки раневой поверхности: на 6 и 12 часов.

Одним из направлений в разработке клеточных технологий для лечения кожных ран в настоящее время является использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. Основным источником получения МСК для клеточной терапии служат собственные ткани взрослого человека. Перечень тканей, содержащих МСК, постоянно расширяется и в настоящее время включает: костный мозг, периферическую

и пуповинную кровь [44], головной мозг (зубчатое ядро гиппокампа, обонятельная луковица и субэпиндимальная зона латеральных желудочков) и спинной мозг [45], дентальную пульпу, кровеносные сосуды [46], скелетные мышцы (сателлитные клетки) [47], эпителий кожи, пищеварительного тракта, роговицу, ретину, печень, жировую ткань, поджелудочную железу [48] и эндометрий [49]. Одним из важнейших преимуществ МСК является их малая иммуногенность, что позволяет использовать аллогенные МСК без риска развития реакций отторжения [50]. Установлена способность МСК синтезировать коллаген, ростовые и ангиогенные факторы, в ряде исследований продемонстрирована способность данных клеток ускорять заживление кожных ран различной этиологии [51]. МСК представляют собой перспективный клеточный материал для использования в препаратах, предназначенных для лечения кожных ран, и, вне всякого сомнения, заслуживают дальнейшего изучения.

В качестве основных экспериментальных объектов при разработке новых биомедицинских технологий выбирают мышей, кроликов, свиней или крыс, при этом каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Для изучения процессов регенерации термических травм и их последствий удобным модельным объектом представляются лабораторные крысы, геном которых на 90% имеет сходство с геномом человека [52]. По этой причине возможные механизмы стимулирующего влияния на процессы заживления, выявленные на лабораторных крысах, возможно экстраполировать на процессы регенерации ожогов кожи у человека. Известен способ экспериментального моделирования термических ожогов у лабораторных крыс на дорсальной поверхности тела в межлопаточной области путем прикладывания без усилия на 30 с разогретого до 100°C металлического стержня [29; 53].

Предлагаемый способ основан на анализе данных экспериментальных исследований. На 40 половозрелых крысах-самках породы "Wistar" массой 230-250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном рационе со свободным доступом к воде и пище проводилось моделирование термического ожога. Все процедуры с животными выполнены в соответствии с международными правилами и нормами обращения с лабораторными животными [54]. Крысы случайно распределены на 4 группы (n=10): 1) группа №1 - животные, которых после моделирования термического ожога содержали в стандартных условиях вивария и не подвергали никаким воздействиям, термическая рана заживала самостоятельно; 2) группа №2 - крысы, которым после моделирования термического ожога в область раны вводили МСК; 3) группа №3 - крысы, которых после моделирования термического ожога подвергали однократному в течение 4-х дней локальному воздействию наносекундными микроволновыми импульсами (пППМ 140 Вт/см², частота повторения импульсов 8 Гц); 4) группа №4 - животные, которым после моделирования термического ожога в область раны вводили МСК и далее подвергали локальному в течение 4-х дней воздействию наносекундными микроволновыми импульсами (пППМ 140 Вт/см², частота повторения импульсов 8 Гц).

Выделенные из костного мозга крыс (сиблинки) моноклеарные клетки культивировались в атмосфере 5% углекислого газа при температуре 37°C и 100% влажности. В процессе культивирования на дне флакона формировались колонии адгезированных моноклеарных клеток костного мозга. Смену культуральной среды проводили каждые 3-е суток для элиминации не прикрепившихся клеток. В результате на 6-7-е сутки образовывалось до 60-70% монослоя, а на 12-14-е сутки культивирования окончательно формировался монослой клеток (95-100%). После завершения культивирования питательная среда сливалась. Адгезированные клетки монослоя

снимались с поверхности культуральных флаконов и проводилась инкубация в течение 7-10 мин при 37°C в присутствии 5-7 мл 0,25% раствора трипсина («ПанЭко», РФ). Полученная клеточная суспензия отмывалась чистой питательной средой, после чего оценивалась жизнеспособность клеток и подсчитывалась клеточность культуры.

5 Просмотр клеток проводился на микроскопе Optika XDS-2SFL (Италия) при 20-кратном увеличении. Жизнеспособность МСК после культивирования составляла $91,5 \pm 2\%$. На 12-14-е сутки с жизнеспособностью $91,5 \pm 2,3\%$ получено 20 культур клеток.

