

УДК 616.5-089-74-089.819.843:577.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-97-104>

Морфологический анализ местной тканевой реакции на подкожную имплантацию фрагментов ацеллюлярного дермального матрикса

Мелконян К.И.¹, Веревкин А.А.¹, Сотниченко А.С.¹, Русинова Т.В.¹, Козмай Я.А.¹,
Асякина А.С.¹, Карташевская М.И.¹, Гуревич К.Г.², Быков И.М.¹

¹ Кубанский государственный медицинский университет (КубГМУ)
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, 4

² Московский государственный медико-стоматологический университет (МГМСУ) им. А.И. Евдокимова
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1

РЕЗЮМЕ

Ацеллюлярные дермальные матриксы (АДМ) набирают большую популярность в качестве хирургических материалов при операциях на органах малого таза, в ожоговой терапии и пластической хирургии. Проверка биосовместимости материалов является важным и необходимым этапом при разработке новых АДМ.

Цель исследования – провести сравнительный анализ результатов подкожной имплантации крысам АДМ и нативной дермы свиньи.

Материалы и методы. Для получения АДМ использовали детергентно-энзиматический метод децеллюляризации. Через 7, 14, 21, 60 сут после имплантации АДМ (экспериментальная группа) и нативной дермы свиньи (контрольная группа) животных выводили из эксперимента. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, трихромом по Массону, выполняли иммуногистохимическую реакцию с антителами к CD3 и CD68. Компьютерную морфометрию проводили с помощью программы ImageJ.

Результаты. На 7-е сут в экспериментальной группе отмечалось умеренное асептическое воспаление, в контрольной группе – выраженное асептическое воспаление с эозинофилами в инфильтрате. На 14-е сут в экспериментальной группе показано относительно низкое содержание макрофагов и Т-лимфоцитов с незначительным отеком, без биодеградации АДМ. В контрольной группе выявлено выраженное воспаление, инфильтрация большим количеством макрофагов и Т-лимфоцитов, а также фрагментация коллагеновых волокон. На 21-е сут вокруг АДМ сформировалась тонкая капсула, в инфильтрате малое количество Т-лимфоцитов и макрофагов, коллагеновые волокна имплантата были интактны. В образцах контрольной группы – выраженное воспаление с присутствием значительного количества лимфоцитов и макрофагов, фрагментация и васкуляризация имплантата. На 60-е сут вокруг АДМ воспалительной реакции не наблюдалось, биодеградация была минимальной, вокруг фрагмента нативной дермы свиньи сформировалась плотная фиброзная капсула.

Заключение. Разработанный АДМ обладает низкой иммуногенностью и малой степенью биодеградации. Это позволяет использовать данную конструкцию для дальнейших исследований по созданию полноценного хирургического материала, безопасного для применения в клинической практике.

Ключевые слова: регенеративная медицина, дерма, децеллюляризация, морфологический анализ, подкожная имплантация, ацеллюлярный дермальный матрикс

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-П-20.1/11.

✉ Мелконян Карина Игоревна, kimmelkonian@gmail.com

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено независимым этическим комитетом КубГМУ (протокол № 87 от 24.03.2020).

Для цитирования: Мелконян К.И., Веревкин А.А., Сотниченко А.С., Русинова Т.В., Козмай Я.А., Асякина А.С., Карташевская М.И., Гуревич К.Г., Быков И.М. Морфологический анализ местной тканевой реакции на подкожную имплантацию фрагментов ацеллюлярного дермального матрикса. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):97–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-97-104>.

Morphological analysis of a local tissue response to subcutaneously implanted acellular dermal matrix fragments

Melkonyan K.I.¹, Verevkin A.A.¹, Sotnichenko A.S.¹, Rusinova T.V.¹, Kozmai Ya.A.¹, Asyakina A.S.¹, Kartashevskaya M.I.¹, Gurevich K.G.², Bykov I.M.¹

¹Kuban State Medical University

4, Mitrofana Sedina Str., Krasnodar, 350063, Russian Federation

²A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry

20/1, Delegatskaya Str., Moscow, 127473, Russian Federation

ABSTRACT

Acellular dermal matrices (ADMs) are gaining popularity as surgical materials for operations on the pelvic organs, as well as in burn therapy and plastic surgery. Evaluation of the biocompatibility of surgical materials is an important and necessary step in the development of new ADMs.

The aim of the study was to compare the results of subcutaneous implantation of ADM and native porcine skin in rats.

