

НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

Обзорная статья
УДК 611.013.83:615.014.41
<https://doi.org/10.17021/2712-8164-2025-3-6-11>

3.1.9. Хирургия (медицинские науки)

ОБЗОР СПОСОБОВ КОНСЕРВАЦИИ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

Алексей Михайлович Гапоник, Юрий Марьянович Киселевский
Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Аннотация. Способы укрытия раневых поверхностей в процессе хирургического лечения различных заболеваний диктуют необходимость использования собственных тканей организма пациента, синтетических конструкций, а также аллогенного донорского материала. Среди последних все больший интерес исследователей привлекает амниотическая мембрана. Однако с целью сохранения структуры и свойств амниона необходимо использование определенных консервирующих сред и температурных режимов. Приведен обзор некоторых способов консервации амниотической мембранны.

Ключевые слова: амниотическая мембрана, способы консервации донорского материала, укрепление линии кишечных швов

Для цитирования: Гапоник А. М., Киселевский Ю. М. Обзор способов консервации амниотической мембранны // Прикаспийский вестник медицины и фармации. 2025. Т. 6, № 3. С. 6–11. <https://doi.org/10.17021/2712-8164-2025-3-6-11>.

SCIENTIFIC REVIEWS

Review article

REVIEW OF METHODS OF AMNIOTIC MEMBRANE PRESERVATION

Alexey M. Gaponik, Yuri M. Kiselevsky
Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Abstract. Methods for covering wound surfaces during surgical treatment of various diseases necessitate the use of the patient's own tissues, synthetic constructs, and allogeneic donor material. Among the latter, the amniotic membrane is attracting increasing interest from researchers. However, preserving the structure and properties of the amnion requires the use of specific preservative media and temperature regimes. In this article, we provide an overview of several methods for preserving the amniotic membrane.

Key words: amniotic membrane, methods of preserving donor material, strengthening the intestinal suture line

For citation: Gaponik A. M., Kiselevsky Y. M. Review of methods of amniotic membrane preservation. Caspian Journal of Medicine and Pharmacy. 2025; 6 (3): 6–11. <https://doi.org/10.17021/2712-8164-2025-3-6-11> (In Russ.).

Введение. Большинство операций в абдоминальной хирургии сопровождается вскрытием просвета полых органов. После выполнения оперативного приема необходимо восстановить непрерывность кишечной трубки, при этом следует обеспечить прочность и герметичность линии кишечных швов. Особый химический состав и агрессивные свойства содержимого, увеличение количества микрофлоры по мере приближения к дистальным отделам желудочно-кишечного тракта, топографо-анатомические особенности строения брюшной полости – эти и многие другие факторы определяют тяжесть течения послеоперационного периода в результате несостоительности швов и развития перитонита. В таких условиях использование разгрузочных кишечных стом приводит к выраженным белково-электролитным нарушениям, а при стабилизации состояния требуется повторное оперативное вмешательство [1]. В связи с этим в настоящее время активно изучаются способы ушивания дефектов кишечной трубки, а также укрепления линии кишечных швов с использованием пластических материалов.

Это могут быть как собственные ткани организма, синтетические конструкции, так и аллогенные донорские ткани. Среди последних все больший интерес исследователей привлекает амниотическая мембрана (АМ).

АМ представляет собой оболочку толщиной до 500 мкм, покрывающую плод и состоящую из пяти слоев. Каждый из них имеет характерные особенности, которые обуславливают противомикробные, противовоспалительные, антифибротические и антиангиогенные свойства АМ. Кроме того, клетки амниона не содержат на поверхности классических HLA-A, B-, C- и DR-антител, поэтому АМ не обладает иммуногенными свойствами [2].

