

DOI: 10.33266/2782-6430-2024-4-34-39

И.В. Цымбал¹, М.С. Семенов¹, В.А. Брунчуков¹, Е.А. Дубова¹, Г.Г. Степанян¹, Л.Т. Лепсверидзе¹, С.В. Лишук¹,
Т.А. Астрелина¹, И.В. Кобзева¹, Ю.Б. Сучкова¹, О.Ф. Серова², А.С. Самойлов¹, О.В. Паринов^{1,2}

ПРИМЕНЕНИЕ АМНИОТИЧЕСКОЙ ОБОЛОЧКИ ДЛЯ МИНИМИЗАЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО РУБЦЕВАНИЯ В ХИРУРГИИ НЕВРОТИЗАЦИИ НЕРВОВ

¹ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

²ГБУЗ МО Московский областной перинатальный центр, г. Балашиха

Контактное лицо: Семенов Максим: semenovfmbc@gmail.com

Резюме

Несмотря на современные достижения в области хирургии проблема патологического рубцевания остаётся актуальной и по сей день. Она может приводить как к серьёзным дисфункциям различных систем органов, так и к косметическим дефектам, что существенно снижает качество жизни пациентов. В поисках эффективных методов профилактики рубцевания в данном исследовании мы обратили внимание на амниотическую оболочку, которая благодаря своим свойствам способна обеспечивать протекцию тканей и препятствовать рубцово-спаечным процессам. Нами были проиллюстрированы положительные результаты применения амниона в хирургии невротизации седалищного нерва у кроликов, показана его безопасность и эффективность. Амниотическая оболочка представляет собой перспективный биоматериал для профилактики патологического рубцевания и улучшения послеоперационных исходов. Однако для ее широкого применения необходимы дальнейшие исследования и стандартизация производства.

Ключевые слова: амниотическая оболочка, рубцевание, невролиз, амнион, фиброз, соединительная ткань

Для цитирования: Цымбал И.В., Семенов М.С., Брунчуков В.А., Дубова Е.А., Степанян Г.Г., Лепсверидзе Л.Т., Лишук С.В., Астрелина Т.А., Кобзева И.В., Сучкова Ю.Б., Серова О.Ф., Самойлов А.С., Паринов О.В. Применение амниотической оболочки для минимизации патологического рубцевания в хирургии невротизации нервов // Клинический вестник ФМБЦ им. А.И. Бурназяна 2024. №4. С. 34–39. DOI: 10.33266/2782-6430-2024-4-34-39

DOI: 10.33266/2782-6430-2024-4-34-39

I.V. Tsybal¹, M.S. Semenov¹, V.A. Brunchukov¹, E.A. Dubova¹, G.G. Stepanyan¹, L.T. Lepsveridze¹, S.V. Lischuk¹,
T.A. Astrelina¹, I.V. Kobzeva¹, Yu.B. Suchkova¹, O.F. Serova², A.S. Samoilov¹, O.V. Parinov^{1,2}

The Usage of an Amniotic Membrane to Minimize Pathological Scarring in Nerve Neurotization Surgery

¹S.P. Botkin Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center, Moscow, Russia

²International Office, State Research Center - Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Contact person: Semenov Maxim: semenovfmbc@gmail.com

Abstract

Despite modern advances in surgery, the problem of pathological scarring is still remains relevant. It can lead to both serious dysfunctions of various organ systems and cosmetic defects, which significantly reduces the quality of patients' life. In search of effective methods for the prevention of scarring, we paid attention to the amniotic sac, which, due to its properties, is able to provide tissue protection and prevent scar-adhesive processes. We have illustrated the positive results of the amnion usage in surgery of sciatic nerve neurotization in rabbits; a safety and effectiveness of this method have been also presented. The amniotic sac is a promising biomaterial for the prevention of pathological scarring and improvement of postoperative outcomes. However, further research and standardization of production are needed for its widespread use.