Materials and methods. To obtain ADMs, detergent – enzymatic decellularization was used. On days 7, 14, 21, and 60 after the implantation of ADMs (the experimental group) and native porcine skin (the control group), the animals were removed from the experiment. The histologic sections were stained with hematoxylin – eosin and Masson’s trichrome stain, then an immunohistochemical reaction with antibodies to CD3 and CD68 was performed. Computer morphometry was carried out using the ImageJ software.

Results. On day 7 after the implantation, moderate sterile inflammation in the experimental group and pronounced sterile inflammation with eosinophil infiltration in the control group were observed. On day 14 of the experiment, the samples from the experimental group were characterized by a relatively low content of macrophages and T-lymphocytes with insignificant edema and no signs of ADM biodegradation. The control group showed pronounced inflammation, a large number of infiltrating macrophages and T lymphocytes, as well as fragmentation of collagen fibers. On day 21 of the experiment, a thin capsule was formed around ADM, there was a small number of infiltrating T lymphocytes and macrophages, the collagen fibers of the implant were intact. In the samples of the control group, there was pronounced inflammation with the presence of a significant number of lymphocytes and macrophages, as well as fragmentation and vascularization of the implant. On day 60 of the experiment, no inflammatory response was observed around ADM, biodegradation was minimal, and a dense fibrous capsule was formed around the fragment of the native porcine skin.

Conclusion. The experimental ADM has low immunogenicity and a low degree of biodegradation, which makes it possible to use it for further research to create efficient surgical material that is safe for use in clinical practice.

Keywords: regenerative medicine, dermis, decellularization, morphological analysis, subcutaneous implantation, acellular dermal matrix

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by Kuban Science Foundation within the research project No. MFI-P-20.1/11.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by independent Ethics Committee at Kuban

State Medical University (Protocol No. 87 of 24.03.2020). The study was carried out in compliance with the principles of humanity set out in the European Council directives (86/609/EEC) and the ethical requirements of the Declaration of Helsinki revised in 2013.

For citation: Melkonyan K.I., Verevkin A.A., Sotnichenko A.S., Rusinova T.V., Kozmai Ya.A., Asyakina A.S., Kartashevskaya M.I., Gurevich K.G., Bykov I.M. Morphological analysis of a local tissue response to subcutaneously implanted acellular dermal matrix fragments. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):97–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-97-104>.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы широко используются ацеллюлярные (децеллюляризованные) материалы для создания тканеинженерных каркасов и культивирования на них клеток [1]. Существуют различные техники децеллюляризации, получившие широкое признание в регенеративной медицине [2]. С помощью этих методов можно создавать тканеспецифические каркасы, наиболее точно имитирующие физические и химические сигналы, необходимые для прикрепления, пролиферации, миграции, дифференциации и восстановления функций клеток [3].

Одним из самых перспективных результатов в хирургической практике является применение ацеллюлярных дермальных матриц (АДМ) [4]. В последнее время АДМ набирают все большую популярность в качестве хирургических материалов при операциях на органах малого таза, в ожоговой терапии и пластической хирургии, в том числе и при реконструктивной маммопластике [5]. В пластической хирургии они используются как при радикальной кожносохраняющей мастэктомии, так и при вторичных операциях при деформациях груди в качестве поддерживающих эндопротез материалов [6]. Главным положительным качеством АДМ является возможность их «встраивания» в структуру собственной ткани пациента, прорастания сосудами и нервами, а значит, и их функционирования как собственной ткани [7]. Можно также отметить и такие их достоинства, как возможность не использовать расширители тканей, снижение послеоперационных болей, сокращение времени оперативного вмешательства, ускорение процессов регенерации и лучший эстетический результат [7, 8]. Особым преимуществом АДМ является наличие коллагена как одного из основных компонентов дермы. По сравнению с каркасами на основе других биологических или синтетических полимеров коллагеновые матрицы оптимальны для адгезии и роста клеток как *in vitro*, так и *in vivo*, обладают высокой биосовместимостью и низкой иммуногенностью, а также возможностью регуляции биодegradации за счет способности образовывать комплексы с биологически активными веществами. Последнее стимули-

рует пролиферацию фибробластов и формирование собственных тканей пациента [6].

На сегодняшний день имеется несколько хирургических материалов на основе АДМ, использующихся в косметической хирургии для реконструкции мягких тканей – AlloDerm, Strattice, DermaMatrix, SurgiMend, Permacol, Veritas, FlexHD. Однако не все аналоги могут применяться в отечественной хирургии в связи с законодательством (DermaMatrix, Dermalogen, AlloDerm, Cymetra), а материалы из бычьего коллагена вызывают сильную аллергическую реакцию.