Обнаружено, что АМ гистологически напоминает боуменову мембрану, а именно – содержанием коллагена I, III, IV, V и VII типов, ламина, фибронектина, и способна интегрироваться в роговичную строму [3, 4]. Более того, исследованиями доказана схожесть структуры ламина-1,-5, фибронектина и коллагена VII типа в базальных мембранах конъюнктивы, роговицы и амниотической мембраны [4]. В связи с этим АМ широко применяется в качестве трансплантата в офтальмологии.

С учетом морфологической структуры и свойств АМ существует несколько механизмов действия амниона в качестве пластического материала. Ингибция ангиогенеза, воспаления, рубцевания, а также активация эпителилизации и антимикробные эффекты дают возможность применять АМ как биологический каркас. Кроме того, в последнее время амнион используют как субстрат для выращивания стволовых и эпителиальных клеток [5].

В связи с этим АМ нашла свое применение в дерматологии, офтальмологии, гинекологии и многих других областях. Так, проведены доклинические и клинические исследования по использованию амниотической оболочки в лечении таких заболеваний и патологических состояний, как первичный птеригиум, острый химический ожог роговицы, ожоги кожи, фиброз печени, инфаркт миокарда и др. [2]. В эксперименте была доказана эффективность использования АМ для укрепления линии эвертированного механического шва тонкой кишке [6] и укрытия межкишечного анастомоза, наложенного по типу конец-в-конец ручным способом [7].

Таким образом, имеются позитивные данные по использованию амниона в качестве пластического материала в различных областях хирургии.

Немаловажными остаются и биоэтические вопросы забора трансплантата. В Республике Беларусь к трансплантационному материалу, в частности к АМ, предъявляются строгие требования. Среди них следует отметить наличие добровольного согласия роженицы на забор АМ, выраженного в письменной форме, удостоверенного нотариально [8].

Однако любая эксплантированная ткань вне консервирующего раствора подвергается деструкции. Происходит разрушение морфологической структуры и, следовательно, потеря свойств биологического материала. При консервации амниона особое внимание уделяют сохранению морфологии эпителия, так как факторы роста и цитокины, локализующиеся в эпителиальных клетках АМ, посредством изменения локальной среды обуславливают способности трансплантата влиять на процессы регенерации [4].

С целью сохранения механических и биологических свойств АМ предложены различные консервирующие среды и разработаны специальные температурные режимы. К сожалению, ни один из способов не является универсальным. Кроме того, некоторые из них имеют сложную методику и требуют использования дорогостоящей аппаратуры.

Ниже приводем некоторые способы консервации АМ с кратким описанием соответствующей методики.

Консервация в растворах антибиотиков. После отделения от хориона амнион промывают в стерильном физиологическом растворе до очищения от кровяных сгустков. Затем мембрану помещают во флаконы с раствором антибиотиков и хранят при температуре +2...+4 °C. Такая методика предусматривает хранение материала не более 2 недель, что является существенным недостатком такого способа консервации [7].

Криоконсервация АМ с использованием криопротекторов. По способности проникать внутрь клетки криопротекторы разделяются на мембранопроникающие и мембранонепроникающие. Первые препятствуют формированию кристаллов льда за счет образования водородных связей с молекулами воды, к ним относятся глицерин, диметилсульфоксид, пропиленгликоль, этиленгликоль. Вторые оказывают свое действие путем снижения скорости образования кристаллов и защиты клетки от осмотических перепадов, к ним относятся сахароза, трегалоза, фиколл, альбумин, поливинилпирролидон, декстран [9].

Согласно одной методике консервации АМ, плаценту очищают от кровяных сгустков и несколько раз промывают в стерильном физиологическом растворе и в растворе антибиотиков. Затем АМ

отделяют от хориона тупым способом, укладывают на нитроцеллюлозную бумагу, разрезают на диски удобного размера и хранят в растворе, содержащем по 50 % глицерина и среды Игла при температуре минус 70 °С. Сохраненная по данной методике АМ может использоваться в течение 2 лет [5].