Термическую рану у крыс создавали путем прикладывания к поверхности кожи в межлопаточной области без усилия на 30 с разогретого до 100°C металлического
10 стержня диаметром 2 см, массой 20 г. Через 4 ч после моделирования ожогов осуществляли введение подкожно в рану с помощью инсулинового шприца МСК в количестве $1-1.5 \times 10^6$ в две точки (на 6 и 12 ч).

Область ожога у крыс опытной группы в течение четырех последующих дней подвергали однократному воздействию наносекундным импульсным микроволновым
15 излучением с пиковой плотностью потока мощности 140 Вт/см^2 при частоте повторения импульсов 8 Гц. Во время облучения животных в специальных пластиковых контейнерах помещали на расстоянии 20 см от рупора антенны генератора, в зоне сформировавшейся волны излучения. Для локального воздействия на термическую рану остальную часть
20 тела крыс укрывали радиопоглощающей тканью. В качестве источника наносекундных микроволновых импульсов использовали лабораторный импульсный генератор на основе магнетрона МИ-505 (изделие серийного производства ОАО «Тантал», Россия). Несущая частота генератора составляла 10 ГГц, выходная пиковая мощность 180 кВт, длительность импульсов на половинном уровне мощности 100 нс. Пиковая плотность
25 потока мощности определялась и фиксировалась по стандартной методике на основе антенных измерений и калориметрических калибровок.

Динамику заживления термических ожогов оценивали с помощью фотокамеры Sony-DSC-F717 (Япония) с последующим анализом фотографий (пакет программ ImageAnalyzer) [39; 43]. Площадь раны рассчитывали по методу точечного счета [55].
30 Полученные результаты у облученных животных сравнивали с аналогичными показателями в контрольных группах крыс.

На 30 день после моделирования термического ожога животных выводили из эксперимента путем передозировки CO₂-наркоза. Для проведения гистологического анализа вырезали участок кожи, включающий пораженную и соседнюю интактную
35 области. Гистологическую обработку материала проводили стандартными методиками [56; 57]. После фиксации в 10% растворе забуференного формалина образцы кожи обезвоживали в растворах этанола возрастающей крепости (70%, 95%, 98%), просветляли в бутаноле и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме RMD-3000 («MTPoint», Россия) и переносили на предметные стекла с белок-
40 глицериновым покрытием. Окраску полученных срезов осуществляли гематоксилином Майера-эозином и модифицированным азановым методом. Всего было получено 96 микропрепаратов. Микроскопию препаратов, изготовление снимков выбранных показательных образцов, а также измерения осуществляли с помощью микроскопа AxioLab A1, камеры AxioCamERc 5s и программы ZEN 2 («CarlZeissMicroscop», Германия).

45 На микрофотоснимках измеряли общую площадь исследуемого фрагмента (ПФ, мкм^2), площадь грануляционной ткани (ПГТ, мкм^2), разрывов в исследуемом фрагменте (ПР, мкм^2), толщину новообразованного эпидермиса (ТЭ, мкм) или длину раны - расстояние между краями раны (ДР, мкм) - для ран с неполной эпителизацией. На

основе первичных измерений рассчитывали относительную площадь грануляционной ткани (ОПГТ):

$$\text{ОПГТ} = \text{ПГТ} \times 100 / \text{ПФ-ПР} (\%).$$

Для сравнения экспериментальных групп использовали показатели ТЭ, ДР, ОПГТ.

5 Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием программы Statistica 8.0 (StatSoft, США). Полученные результаты представляли в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки ($M \pm m$) для всех групп экспериментальных животных. Значимость различий величин между контрольными и облученными показателями определяли с помощью непараметрического U-критерия
10 Манна-Уитни. В ходе статистической обработки результатов гистологического анализа рассчитывали: среднее значение (\bar{x}), минимум (min) и максимум (max), стандартное отклонение (σ), стандартную ошибку средней ($m\bar{x}$), коэффициент вариации (Cv), уровень значимости (p). Для оценки характера распределения использовали критерий Краскела-Уоллиса. Для сравнения результатов групп применяли точный критерий Фишера и тест
15 Стьюдента. При проверке статистических гипотез достоверным считали уровень значимости менее 5% ($p < 0.05$). Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез принимали равным 0.05.

Выполненные эксперименты показали, что у всех крыс после моделирования термического повреждения кожного покрова развивался ожог III А степени,
20 характеризовавшийся поражением всей толщи кожи. Кожа на месте ожоговой раны была плотная и неподвижная. Площадь повреждения в контрольных и опытной группах составляла 8-10% от всей поверхности тела, регистрировались все основные стадии регенерации ожоговой травмы.