Keywords: venetoclax, relapsed or refractory B-cell lymphomas, survival, complete remission

For citation: Tsybal IV, Semenov MS, Brunchukov VA, Dubova EA, Stepanyan GG, Lepsveridze LT, Lischuk SV, Astrelina T.A., Kobzeva I.V., Suchkova Yu.B., Serova O.F., Samoilov A.S., Parinov O.V. The Usage of an Amniotic Membrane to Minimize Pathological Scarring in Nerve Neurotization Surgery A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center Clinical Bulletin. 2024.4:34-39. (In Russian) DOI: 10.33266/2782-6430-2024-4-34-39

Введение

Формирование избыточных рубцов представляет собой серьёзную проблему последствий хирургического лечения, а также лечения обширных поражений, травм мягких тканей. Патологическое рубцевание может приводить к нарушениям функций различных систем органов, косметическим дефектам, а также значительному снижению качества жизни пациентов. Поиск биоматериалов, способных минимизировать рубцевание, является актуальным направлением исследований. В данном контексте амниотическая оболочка привлекает внимание благодаря своим уникальным антифибротическим свойствам.

Патофизиология рубцевания

Фаза воспаления

При повреждении тканей происходит высвобождение факторов свёртывания крови, цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-α) и хемокинов, привлекающих клетки иммунной системы в рану [1]. Нейтрофилы первыми мигрируют для борьбы с инфекцией. Затем активируются макрофаги, которые выполняют фагоцитоз некротических тканей и продуцируют медиаторы воспаления и ангиогенеза, такие как ФНО-α, ИЛ-1β, PDGF, TGF-β [2]. Длительное присутствие избыточного количества нейтрофилов и макрофагов способствует формированию рубцов

путем постоянной секреции провоспалительных цитокинов [3].

Пролиферативная фаза

Дермальные фибробласты активируются под действием факторов роста (PDGF, TGF- β , FGF) и мигрируют в рану [4]. TGF- β стимулирует трансформацию части фибробластов в миофибробласты, экспрессирующие альфа-гладкомышечный актин [5]. Миофибробласты обладают повышенной синтетической активностью и могут сокращаться, способствуя закрытию раны. Они начинают активно продуцировать компоненты внеклеточного матрикса - коллаген I, III типов, фибронектин, протеогликаны [6]. Одновременно происходит ангиогенез - рост новых кровеносных сосудов в рану для доставки питательных веществ и кислорода [7].

Фаза ремоделирования

Окончательное формирование рубца происходит в результате перекрестного сшивания волокон коллагена в плотную упорядоченную структуру. Этот процесс регулируется балансом синтеза коллагена и его деградации матриксными металлопротеиназами (ММП). Дисбаланс между ММП и их ингибиторами (ТИМР) способствует избыточному отложению коллагена в рубце [8]. Одновременно происходит ремоделирование и сокращение рубца за счет тракционных сил, создаваемых миофибробластами [9].

Патологическое рубцевание развивается при:

1. Длительной и чрезмерной воспалительной реакции с повышенной выработкой провоспалительных цитокинов [10].
2. Усиленной пролиферации и повышенной активности миофибробластов под действием ростовых факторов [11].
3. Нарушениях в метаболизме коллагена с преобладанием его синтеза и снижением деградации [12].
4. Длительной гипоксии тканей [13].
5. Генетической предрасположенности (мутации генов ТИМР, ММП, ростовых факторов) [14].

В результате формируется плотный рубец с избыточным содержанием упорядоченных волокон

коллагена и клеток, что приводит к потере эластичности тканей, образованию стягивающих тяжей и нарушению функций органов [15].

Механизмы антифибротического действия амниотической мембраны

Амниотическая мембрана является внутренней среди плодных оболочек, окружающую плод во время внутриутробного развития. Ее потенциал в снижении патологического рубцевания обусловлен следующими факторами

1. Низкая иммуногенность и наличие противовоспалительных молекул (ИЛ-10, ИЛ-1) способствуют уменьшению воспалительной реакции - триггера формирования рубцов [16,17].
2. Подавление трансформации фибробластов в активированные миофибробласты за счёт ингибирования TGF- β сигнального пути [18,19].
3. Наличие ингибиторов ангиогенеза (эндостатины, ангиостатины) снижает чрезмерный ангиогенез в рубцовой ткани [20].
4. Экспрессия противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, ИЛ-1 и факторов, ингибирующих апоптоз [21,22].
5. Высокое содержание факторов роста (EGF, KGF, HGF) стимулирует регенерацию тканей и реэпителизацию [23].