Согласно другой методике, мембрану консервируют при минус 196 °С под защитой 5 % диметилсульфоксида по четырехэтапной программе медленного замораживания с контролируемым кристаллообразованием. Такая технология криоконсервации предусматривает сохранность жизнедеятельности клеток АМ после ее размораживания, что сводит потерю свойств амниона к минимуму [10]. Наконец, имеются данные о консервации АМ в среде Борзенка – Мороз с глицеролом и антибиотиком. Перед использованием данные образцы отмывают от криопротектора путем помещения в среду DMEM/F12 и инкубируют при температуре 36 °С в течение суток [11].

Высушивание над силикагелем. Силикагель – химическое соединение, обладающее пористостью, благодаря чему способно поглощать определенный процент влаги к сухому весу ткани. Иногда теряется до 80 % веса консервируемой ткани [12]. Имеются данные об успешном использовании консервированной силиковысшенной и дополнительно подвергнутой стерилизации гамма-лучами АМ «Флексамер» [4]. Согласно наблюдениям других авторов, с целью создания условий стимуляции регионарных стволовых клеток роговичного эпителия выполнено временное покрытие роговицы силиковысшенной пластифицированной АМ «ФЛЕКСАМЕР» [13]. Наконец, имеются данные о необходимости дополнительной стерилизации УФ-лучами в течение часа на расстоянии 10 см от источника силиковысшенной по стандартной методике АМ [11]. Однако в случае применения данной методики в роговице были отмечены грубые нарушения в структуре нуклеиновых кислот в сроки консервации до 15 суток, что свидетельствовало о гибели высшенной роговицы [12].

Лиофилизация. Лиофилизация (быстрое замораживание и сублимация) является одним из методов длительного консервирования тканей [12]. Существует метод, при котором в результате сублимации воды до 5–10 % содержания свойства АМ изменяются минимально [14]. Согласно другим источникам, лиофилизованный в вакууме амнион изготавливают из криоконсервированных амнионов. Образцы отмывают от криопротектора путем помещения в среду DMEM/F12 и инкубируют при температуре 36 °С в течение суток. Затем замораживают до минус 80 °С и помещают в лиофильную сушку («Thermo Heto PowerDry PL3000», США). После создания в камере вакуума проводят постепенное нагревание полки, на которой располагается амнион, с 21 до 36 °С со скоростью 1 °С/ч в течение 15 ч. В заключение выдерживают образец в вакууме при температуре 36 °С еще 9 ч. Затем дополнительно стерилизуют УФ-лучами в течение часа на расстоянии 10 см от источника [11]. Однако доказано, что лиофилизация ухудшает трансплантационные свойства консервируемых тканей [12].

Консервация в растворе глицерина. При помощи данного метода минимизируется перекисное окисление липидов, снижается скорость других реакций разложения, что также приводит к наибольшей сохранности АМ [14]. Так, при консервации в растворе 98 % глицерина и хранении при температуре + 4 °С срок использования материала составляет 1 год [5].

Консервация в растворе формалина. При использовании 0,25 % раствора формалина для консервации свежей АМ отмечают полную сохранность структуры и тинкториальных свойств трансплантата. С другой стороны, по мере увеличения концентрации формалина происходят дистрофические и деструктивные изменения клеток [15]. Однако консервированная таким способом мембрана может выполнять только функцию синтетического барьера [12].

Получение экстракта амниотической мембранны. Амнион получают после кесарева сечения, выделяя его из плодных оболочек в стерильных условиях и трижды отмывая раствором Хэнкса. АМ массой 5 г измельчают до фрагментов размером 2–3 мм, последние смешивают с кварцевым песком (размер частиц 0,1 мм) и гомогенизируют ручным способом. Далее эмульсию супензируют и центрифугируют в течение 10 мин. Надосадочную жидкость фильтруют через бактериальный фильтр и аликвоты отфильтрованного экстракта разливают в одноразовые флаконы и хранят до использования при минус 20 °С [16].