У крыс из группы №1 (контроль) частичная эпителизация ран отмечалась к 24 дню
25 исследования с полным завершением эпителизации на 30-е сутки при наличии грубого келоидного рубца (33% животных), что подтвердили результаты гистологического анализа кожных покровов крыс.

Полученные данные приведены на Фиг. 1-3.

30 На Фиг 1 представлены - Заживление ожоговых ран у крыс в динамике после инъекции мезенхимальных стволовых клеток (МСК), воздействия наносекундными микроволновыми импульсами (НМИ) и комбинированного воздействия клеток и наносекундных микроволновых импульсов (МСК+НМИ).

Примечание: *, ** - различия статистически значимы по отношению к контрольной
35 группе №1 в соответствующие дни исследования ($p \leq 0.05$)

На Фиг 2 приведены показатели поврежденного участка кожи крыс после ожоговой травмы на 30-е сутки эксперимента.

Примечание: результаты представлены в виде среднего арифметического и ошибки
40 среднего ($\bar{x} \pm m\bar{x}$); * - $p \leq 0.05$ - уровень статистической значимости по отношению к контрольной группе №1, ** - $p \leq 0.05$ - уровень статистической значимости по отношению к группе №2

На Фиг 3 - поперечные срезы центральной области ожоговых ран кожных покровов исследуемых групп на 30-е сутки заживления (А - контроль, Б - МСК, В - НМИ, Г -
45 МСК+НМИ). Окраска модифицированным азановым методом. Примечание: НЭ - новообразованный эпидермис, ГТ - грануляционная ткань, ССД - сетчатый слой дермы.

У крыс из группы №2 (МСК) по сравнению с группой №1 наблюдалась иная картина. Во-первых, статистически значимое на 23% уменьшение площади ожоговой раны регистрировалось на 9-й день эксперимента (Фиг 1). Во-вторых, завершение полной эпителизации ран наблюдалось уже к 28 суткам исследования (33% животных), при

этом кожные покровы у крыс были гладкие, без признаков воспаления. В-третьих, как показал гистологический анализ кожных покровов крыс, относительная площадь грануляционной ткани статистически значимо увеличивалась на 74% (Фиг 1, 2).

У крыс из группы №3 (НМИ) по сравнению с группой №1 регистрировалось статистически значимое уменьшение площади ран на 19 сутки эксперимента. К 24 суткам отмечалась эпителизация облученных ран с полным ее завершением у всех животных на 28 день исследования (67% животных) (Фиг 1, 2). При сравнении параметров регенерата (площадь грануляционной ткани, толщина новообразованного эпидермиса) в группе животных с не полностью эпителизованными ранами после ожоговой травмы установлено статистически значимое различие только по площади грануляционной ткани по отношению к контролю. У животных с полной эпителизацией ран статистически значимо увеличивались оба показателя регенерата относительно группы №1 (Фиг 2).

У крыс из группы №4 (МСК+НМИ), поврежденные участки кожи которых подвергали комбинированному воздействию МСК и наносекундных микроволновых импульсов, процесс регенерации после моделирования термических ожогов в динамике статистически значимо не отличался от животных контрольной группы (Фиг 1). Тем не менее, следует отметить ряд существенных особенностей в процессе регенерации ожоговых ран после комбинированного воздействия. С 11 дня исследования у животных данной группы отмечали частичное отделение ожогового струпа, с полным его отторжением на 14-й день, в то время как в остальных группах сроки формирования и отторжения струпа составляли от 14 до 19 дней. Согласно результатам гистологического анализа, относительная площадь грануляционной ткани статистически значимо увеличивалась в сравнении с контрольной группой №1, а толщина новообразованного эпидермиса статистически значимо увеличивалась с этим же показателем, как в контрольной группе, так и в группе №2 (Фиг 2, Фиг 3, 2). При этом существенным отличием от всех исследуемых термических ран животных после комбинированного воздействия оказалось 100% завершение эпителизации ран у крыс к указанным срокам. Более того, по завершению регенерации ран после сочетанного воздействия полностью отсутствовали грубые келоидные рубцы и признаки воспалительного процесса.