Методы

В исследовании использовались 6 взрослых самцов кроликов породы Советская шиншилла (рис. 1), массой 3,2 кг, обеспеченный свободным доступом к воде и еде. Под общей анестезией выполнялось оперативное вмешательство, целью которого было выделение седалищного нерва на бедре билатерально. Сторона, на которой проводились манипуляции с применением амниотической мембраны, определялась рандомизированно, контралатеральная сторона служила контролем. На стороне вмешательства, где применялся амнион, выделенный участок седалищного нерва длиной 2 см оборачивался децеллюляризированной амниотической мембраной человека.



Рис. 1. Самец кролика породы Советская шиншилла
Fig. 1. Male rabbit of the Soviet chinchilla breed

На контрольной стороне нерв также выделялся, однако не подвергался каким-либо дополнительным манипуляциям. Через 2 недели выполнялась реоперация с повторным хирургическим доступом и применением амниона к соседнему участку седалищного нерва (для оценки рубцевания с течением времени). Производился забор образцов нервов для гистологического исследования. Животные выводились из эксперимента путём внутрисердечной инъекции раствора лидокаина спустя 3 недели от первой операции.

Гистологическая оценка проводилась сертифицированным патологоанатомом в условиях слепого исследования. Препараты были окрашены гематоксилином и эозином, а также трихромной окраской по Массону. Парафиновые срезы оценивались при увеличении 100х и 400х с использованием светового микроскопа. Анализировались такие параметры, как степень воспаления, отёк, фиброз и наличие дегенеративных изменений нервных волокон.

Результаты

В гистологических препаратах через неделю после операции определяются сохранные нервные волокна, окруженные амниотической оболочкой. Эпиневрй расширен с выраженной лимфоцитарно-

плазмоцитарной инфильтрацией с примесью эозинофилов, очаговыми грануляциями, без признаков гнойного воспаления. Отмечаются очаговые разрастания соединительной ткани, врастание соединительной ткани в амниотическую оболочку. Нервные стволы с сохранным периневрием, на отдельных участках определяется формирование волокон соединительной ткани без признаков фиброзирования и врастания соединительной ткани в нервные волокна (рис.1 а, б). Через 3 недели после операции гистологическая картина сходная с таковой на предыдущем сроке. Среди отличий можно отметить менее выраженную лимфоцитарно-плазмоцитарную инфильтрацию, отсутствие в инфильтрате эозинофилов, более развитые грануляции. Эпиневрй представлен рыхлой соединительной тканью с очаговым отёком и звёздчатыми макрофагами. Признаки фиброзирования и врастания соединительной ткани в толщу нервных волокон на данном сроке также отсутствовали (рис. 2 а, б).

В контрольной группе в гистологических препаратах среди фиброзной ткани определяются нервные волокна (рис. 1 а, б). Отмечается выраженное фиброзное изменение периневрия, врастание фиброзированной соединительной ткани в эпиневрй (рис. 2 а, б). Признаки воспаления отсутствуют.