Наиболее многообещающими в данном вопросе являются АДМ на основе дермы свиньи (Evolence, Strattice, Fibroquel, Permacol), использование которых резко снижает риск аллергических осложнений в хирургии [9]. Более того, использование дермы свиньи, которую можно получать из продуктов вторичного сырья, увеличивает производительность методики получения материалов. Тем не менее данные АДМ имеют крайне высокую стоимость, что ставит перед современной регенеративной медициной задачу по созданию более экономичного аналога. Первым этапом создания любого АДМ выступает оценка его биосовместимости [10]. Он не должен повреждать заселяющие его клетки или вызывать реакцию отторжения, при этом его биомеханические свойства должны быть сопоставимы с нативными тканями. Чтобы оценить соответствие полученного АДМ предъявляемым требованиям, целесообразно сравнить ранние и отдаленные результаты гетеротопической ксенотрансплантации разработанного нами АДМ и нативной дермы.

Цель исследования – провести сравнительный морфологический анализ результатов подкожной имплантации крысам разработанного АДМ и нативной дермы свиньи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы нативной дермы свиньи породы Ландрас толщиной 0,7 мм брали после предварительного удаления эпителиального слоя дерматомом в стерильных условиях и замораживали при температуре –80 °С. Для получения АДМ дерму инкубировали в течение

6 ч (3 цикла по 2 ч) при 37 °С в растворе Трипсина-Версена (Биолот, Россия). Затем проводили два цикла обработки 1%-м триконом X-100 (Sigma-Aldrich, США) и 4%-м раствором дезоксихолата натрия (Sigma-Aldrich, США) в комбинации с 0,002 М Na₂-ЭДТА общей продолжительностью 12 ч при комнатной температуре в шейкере-инкубаторе (170 об/мин). Затем образцы инкубировали в растворе свиной панкреатической ДНКазы (Sigma-Aldrich, США; 2 000 ЕД в 200 мл фосфатного буфера) при 37 °С в течение 4 ч. Для обеспечения стерильности образцов во все рабочие среды были добавлены 1%-е растворы гентамицина и амфотерицина В. Между циклами и при каждой смене растворов образцы отмывали деионизированной водой в течение 10 мин. Для определения остаточного количества в образцах ДНК использовали спектрофотометр NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, США) и набор реагентов Dneasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Швеция). Для оценки качества децеллюляризации образцы окрашивали гематоксилином и эозином (Histolab, Швеция), а также флуорофором DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндол; Sigma-Aldrich, США).

Подкожная имплантация образцов выполнялась на самцах крыс линии Wistar массой 200–230 г в возрасте 6 мес ($n = 32$), образцы (3 × 3 мм) помещали в подкожный карман на холке. Животных разделили на контрольную и экспериментальную группы, каждая включала в себя 4 подгруппы по 4 особи. Крысам контрольной группы были имплантированы образцы нативной дермы свиньи, а экспериментальной группе – полученный нами АДМ.

В сроки 7, 14, 21 и 60 сут после проведения подкожной имплантации образцы подвергали гистологическому и иммуногистохимическому анализу. Морфологический анализ проводили на пяти независимых биопсийных фрагментах образцов, для каждого из них было выполнено и проанализировано девять срезов. Для гистологической оценки тканей выполняли окрашивание гематоксилином и эозином по Массону (БиоВитрум, Россия) согласно инструкции изготовителя. При иммуногистохимическом исследовании использовали термическую демаски-

ровку антигена и поликлональные антитела к Т-лимфоцитарному рецептору – CD3 (кат. номер ab11089, Abcam, Великобритания) и к макросялину моноцитов и макрофагов – CD68 (кат. номер ab955, Abcam, Великобритания). Все образцы до и после имплантации исследовали с помощью микроскопа Olympus CX 41 (Olympus, Япония) при различном увеличении. Для количественной оценки патогистологических изменений использовали компьютерную морфометрию с помощью программы ImageJ (National Institution of Health, США) и плагина IHC metrics. Оценку диаметра кровеносных сосудов и коллагеновых волокон выполняли с помощью инструмента «ручное выделение». При количественном подсчете результатов иммуногистохимического исследования использовали цветовую сегментацию с выделением зеленого канала, бинаризацию по цвету и инструмент «анализатор частиц».