Таким образом, в эксперименте продемонстрировано, что последовательная комбинация, включающая последовательное однократное введение подкожно в ожоговую рану $1-1.5 \times 10^6$ МСК из популяции костномозгового происхождения (в две точки, на 6 и 12 ч) и с последующим четырехкратным одноразовым воздействием наносекундными микроволновыми импульсами, увеличивает скорость заживления ран за счет ускоренного образования грануляционной ткани и уменьшения толщины струпа, что впоследствии обеспечивает 100% безрубцовое заживление. Такой результат может стать основой новой перспективной технологии в комбустиологии, в косметологической, физиотерапевтической и хирургической практике для разработки способов лечения и коррекции ожоговых травм III А степени. Применение только наносекундных микроволновых импульсов (без МСК) обеспечивает аналогичное восстановление кожных покровов после ожоговой травмы, при этом эффект составляет 67%.

Таким образом, предлагаемый способ расширяет арсенал способов лечения ожоговых травм III А степени для использования в хирургии, комбустиологии, косметологии, а также физиотерапии.

Источники информации

1. Алексеев А.А. Современные технологии местного консервативного лечения

пострадавших от ожогов / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников // *Анналы хирургии*. - 2012. - №2. - С. 32-38.

2. Островский Н.В. Сравнительная оценка влияния лекарственных средств для местного лечения ран на заживление термических ожогов II-III степени в эксперименте / Н.В. Островский, В.В. Петров, А.С. Быстрова и др. // *Фундаментальные исследования*. 2014. №6. С. 512-515.

3. Branski L.K. Treatment of burns - established and novel technology / L.K. Branski., M. Dibildox, S. Shahrokhi., M.G. Jeschke // *Handbook of burns. Vol. 1: Acute burn care* / ed. by Jeschke M.G., Kamolz L.P., Sjöberg F., Wolf S.E. - Wien: Springer-Verlag. - 2012. - P. 311-325.

4. Зорин В.Л. Дермальные фибробласты для лечения дефектов кожи / В.Л. Зорин, А.И. Зорина, О.С. Петракова, В.Р. Черкасов // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. - 2009. - Т. 4, №4. - С. 26-40.

5. Nyame T.T. Clinical applications of skin substitutes / T.T. Nyame, H.A. Chiang, D.P. Orgill // *Surg. Clin. North Am.* - 2014. - Vol. 94, N 4. - P. 839-850.

6. Still J.M. Use of cultured epidermal autografts in the treatment of large burns / J.M. Still, H.K. Orlet, E.J. Law // *Burns*. - 1994. - Vol. 20, N 6. - P: 539-541.

7. Paddle-Ledinek J.E. Skin replacement by cultured keratinocyte grafts: an Australian experience / J.E. Paddle-Ledinek, D.G. Cruickshank, J.P. Masterton // *Burns*. - 1997. - Vol. 23, N3. - P. 204-211.

8. Barret J.P. Cost-efficacy of cultured epidermal autografts in massive pediatric burns / J.P. Barret, S.E. Wolf, M.H. Desai, D.N. Herndon // *Ann. Surg.* - 2000. - Vol.231, N 6. - P. 869-876.

9. Wood F.M. The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn injuries: a critical review of the literature / F.M. Wood, M.L. Kolybaba, P. Allen // *Burns*. 2006. V. 32. P. 395-401.

10. Патент №2230500 С2 РФ. Способ лечения ожоговых ран на основе применения культивированных клеток / Глинских Н.П., Бахарев А.А., Штукатуров А.К., Саидгалин Г.З., Устьянцев И.В. - 18.06.2002.

11. Sood R.A. Comparative study of spray keratinocytes and autologous meshed split-thickness skin graft in the treatment of acute burn injuries / R. Sood, D.E. Roggy, M.J. Zieger, M. Nazim, V.C. Hartman, J.T. Gibbs // *Wounds*. - 2015. - Vol. 27, N 2. - P. 31-10.

12. Саидгалин Г.Д. Аллофибробласты в лечении глубоких ожогов у детей / Г.Д. Саидгалин, П.В. Салистый, О.В. Панова, Д.А. Гриценко, Н.П. Глинских, А.А. Бахарев // *Международ. конгр. «Комбустиология на рубеже веков»*, 9-12 окт.2000 г. - М., 2000. - С.166.

13. Gravante G. A randomized trial comparing ReCell system of epidermal cells delivery versus classic skin grafts for the treatment of deep partial thickness burns / G. Gravante, M.C. Di Fede, A. Araco, M. Grimaldi, B. De Angelis, A. Arpino, V. Cervelli, A. Montone // *Burns*. -2007. - Vol.33, N 8. - P. 966-972.