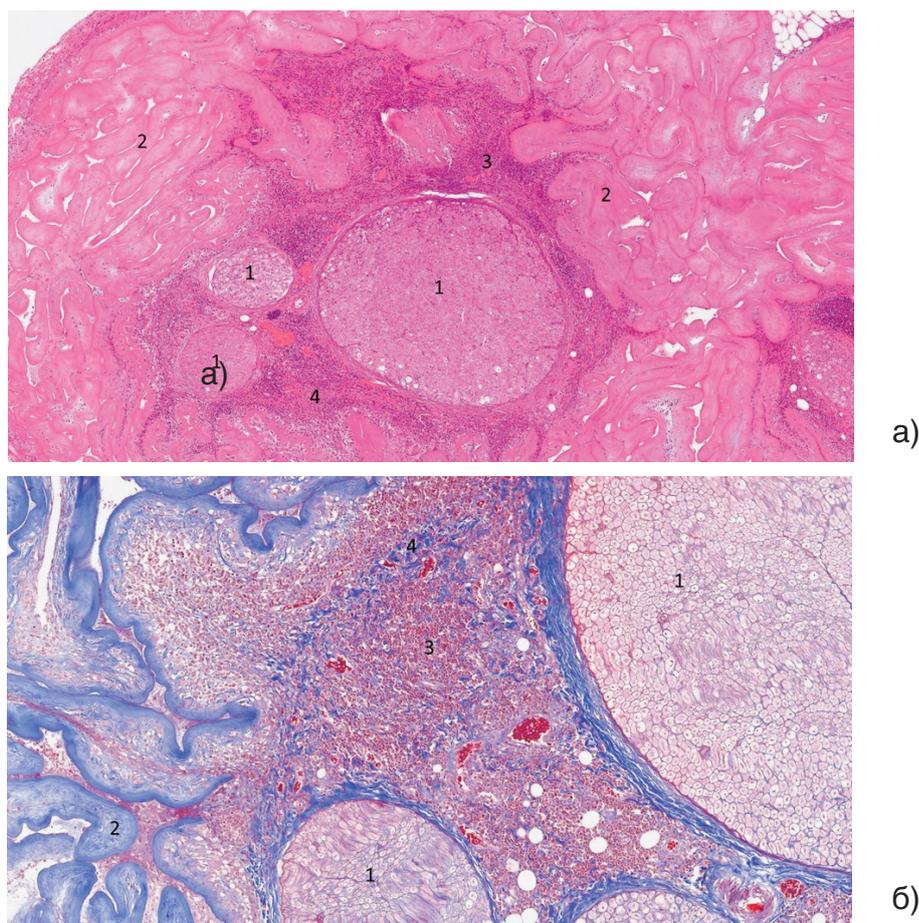
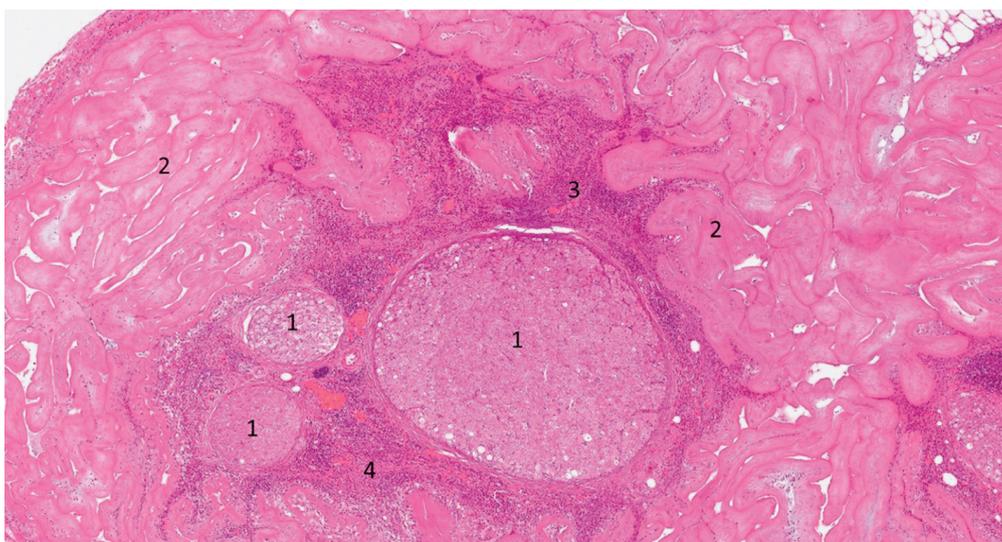
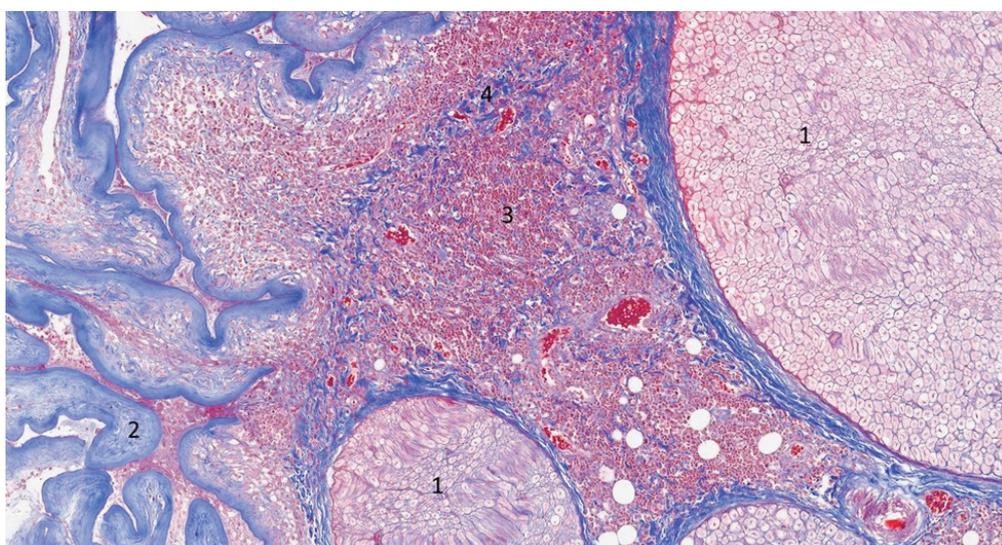