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с помощью программы MedCalc Statistical Software (Бельгия). Для проверки характера распределения значений в вариационных рядах использовали критерий Шапиро – Уилка. Поскольку распределение отличалось от нормального, результаты представлены в виде медианы, интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Достоверность различий оценивали с помощью U -критерия Манна – Уитни. Нулевая гипотеза отвергалась при значении порога доверительной вероятности $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным спектрофотометрии выявлено, что в нативной дерме свиньи количественное содержание ДНК составляет 314,4 [300,7; 333,7] нг на 1 мг ткани, а в АДМ – 60,14 [55,34; 63,58] нг на 1 мг ткани, что соответствует критериям качества децеллюляризации тканей [11]. Относительно низкое содержание остаточных нуклеиновых кислот в АДМ говорит в пользу малого иммуногенного потенциала полученной конструкции.

При визуальной оценке АДМ имел характерный молочно-белый цвет, гистологическое исследование структуры не выявило неповрежденных клеток и свечения ядерных структур при окраске DAPI (рис. 1).



Рис. 1. Этапы децеллюляризации дермы и гистологический анализ полученного АДМ: *a* – внешний вид нативной дермы свиньи, *b* – внешний вид АДМ, *c* – окраска гематоксилином и эозином, после децеллюляризации, клеточные ядра отсутствуют; ×20

На 7-е сут после имплантации в экспериментальной группе отмечалось умеренно выраженное асептическое воспаление. В клеточном инфильтрате, по данным иммуногистохимического исследования и компьютерной морфометрии, было выявлено 12,70 [12,19; 13,09] макрофагов и 1,87 [1,56; 2,04] лимфоцитов на 1 мм² площади среза, а также незначительное количество нейтрофилов. При окрашивании трихромом по Массону были хорошо заметны неповрежденные коллагеновые волокна имплантированной конструкции толщиной 12,88 [11,87; 13,60] мкм. В образцах из контрольной группы в те же сроки

наблюдалось выраженное асептическое воспаление с примесью эозинофилов в воспалительном инфильтрате, а также хорошо заметное полнокровие сосудов кожи и мышц спины. При окрашивании по Массону отмечено пропитывание имплантата кровью и инфильтрация воспалительными клетками – 9,03 [8,94; 9,16] макрофагов и 1,91 [1,84; 1,99] лимфоцитов на 1 мм² (рис. 2). Следует отметить, что количество лимфоцитов в экспериментальной группе не отличалось от контрольной группы ($p = 0,062$), а число макрофагов было статистически значимо выше ($p = 0,043$) (рис. 2, 3).

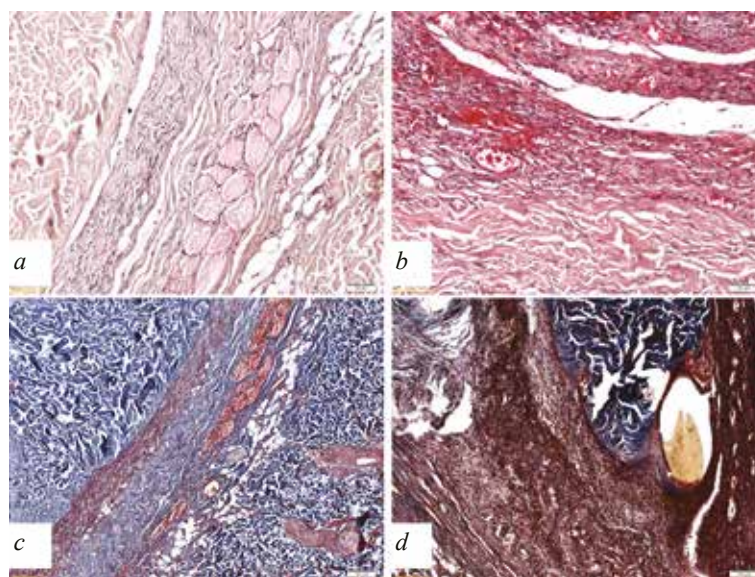


Рис. 2. Гистологическая оценка препаратов АДМ и нативной дермы свиньи после подкожной имплантации экспериментальным животным на 7-е сут: *a* – АДМ, гематоксилин и эозин, *b* – нативная дерма свиньи, гематоксилин и эозин, *c* – АДМ, трихром по Массону, *d* – нативная дерма свиньи, трихром по Массону; $\times 20$