14. Крылов К.М. Опыт применения дермального эквивалента в лечении ожогов 3 степени / К.М. Крылов, Д.А. Козулин, А.В. Панов, М.И. Блинова // *III съезд комбустиологов России: сб. тез.* - М., 2010. - С. 174.

15. Алейник Д.Я. Использование клеточных технологий для восстановления повреждений кожи при ожоговой травме / Д.Я. Алейник, В.Л. Зорин, И.И. Еремин, И.Н. Корсаков, И.Н. Чарыкова, В.Л. Зорин // *Современные проблемы науки и образования*. -2015.-№4.

16. Патент №2687007 РФ. Способ биотехнологического восстановления кожного покрова аллогенными стволовыми клетками человека / Зиновьев Е.В., Асадулаев М.С., Чепур С.В., Юдин А.Б., Степанов Н.Н., Миляев А.В., Бояринцев В.В., Сафаров Р.Р.,

Лошманов М.М. - 06.05.2019.

17. Патент №2512681С2 РФ Способ лечения длительно незаживающей раны и/или раневой полости / Колесникова А.И., Маловичко В.В., Архиреев С.О., Китаев А.В. - 22.08.2012.

5 18. Филимонов К.А. Совершенствование местного лечения ран у больных с локальными ожогами: дис. ... канд. мед. наук. - Самара, 2013. - 144 с.

19. Rennekampf H.O. Debridement of the burn wound / H.O. Rennekampf, M. Tenenhaus // In: Н. Hyakusoku et al. (eds.) Color Atlas of Burn Reconstructive Surgery / Springer-Verlag Berlin Heidelberg - 2010. - P. 10-15.

10 20. Подойницына М.Г. Применение физических методов при лечении ожогов кожи / М.Г. Подойницына, В.Л. Цепелев, А.В. Степанов // Современные проблемы науки и образования. - 2015. - №5.

21. Патент РФ №2192906. Способ лечения ожоговых ран / Воробьев А.В., Щелоков Р.Н., Храмов Р.Н., Мониц В.А., Жигалов В.А., Иванова И.И., Алейник Д.Я. - 20.11.2002.

15 22. Макоев С.Н. Лазерная фотодинамическая терапия ожоговых ран: дис. ... канд. мед. наук. - М., 2009. - 76 с.

23. Сергеева Е.Н. Применение монохромного некогерентного светодиодного излучения в комплексном лечении ожогов кожи у детей: дис. ... канд. мед. наук. - СПб., 2008. - 142 с.

20 24. Monstrey S. Консервативное лечение глубоких кожных ожоговых ран с использованием терапии поляризованным светом / S. Monstrey, H. Hoeksema, H. Saelens // Британский журнал пластической хирургии. - 2002. - №55. - С. 420-426.

25. Пономаренко Г.Н. Применение полихроматического поляризованного некогерентного излучения аппаратов «Биоптрон» в комплексном лечении больных с ранами, трофическими язвами, ожогами и пролежнями // Физиотерапевт. - 2010. - №7. - С. 48-58.

26. Баранов Е.В. Сравнительная оценка показателей динамики заживления экспериментальных чистых ран при локальном использовании светодиодного фоторегуляторного воздействия и мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани / Е.В. Баранов, А.В. Буравский, И.Б. Василевич, С.И. Третьяк // Лечебно-профилактические вопросы. С. 26-34.

27. Чмырев И.В. Применение ультразвуковой кавитации при лечении ожоговых ран, пролежней, язв и отморожений / И.В. Чмырев, А.А. Степаненко, Б.В. Рисман // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. - 2011. - №4. - С. 86-92.

35 28. Мокренко В.Н. Использование озонированной среды при ультразвуковой обработке ожоговых ран. 2014. [Электронный ресурс] // Комбустиология: сайт. - URL: <http://combustiolog.ru/journal/glava-3-hirurgicheskoe-lechenie-ran-ozhogov-i-ih-posledstvij/> (дата обращения 09.02.2023).

40 29. Патент РФ №2483765 С1. Способ лечения локальной ожоговой травмы III степени / Толстов А.В., Колсанов А.В., Филимонов К.А. - 10.06.2013.

30. Гречко В.Н. Комбинированное применение комплексной озono- и фототерапии преобразованным красным светом в хирургии: дис. ... д-ра мед. наук. - Н. Новгород, 2005. - 236 с.