Гипербарическая оксигенация. В последнее десятилетие активно изучается метод консервации тканей в оксигипербарической среде в условиях гипотермии, что уменьшает окислительные процессы, увеличивает время жизнеспособности тканей, ликвидирует кислородную недостаточность, а также позволяет предотвратить развитие обменных процессов по анаэробному пути [12].

Выводы. Амниотическая мембрана широко применяется в офтальмологии и других областях хирургии. Предложено множество способов консервации амниотической мембранны, и каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Поэтому дальнейшее изучение структуры и свойств амниона поможет, с одной стороны, разработать эффективный способ укрепления кишечных швов

и линии межкишечных анастомозов, с другой – создать такие условия консервации, в которых морфология и биологический потенциал трансплантационного материала будут сохраняться более длительное время.

Раскрытие информации. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Disclosure. The authors declare that they have no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие их авторства международным критериям ICMJE. Все авторы внесли равный вклад в подготовку публикации: разработка концепции статьи, сбор и анализ данных, написание и редактирование текста статьи, окончательное утверждение версии для публикации.

Authors' contribution. The authors declare compliance with the international ICMJE criteria for authorship. All authors made an equal contribution to the preparation of the manuscript: development of the article concept, data acquisition and analysis, drafting and revising the manuscript, final approval of the version to be published.

Источник финансирования. Авторы заявляют, что внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи не было.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and publication of this article.

Список источников

1. Будашев В. П., Григорьев Е. Г., Лепехова С. А., Гольдберг О. А., Цыбиков Е. Н., Капсалыкова Л. Н. Методы оптимизации кишечного анастомозирования в условиях экспериментального распространенного гнойного перитонита // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАМН. 2006. № 6. С. 139–146.
2. Косова Д. А., Александров Л. С., Ищенко А. И., Трифонова Н. С., Никонов А. П., Лаврентьева К. И., Агеев М. Б., Федорова Е. В., Люндуп А. В., Жолобова М. Н., Беришвили М. В., Проклова Г. Ф., Землина Н. С., Науменко Н. С. Применение амниотических оболочек в клинической медицине // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2023. Т. 22, № 5. С. 69–78.
3. Гаврилюк И. О., Александрова О. И., Кузнецова А. Ю., Машель Т. В., Селезнев А. С., Черныш В. Ф., Чурашов С. В., Блинова М. И., Куликов А. Н. Механическая подготовка амниотической мембранны при создании биоинженерных конструкций для восстановления эпителия роговицы // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2019. № 4. С. 116–120.
4. Милюдин Е. С., Кучук К. Е., Братко О. В. Консервированная амниотическая мембрана в структуре тканеинженерного комплекса переднего эпителиального слоя роговицы // Биология и экспериментальная медицина. 2016. Т. 33, № 5. С. 47–53.
5. Ситник Г. В., Яхницкая Л. К. Применение амниотической мембраны в офтальмохирургии // Медицинский журнал. 2005. № 3. С. 119–122.
6. Волков О. Е., Завада Н. В., Ладутько И. М. Экспериментальное обоснование применения метода ушивания разрыва тонкой кишки эвертированным механическим швом с использованием амниотической мембранны // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2017. Т. 16, № 3. С. 38–45.
7. Купченко А. М., Становенко В. В., Шаркова Л. И. Экспериментальное обоснование возможности использования амниотической мембранны в хирургической практике // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации / [ред. А. Т. Щастный ; зам. ред. С. А. Сушков]. – Витебск: Витебский гос. мед. ун-т, 2020. С. 31–33.
8. Об утверждении клинических протоколов: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 13 февр. 2023 г. № 31. С. 210–211. URL: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W22339846r>.
9. Воронин Г. В., Осипян Г. А., Труфанов С. В., Будникова Е. А., Розинова В. Н., Суббот А. М., Макарова М. А. Методы консервации донорских роговиц // Вестник офтальмологии. 2018. № 5. С. 238–243.
10. Середа Е. В., Дрожжина Г. И., Гайдамака Т. Б., Вит В. В. Влияние жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембранны человека при ее фиксации к роговице швовым материалом на особенности течения моделированного бактериального кератита // Офтальмологический журнал. 2015. № 5. С. 35–41.
11. Ченцова Е. В., Боровкова Н. В., Макаров П. В., Боженко Д. А., Пономарев И. Н., Сторожева М. В., Макаров М. С. Биологический эффект комбинации лизата тромбоцитов и амниотической мембранны в культуре буккального эпителия // Российский офтальмологический журнал. 2022. № 15. С. 115–120.
12. Подопригора Р. Н. Методы консервации донорского материала // Вестник Оренбургского государственного университета. 2004. № 13. С. 100–103.
13. Васильев А. М., Андреев А. Н. Опыт применения силиковысущенного имплантата амниотической мембранны «Флексамер» для лечения персистирующих дефектов роговицы // Acta medica Eurasica. 2016. № 4. С. 1–4.