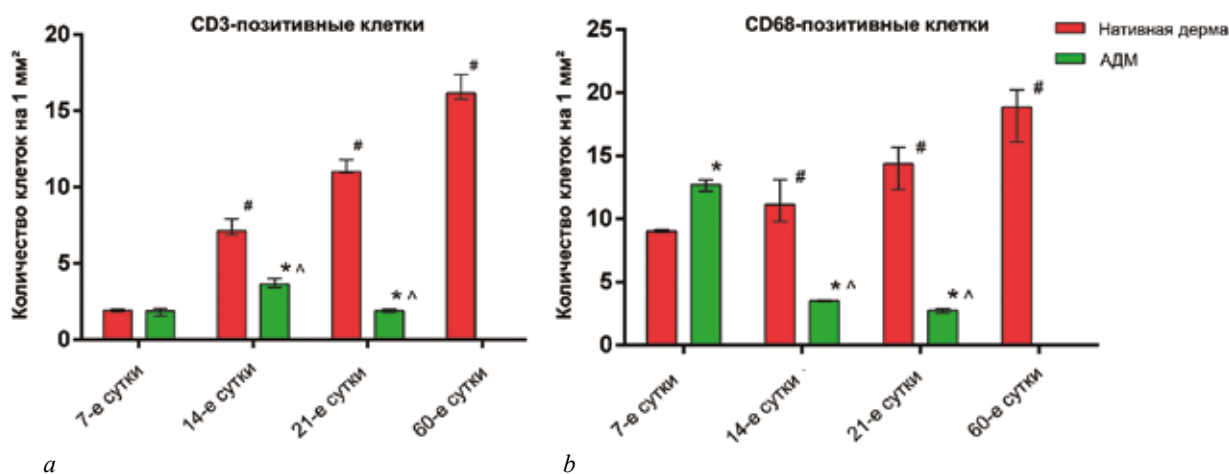


Рис. 3. Иммунофенотипирование воспалительного инфильтрата на различных сроках эксперимента: *a* – динамика содержания Т-лимфоцитов (слева), *b* – динамика содержания макрофагов (справа), $Me [Q_1; Q_3]$. * значимость отличий между контрольной и экспериментальной группой, $p < 0,05$; # значимость отличий для значений контрольной группы на разные сроки, $p < 0,05$; ^ значимость отличий для значений экспериментальной группы на разные сроки, $p < 0,05$

На 14-е сут в образцах экспериментальной группы было отмечено образование тонкой соединительнотканной капсулы вокруг имплантированной конструкции. Толщина капсулы составляла 18,17 [14,73; 20,32] мкм, в стенках были отмечены единичные макрофаги (3,50 [3,44; 3,54] CD68-позитивных клеток на 1 мм² среза по данным компьютерной морфометрии). Кнаружи от нее имелся тонкий слой грануляционной ткани. Отмечалось слабо выраженное полнокровие сосудов в месте имплантации, средний диаметр сосудов составил 30,97 [29,71; 31,82] мкм. Не выявлено деградации коллагеновых волокон АДМ и его инфильтрации воспалительными клетками. В образцах эксплантационной нативной дермы свиньи нами была отмечена картина воспаления вокруг инородного тела с преобладанием относительно большого числа макрофагов (11,13 [9,79; 13,11] CD68⁺ клеток по данным компьютерной морфометрии) по сравнению с этим показателем в экспериментальной

группе на 14-е сут ($p = 0,007$) и с контрольной группой на 7-е сут ($p = 0,033$). Вокруг имплантата сформировалась более плотная толстостенная капсула со средней толщиной 165,2 [152,90; 188,80] мкм по сравнению с экспериментальной группой ($p = 0,003$).

Коллагеновые волокна имплантата были фрагментированы, отечны, имели выраженную оксифильную реакцию среды и были пропитаны кровью с примесью нейтрофилов и макрофагов. Было выявлено значительное количество тонких полнокровных сосудов непосредственно вблизи капсулы (средний диаметр 20,81 [19,41; 21,61] мкм) (рис. 4). Кроме того, наблюдалось большее число CD3-позитивных клеток в двух группах животных относительно предыдущего срока эксплантации образцов – 3,66 [3,42; 4,01] клеток на 1 мм² для экспериментальной группы ($p = 0,039$) и 7,14 [6,87; 7,93] клеток на 1 мм² для контрольной группы ($p = 0,041$).