45 31. Лаврухин Ю.Н. Применение магнитотерапии при лечении ран различной этиологии [Электронный ресурс]. 2014. // Комбустиология: сайт. - URL:<http://combustiolog.ru/journal/razdel-5-mestnoe-lechenie-ozhogov-konservativny-e-metody> (дата обращения 09.02.2023).

32. Соколов В.А. Первый клинический опыт применения низкоинтенсивного лазера

в лечении ожогов //Сборник научных трудов II съезда комбустиологов России.

Всероссийское общество комбустиологов «Мир без ожогов». - 2008. - С. 368-369.

33. Al-Watban F.A.H. PL19 Low power laser therapy of non-diabetic and diabetic wounds and burns / F.A.H. Al-Watban, B.L. Andres, X. Zhang, A.A. Al-Anazi // Photodiagnosis and photodynamic therapy. - 2010. - Vol. 7. - №1. - P. 30.

34. Da Silva J.P. Laser therapy in the tissue repair process: a literature review /Da Silva J.P., da Silva M.A., Almeida A.P.[et al.] // Photomed. Laser Surg. - 2010. - №28 (1). - P. 17-21.

35. Патент РФ на полезную модель №66961, МПК А61N 5/02.

36. Патент №2445134 C1 РФ. Способ терапевтического воздействия на биологические объекты электромагнитными волнами и устройство для его осуществления / Власкин С.В., Терехов И.В., Петросян В.И., Дягилев Б.Л., Дубовицкий С.А., Киричук В.Ф., Семиволос А.М. - 21.09.2010.

37. Киричук В.Ф. Оксид азота и электромагнитное излучение КВЧ / В.Ф. Киричук, А.П. Креницкий, А.В. Майбородин, В.Д. Тупикин и др. // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. - 2002. - №10-11. - С. 95-108.

38. Saliev T. Therapeutic potential of electromagnetic fields for tissue engineering and wound healing / T. Saliev, Z. Mustapova, G. Kulsharova, D. Bulanin, S. Mikhailovsky // Cell proliferation. - 2014. - Vol. 47 (6). - P. 485-493.

39. Князева И.Р. Действие наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения на процессы регенерации / И.Р. Князева, М.А. Медведев, Л.П. Жаркова, А.А. Гостюхина, О.П. Кутенков, В.В. Ростов, Большаков М.А. // Бюллетень сибирской медицины. - 2011. - №6. - С. 109-113.

40. Большаков М.А. Оценка активности ферментов антиоксидантной защиты митохондрий печени мышей после воздействия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения / М.А. Большаков, Л.П. Жаркова, В.В. Иванов, А.В. Керя, И.Р. Князева, О.П. Кутенков // Вестник ТГУ. 2012. №3(19). С. 122-136.

41. Kereya A.V. Some biological reactions of the organism after exposure to nanosecond repetitive pulsed microwaves / A.V. Kereya, L.P. Zharkova, M.A. Bolshakov, O.P. Kutenkov, V.V. Rostov // IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series. - 1115. - 2018. - 022015.

42. Самойлова А.В. Поведенческая активность и уровень кортикостерона в сыворотке крови мышей в динамике семидневного воздействия наносекундным импульсным микроволновым излучением / А.В. Самойлова, М.А. Большаков, Л.П. Жаркова, А.А. Гостюхина, О.П. Кутенков, В.В. Ростов // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2021. - Т. 61. №2. - С. 167-173.

43. Gostyukhina A.A. Stimulation of Burn Wound Healing in Rats by Nanosecond Repetitive Pulsed Microwave Radiation / A.A. Gostyukhina, A.V. Samoylova, M.A. Bolshakov, V.M. Mochalova, K.V. Zaitsev, O.P. Kutenkov, V.V. Rostov // Biology Bulletin. - 2022. - Vol. 49, No. 5. - pp. 532-537.

44. Дыгай А.М. Мобилизация стволовых клеток пегилированным с помощью нанотехнологии гранулоцитарным колониестимулирующим фактором как модель изучения процессов миграции прогениторных элементов / А.М. Дыгай, Г.Н. Зюзьков, В.В. Жданов, Е.В. Удут, Е.В. Симанина, Т.Ю. Хричкова, Л.А. Ставрова, Т.В. Андреева, А.В. Чайковский, Е.И. Верещагин, П.Г. Мадонов // Биомедицина. - 2010. - №1. - С. 17-23.

45. Кубатиев А.А. Внутриклеточная регенерация мозга: новый взгляд / А.А. Кубатиев, А.А. Пальцын // Вестник РАМН. - 2012. - №8. - С. 21-25.