Рис. 2. Гистологические изменения через 1 неделю после операции: (1) – нервные волокна, (2) – амниотическая оболочка, (3) – лимфоцитарно-плазмоцитарная инфильтрация, (4) – соединительная ткань. а - Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40, б – трихромная окраска по Массону, ув. 100.

Fig. 2. Histological changes 1 week after surgery: (1) nerve fibers, (2) amniotic membrane, (3) lymphocytic-plasmocytic infiltration, (4) connective tissue. a - hematoxylin and eosin staining, magnification 40, b – trichromic Masson staining, magnification 100.



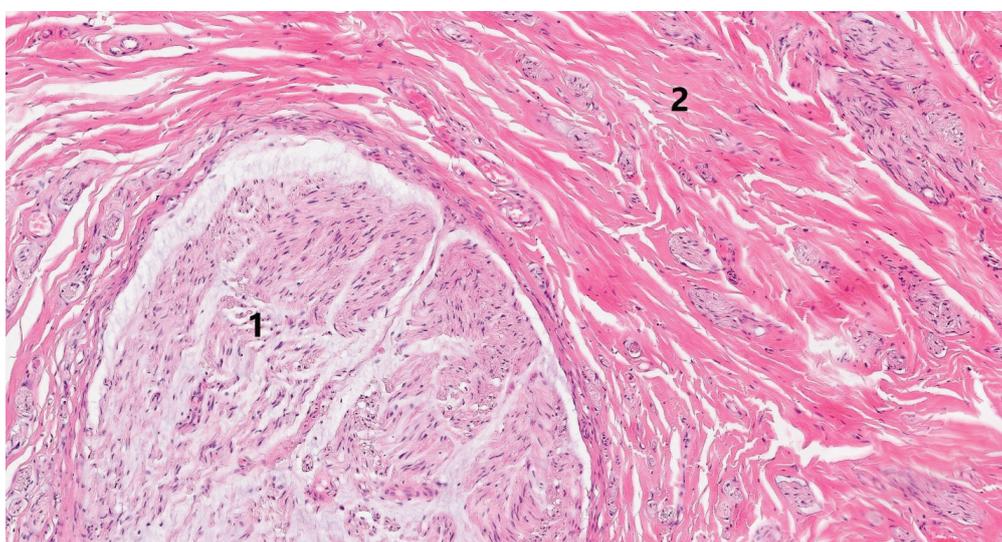
а)



б)

Рис. 3. Гистологические изменения через 3 недели после операции: (1) – нервные волокна, (2) – амниотическая оболочка, (3) – лимфоцитарно-плазмоцитарная инфильтрация с грануляциями, (4) – соединительная ткань. а - Окраска гематоксилином и эозином, ув. 100, б – трихромная окраска по Массону, ув. 100.