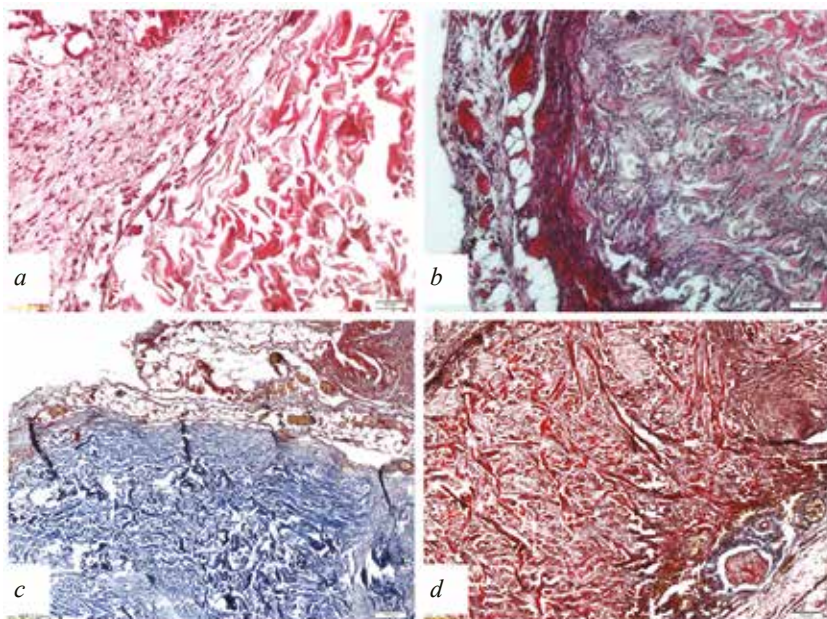


Рис. 4. Гистологическая оценка препаратов АДМ и нативной дермы свиньи после подкожной имплантации экспериментальным животным на 14-е сут: *a* – АДМ, гематоксилин и эозин, *b* – нативная дерма свиньи, гематоксилин и эозин, *c* – АДМ, трихром по Массону, *d* – нативная дерма свиньи, трихром по Массону; $\times 20$

Спустя 21 сут после имплантации АДМ в образцах толщина капсулы вокруг имплантата составляла 10,02 [9,95; 10,10] мкм и наблюдалось небольшое количество клеток воспаления: на 1 мм² среза – 2,73 [2,54; 2,89] CD68-позитивных макрофагов и 1,90 [1,76; 1,99] CD3-позитивных лимфоцитов, что было значительно ниже, чем в контрольной группе ($p = 0,012$ и $p = 0,009$ соответственно). Средний диаметр капилляров составлял 26,61 [19,48; 31,52] мкм, полнокровия кровеносных сосудов не наблюдалось. Коллагеновые волокна инкапсулированного АДМ были полностью сохранены и имели диаметр 11,67 [10,02; 14,50] мкм. Кроме того, не обнаружено скопления лейкоцитов в АДМ или пропитывания его

кровью. У животных контрольной группы в те же сроки наблюдалось формирование плотной соединительнотканной капсулы толщиной 66,53 [61,24; 7,59] мкм; были отмечены многочисленные небольшие скопления Т-лимфоцитов, CD68-позитивных макрофагов (содержание составило 14,37 [12,33; 15,65] клетки на 1 мм² среза) и клеток инородных тел. Интересно, что наряду с выраженной инкапсуляцией было отмечено появление полнокровных сосудов диаметром 23,80 [19,24; 27,76] мкм внутри образца, что свидетельствовало об активной его биодеградации. Коллагеновые волокна были набухшими и частично разрушенными – толщина их варьировала от 5 до 37 мкм. В толще имплантата при-

существовали макрофаги и Т-лимфоциты, что также подтверждало иммунное отторжение.

На 60-е сут после подкожной имплантации АДМ был окружен соединительнотканной капсулой (толщина 13,83 [12,03; 15,54] мкм), воспалительные явления полностью отсутствовали. Иммуногистохимическая реакция не выявила наличия макрофагов и Т-лимфоцитов в месте имплантации. Атрофия окружающих тканей отсутствовала, отмечался очаговый реактивный липоматоз. Коллагеновые волокна имплантата диаметром 15,06 [12,45; 15,99] мкм были полностью сохранены, явления биодеградации в нем минимальны. В образцах контрольной группы отме-

чалась значительная деградация имплантата за счет его лизиса макрофагами, а также сохраняющееся перифокальное воспаление.