46. Зорина А.И. Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и

возможности клинического применения / И.Я. Бозо, В.Л. Зорин, В.Р. Черкасов, Р.В. Деев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия - 2011. - Т. 6. №2. - С. 15-23.

47. Бозо И.Я. «Фибробласт» - Специализированная клетка или функциональное состояние клеток мезенхимного происхождения? / И.Я. Бозо, Р.В. Деев, Г.П. Пинаев // Цитология. - 2010. - Т. 52. №1. - С. 99-109.

48. Шахпазян Н.К. Мезенхимальные стволовые клетки из различных тканей человека: биологические свойства, оценка качества и безопасности для клинического применения / Н.К. Шахпазян, Т.А. Астрелина, М.В. Яковлева // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - 2012. - Т. 7. №1. - С. 23-33.

49. Земелько В.И. Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки десквамированного эндометрия: выделение, характеристика и использование в качестве фидерного слоя для культивирования эмбриональных стволовых линий человека / В.И. Земелько, Т.М. Гринчук, А.П. Домнина, И.В. Арцыбашева, В.В. Зенин, А.А. Кирсанов, Н.К. Бичева, Корсак В.С. Никольский Н.Н. // Цитология - 2011. - №12. - С. 919-928.

50. Zhang Z. Human Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells Elicit Polarization of M2 Macrophages and Enhance Cutaneous Wound Healing / Z. Zhang, W.R. Su, S.H. Shi, P. Wilder-Smith, A.P. Xiang, A. Wong, A.L. Nguyen, C.W. Kwon, A.D. Le // Tissue-specific stem cells.- 2010. - №28. - С. 1856-1868.

51. Zahorec P. Mesenchymal stem cells for chronic wounds therapy / Peter Zahorec, Jan Koller, Lubos Danisovic, Martin Bohac // Cell and Tissue Banking. - 2015. - №16. - С. 19-26.

52. Chen C.H. Genetic influences on cortical regionalization in the human brain / C.H. Chen, M.S. Panizzon, L.T. Eyler // Neuron. - 2011. - Vol 72, Issue 4. - P. 537-544.

53. Патент №2472232 РФ. Способ моделирования термической ожоговой раны кожи у лабораторных животных / Колсанов А.В., Алипов В.В., Лебедев М.С., Добрейкин Е.А., Лимарева Л.В. - 24.03.11.

54. РФ ГОСТ Р-53434-2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартиформ, 2010.

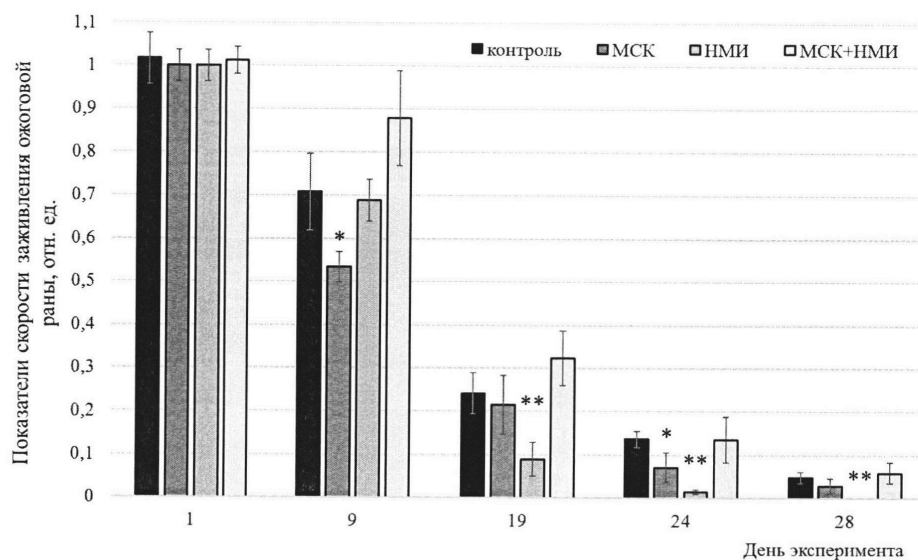
55. Cross S.E. An experimental model to investigate the dynamics of wound contraction / S.E. Cross, I.L. Naylor, R.A. Coleman, T.C. Teo // Brit J. of Plastic Surgery. 1995. - Vol. 48 (4). - P. 189-197.