Fig. 3. Histological changes 3 weeks after surgery: (1) nerve fibers, (2) amniotic membrane, (3) lymphocytic-plasmocytic infiltration with granulations, (4) connective tissue. a - hematoxylin and eosin staining, magnification 100, b – trichromic Masson staining, magnification 100.



а)

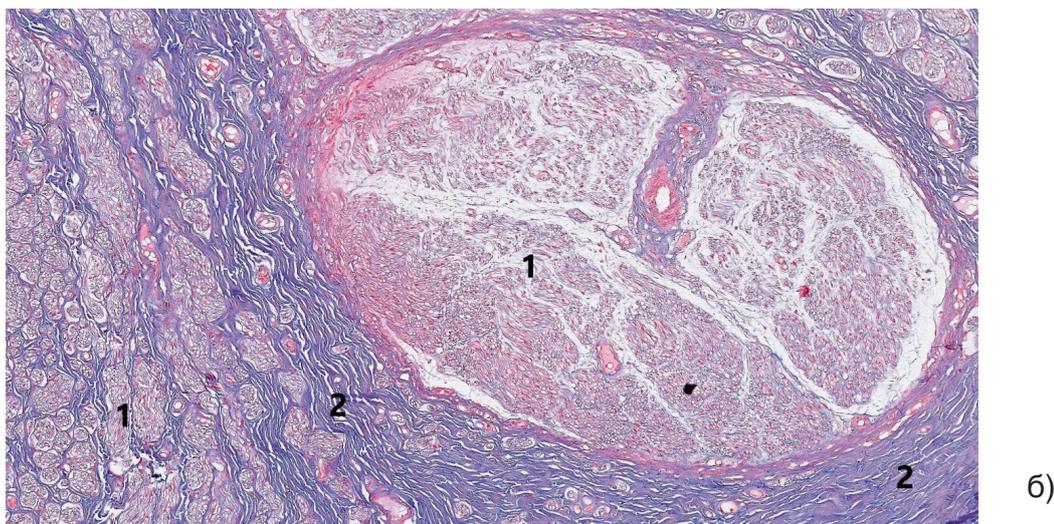


Рис. 4. Фиброзные изменения вокруг нервных волокон: (1) – нервные волокна, (2) – фиброзированная соединительная ткань. а - Окраска гематоксилином и эозином, ув. 100, б – трихромная окраска по Массону, ув. 100.

Fig. 4. Fibrous changes around nerve fibers: (1) – nerve fibers, (2) – fibrotic connective tissue. a - hematoxylin and eosin staining, magnification 100, b – trichromic Masson staining, magnification 100.