Количественная оценка показала присутствие 15,79 [14,50; 17,67] Т-лимфоцитов и 18,86 [16,09; 20,22] макрофагов на 1 мм² среза ткани, что было значимо выше относительно предыдущей контрольной точки ($p = 0,008$ и $p = 0,048$ соответственно). Вокруг фрагмента нативной дермы свиньи сформировалась многослойная капсула толщиной 107,20 [91,32; 117,50] мкм, окружающие ее сосуды были полнокровны и имели диаметр 28,50 [26,32; 31,45] мкм (рис. 5).

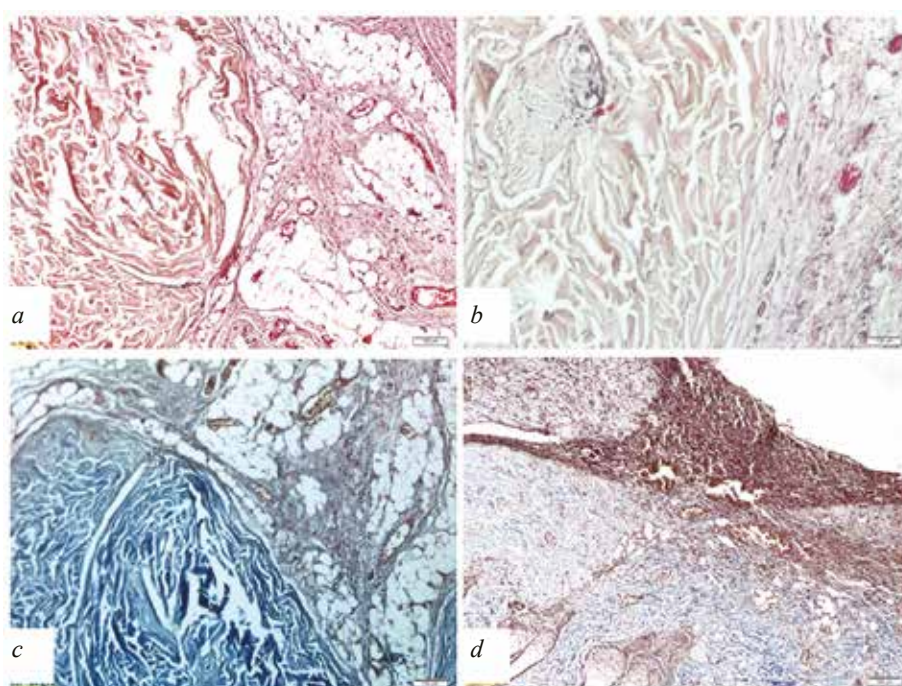


Рис. 5. Гистологическая оценка препаратов АДМ и нативной дермы свиньи после подкожной имплантации экспериментальным животным на 60-е сут: *a* – АДМ, гематоксилин и эозин, *b* – нативная дерма свиньи, гематоксилин и эозин, *c* – АДМ, трихром по Массону, *d* – нативная дерма свиньи, трихром по Массону; $\times 20$

Таким образом, результаты иммунофенотипирования воспалительного инфильтрата вокруг и непосредственно внутри имплантата на различных сроках эксперимента позволяют утверждать, что полученный АДМ, по сравнению с нативной дермой свиньи, обладает минимальной иммуногенностью. В пользу низких антигенных свойств АДМ говорит также относительно слабая воспалительная реакция и тонкая соединительнотканная капсула вокруг имплантированного фрагмента, отмеченная в срезах на поздних этапах эксперимента. При этом на всем протяжении исследования коллагеновые волокна, представляющие собой основную составляющую организованного внеклеточного матрикса дермы и обуславливающие ее механические свойства, оставались практически интактными. В то же самое время вследствие выраженного воспалительного ответа имплан-