56. Exbrayat J.M. Classical methods of visualization. Histochemical and cytochemical methods of visualization / Boca Raton, London, New York: CRC Press Taylor and Francis Group, 2013. 367 p.

57. Ярцев В.В. Основы гистологической техники для зоологов: учебно-методическое пособие для биологических специальностей вузов [для студентов, обучающихся по направлению 06.04.01 Биология / авт.-сост.]. М-во науки и высш. образования, Нац. исслед. Том. гос. ун-т. - Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2019. 84 с.

(57) Формула изобретения

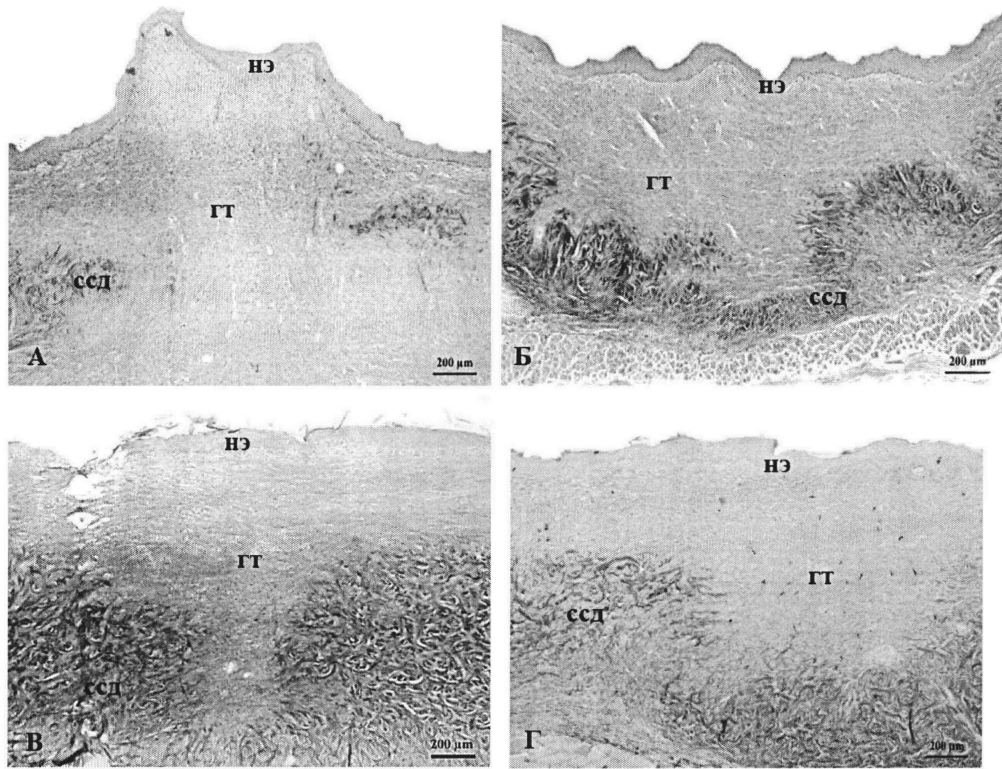
Способ стимуляции заживления ожоговых травм в эксперименте, включающий локальное воздействие наносекундными микроволновыми импульсами однократно на область ожога 4000 импульсов за 1 сеанс облучения в день с пиковой плотностью потока мощности 140 Вт/см^2 с частотой повторения импульсов 8 Гц локально в течение 4-х дней, отличающийся тем, что дополнительно перед первым воздействием подкожно вводят однократно суспензию мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в общем количестве 1×10^6 в две точки раневой поверхности на 6 и 12 часах.



Фиг. 1

Параметр регенерата	Площадь грануляционной ткани, (мм ²)	Толщина новообразованного эпидермиса, (мкм)	Длина раны, (мм)
Группы крыс			
С не полностью эпителизованными ранами после ожоговой травмы:			
группа № 1 (контроль)	0.50±0.20	49.22±21.15	2.19±0.70
группа № 2 (МСК)	0.95±1.15	53.49±14.39	5.11±0.42
группа №3 (НМИ)	2.39±1.86*	37.71±53.32	4.85±5.07
С полностью эпителизованными ранами после ожоговой травмы			
группа № 1 (контроль)	0.27±0.03	65.21±10.31	
группа № 2 (МСК)	1.04±0.04*	64.96±1.53	
группа №3 (НМИ)	1.53±1.05*	146.33±16.99*	
группа № 4 (МСК+НМИ)	1.08±0.44*	149.84±59.62*, **	

Фиг. 2



Фиг. 3