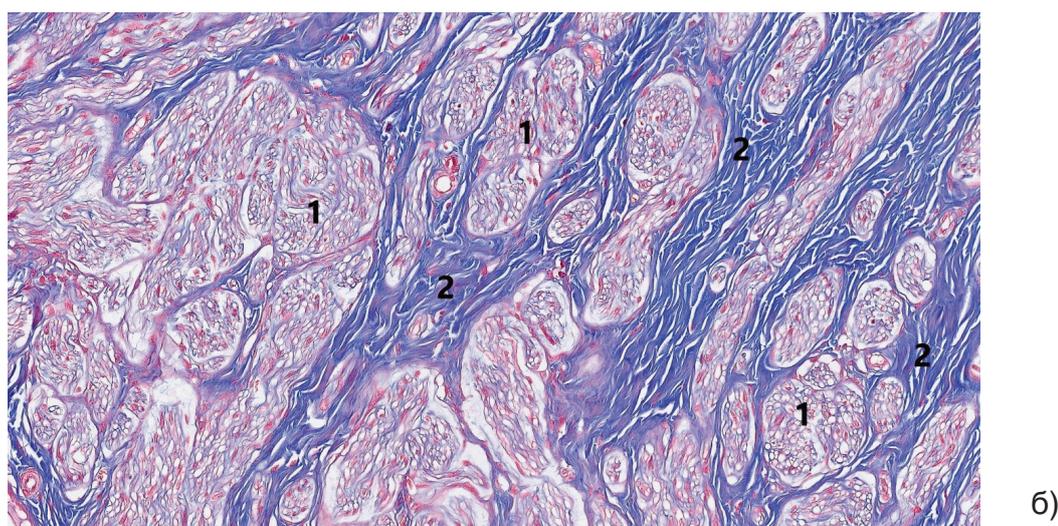
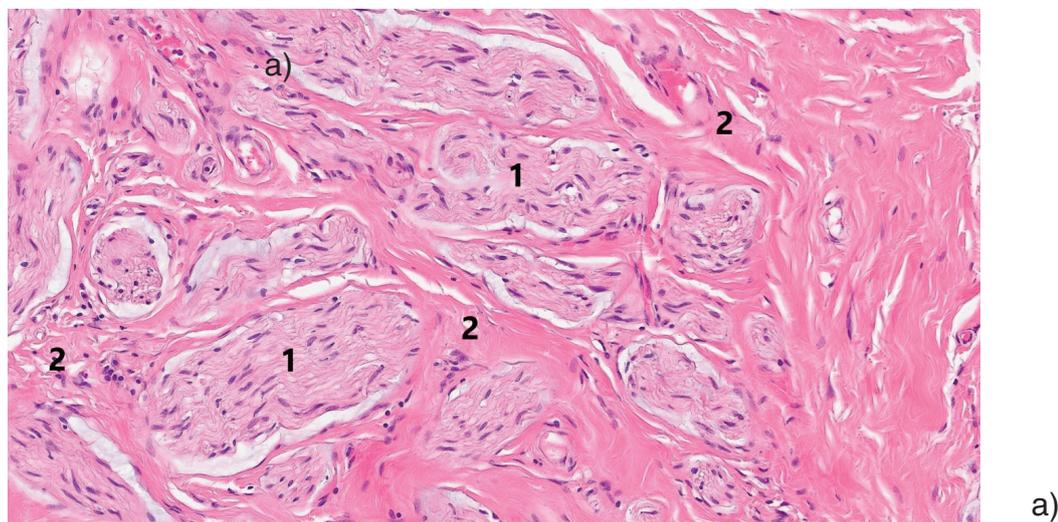


Рис. 5. Фиброзные изменения нервных волокон: (1) – нервные волокна, (2) – фиброзированная соединительная ткань. а - Окраска гематоксилином и эозином, ув. 200, б – трихромная окраска по Массону, ув. 200.

Fig. 5. Fibrous changes of nerve fibers: (1) – nerve fibers, (2) – fibrotic connective tissue. a - hematoxylin and eosin staining, magnification 200, b – trichromic Masson staining, magnification 200.

Заключение

Результаты данного экспериментального исследования показывают, что применение амниотической оболочки безопасно, а также может способствовать снижению образования рубцовой ткани и воспалительной реакции. Амниотическую мембрану стоит рассматривать как перспективный биоматериал для профилактики патологического рубцевания, улучшения послеоперационных исходов и протекции нервов у пациентов нейрохирургического профиля. Уникальный состав регу-

ляторных молекул позволяет минимизировать избыточное отложение внеклеточного матрикса и способствовать регенерации тканей. Однако, несмотря на многообещающие результаты, применение амниотической оболочки требует дальнейшего изучения оптимальных протоколов применения и стандартизации производства. Необходимы рандомизированные клинические исследования для оценки долгосрочных результатов и сравнения с существующими методами профилактики рубцевания.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ/REFERENCES