тированная нативная дерма свиньи подверглась значительной биодеградации, о чем свидетельствовала фрагментация коллагеновых волокон, наличие полнокровных капилляров, а также плотная фиброзная капсула, окружающая имплантированный фрагмент.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что разработанный нами АДМ обладает низкой иммуногенностью и малой степенью биодеградации. Это позволяет апробировать протокол его получения и использовать данную конструкцию как отправную точку для проведения дальнейших исследований по изучению биологических и биомеханических свойств АДМ для создания полноценного хирургического материала, безопасного для применения в клинической практике.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Brouki Milan P., Pazouki A., Joghataei M.T., Mozafari M., Amini N., Kargozar S. et al. Decellularization and preservation of human skin: A platform for tissue engineering and reconstructive surgery. *Methods*. 2020;171:62–67. DOI: 10.1016/j.ymeth.2019.07.005.
2. Gholipourmalekabadi M., Bandehpour M., Mozafari M., Hashemi A., Ghanbarian H., Sameni M. et al. Decellularized human amniotic membrane: More is needed for an efficient dressing for protection of burns against antibiotic-resistant bacteria isolated from burn patients. *Burns*. 2015;41(7):1488–1497. DOI: 10.1016/j.burns.2015.04.015.
3. Nowacki M., Nowacka K., Kloskowski T., Pokrywczyńska M., Tyloch D., Rasmus M. et al. Are agricultural and natural sources of bio-products important for modern regenerative medicine? A review. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2017;11;24(2):207–212. DOI: 10.5604/12321966.1235171.
4. Hsu P.W., Salgado C.J., Kent K., Finnegan M., Pello M., Simons R. et al. Evaluation of porcine dermal collagen (Permacol) used in abdominal wall reconstruction. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2009;62(11):1484–1489. DOI: 10.1016/j.bjps.2008.04.060.
5. JoAnna Nguyen T., Carey J.N., Wong A.K. Use of human acellular dermal matrix in implant-based breast reconstruction: evaluating the evidence. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2011;64(12):1553–1561. DOI: 10.1016/j.bjps.2011.02.001.
6. Shekhter A.B., Fayzullin A.L., Vukolova M.N., Rudenko T.G., Osipychcheva V.D., Litvitsky P.F. Medical applications of collagen and collagen-based materials. *Cur. Med. Chem.* 2019;26(3):506–516. DOI: 10.2174/0929867325666171205170339.
7. Hartzell T.L., Taghinia A.H., Chang J., Lin S.J., Slavin S.A. The use of human acellular dermal matrix for the correction of secondary deformities after breast augmentation: results and costs. *Plast. Reconstr. Surg.* 2010;126(5):1711–1720. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181ef900c.
8. Гуменюк А.С., Ушмаров Д.И., Гуменюк С.Е., Гайворонская Т.В., Сотниченко А.С., Мелконян К.И. и др. Перспективы применения многослойных раневых покрытий на основе хитозана в стоматологической практике. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020;27(1):27–39. DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-1-27-39.
9. Lucey P., Goldberg D.J. Complications of collagen fillers. *Facial. Plast. Surg.* 2014;30(6):615–622. DOI: 10.1055/s-0034-1396904.
10. Liu Y., Bharadwaj S., Lee S., Atala A., Zhang Y. Optimization of a natural collagen scaffold to aid cell-matrix penetration for urologic tissue engineering. *Biomaterials*. 2009;30(23–24):3865–3873. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.04.008.
11. Crapo P.M., Gilbert T.W., Badylak S.F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32(12):3233–3243. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057.

Вклад авторов

Мелконян К.И., Русинова Т.В. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Веревкин А.А., Сотниченко А.С. – выполнение экспериментальной части исследования, анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Козмай Я.А., Асякина А.С., Карташевская М.И. – обзор публикаций по теме статьи, анализ и интерпретация данных. Гуревич К.Г., Быков И.М. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Мелконян Карина Игоревна – канд. мед. наук, доцент, зав. ЦНИЛ, КубГМУ, г. Краснодар, kimmelkonian@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2451-6813>

Веревкин Александр Александрович – науч. сотрудник, лаборатория фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, КубГМУ, г. Краснодар, vilehand@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4159-2618>

Сотниченко Александр Сергеевич – канд. мед. наук, зав. лабораторией фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, КубГМУ, г. Краснодар, alex24.88@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7322-0459>

Русинова Татьяна Викторовна – канд. биол. наук, науч. сотрудник, ЦНИЛ, КубГМУ, г. Краснодар, rusinova.tv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2962-3212>

Козмай Яна Андреевна – мл. науч. сотрудник, лаборатория фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, КубГМУ, г. Краснодар, yana.kozmay@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5043-4315>

Асякина Алевтина Сергеевна – лаборант-исследователь, лаборатория фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, КубГМУ, г. Краснодар, alevtina.asyakina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5596-7783>

Карташевская Марина Игоревна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра дерматовенерологии, КубГМУ, г. Краснодар, marinaikar@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9060-2969>

Гуревич Константин Георгиевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой ЮНЕСКО «Здоровый образ жизни – залог успешного развития», МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, kgurevich@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7603-6064>

Быков Илья Михайлович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, КубГМУ, г. Краснодар, ilya.bh@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1787-0040>

✉ Мелконян Карина Игоревна, kimmelkonian@gmail.com

Поступила в редакцию 19.04.2021;
одобрена после рецензирования 20.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021