- Velnar T., et al. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *J Int Med Res.* 2009;37;5:1528-1542.
- Reinke J.M., Sorg H. Wound Repair and Regeneration. *Eur Surg Res.* 2012;49;1:35-43.
- Koh T.J., DiPietro L.A. Inflammation and Wound Healing: the Role of the Macrophage. *Expert Rev Mol Med.* 2011;13:e23.
- Barrientos S., et al. Growth Factors and Cytokines in Wound Healing. *Wound Repair Regen.* 2008;16;5:585-601.
- Desmoulière A., et al. Transforming Growth Factor-Beta 1 Induces Alpha-Smooth Muscle Actin Expression in Granulation Tissue Myofibroblasts and Quiescent and Growing Cultured Fibroblasts. *J Cell Biol.* 1993;122;1:103-111.
- Tracy L.E., et al. The Roles of Myofibroblasts in Wound Healing and Fibrosis. *Transl Res.* 2021;228:32-46.
- Velnar T, et al. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *J Int Med Res.* 2009;37;5:1528-1542.
- Xue M., Jackson C.J. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and its Impact on Abnormal Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2015;4;3:119-136.
- Hinz B., et al. Myofibroblast Development Is Characterized by Specific Cell-Cell Adherens Junctions. *Mol Biol Cell.* 2004;15;9:4310-20.
- Reinke J.M., Sorg H. Wound Repair and Regeneration. *Eur Surg Res.* 2012;49;1:35-43.
- Desmoulière A., et al. Apoptosis Mediates the Decrease in Cellularity During the Transition Between Granulation Tissue and Scar. *Cell Death Differ.* 1995;2;3:175-187.
- Xue M., Jackson C.J. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and its Impact on Abnormal Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2015;4;3:119-136.
- Reinke J.M., Sorg H. Wound Repair and Regeneration. *Eur Surg Res.* 2012;49;1:35-43.
- Bayat A., et al. Genetic Susceptibility to Keloid Disease and Hypertrophic Scarring: Transforming Growth Factor β 1 Common Polymorphisms. *Plast Reconstr Surg.* 2003;111;2:634-646.
- Deeken C.R., et al. Prospective Evaluation of Molecular-Enriched Dermal Matrix in Development of Human Adipose-Derived Stem Cell-Based Therapies for Scarring. *Stem Cells Transl Med.* 2016;5;2:212-225.
- Cirman T., et al. Amnion Membrane Matches the Healing Characteristics of Preterm Neonatal Skin. *Placenta.* 2021;107:21-29.
- Bailo M., et al. Engraftment Potential of Human Amnion and Chorion Cells Derived from Term Placenta. *Transplantation.* 2004;78;10:1439-1448.
- Zhang D., et al. Amniotic Membrane Extract Inhibits Oxidative Stress and Profibrotic Pathways in Human Fibroblasts Via a Novel Transcription Factor Nanoparticle Construct. *Biomaterials.* 2019;192:141-153.
- Niknejad H., et al. Inhibition of Protease-Activated Receptor-2 Induces Differential Expression of Transforming Growth Factor-Beta and Impacts its Signaling Pathways. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;48:93-103.
- Mamede A.C., et al. Amniotic Membrane: from Structure and Functions to Clinical Applications. *Cell Tissue Res.* 2012;349;2:447-458.
- Wolbank S., et al. Cytokine-Regulated Expression of Suppressed NF-kappaB Gene Products Comprises a Model for Inflammation-Related Anti-Apoptotic Signaling in Human Amniotic Membrane-Derived Cells. *J Cell Biochem.* 2010;111;1:1-11.
- Buhimschi C.S., et al. The Novel Stem Cell Biology of Human Amnion and its Therapeutic Applications. *FASEB J.* 2022;36;3:e22215.
- Koizumi N., et al. Growth Factor mRNA and Protein in Preserved Human Amniotic Membrane. *Curr Eye Res.* 2000;20;3:173-177.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Поступила: 13.09.2024. **Принята к публикации:** 11.10.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study had no sponsorship.

Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.

Article received: 13.09.2024. **Accepted for publication:** 11.10.2024