14. Острожинский Я. А., Шуст Л. Г., Чистый А. А. Патофизиологические аспекты различных методов холодовой консервации донорских тканей человека // Научный медицинский вестник Югры. 2021. Т. 1, № 5. С. 126–128.
15. Искандарова М. А. Оценка регенеративной активности амниотической мембраны после консервации // XII Конгресс Международной ассоциации морфологов и VII съезд Российского научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов. 2014. Т. 145, № 3. С. 83.
16. Малышев Д. С., Рудько А. С., Куликов А. Н., Черныш В. Ф. Влияние экстракта амниотической мембраны на эпителизацию и неоваскуляризацию в моделях повреждения роговицы // Тихоокеанский медицинский журнал. 2018. № 2. С. 46–49.

References

1. Budashev V. P., Grigoriev E. G., Lepekhova S. A., Goldberg O. A., Tsybikov E. N., Kapsalykova L. N. Methods for optimizing intestinal anastomosis in conditions of experimental widespread purulent peritonitis. Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya RAMN = Bulletin of the All-Russian Scientific Center SB RAMS. 2006; 6: 139–146 (In Russ.).
2. Kosova D. A., Aleksandrov L. S., Ishchenko A. I., Trifonova N. S., Nikonorov A. P., Lavrentieva K. I., Ageev M. B., Fedorova E. V., Lyndup A. V., Zholobova M. N., Berishvili M. V., Proklova G. F., Zemlina N. S., Naumenko N. S. Application of amniotic membranes in clinical medicine. Voprosy ginekologii, akushерства и перинатологии = Issues of Gynecology, Obstetrics and Perinatology. 2023; 22 (5): 69–78 (In Russ.).
3. Gavriluk I. O., Aleksandrova O. I., Kuznetsova A. YU., Mashel T. V., Seleznev A. S., Chernysh V. F., Churashov S. V., Blinova M. I., Kulikov A. N. Mechanical preparation of amniotic membrane in the creation of bioengineered structures for the restoration of corneal epithelium. Vestnik Rossiyskoy Voyenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy. 2019; 4: 116–120 (In Russ.).
4. Milyudin E. S., Kuchuk K. E., Bratko O. V. Preserved amniotic membrane in the structure of the tissue-engineered complex of the anterior corneal epithelial layer. Biologiya i eksperimentalnaya meditsina = Biology and Experimental Medicine. 2016; 33 (5): 47–53 (In Russ.).
5. Sitnik G. V., Yakhnitskaya L. K. Use of amniotic membrane in ophthalmic surgery. Meditsinskiy zhurnal = Medical Journal. 2005; 3: 119–122 (In Russ.).
6. Volkov O. E., Zavada N. V., Ladutko I. M. Experimental justification for the use of the method of suturing a small intestinal rupture with an everted mechanical suture using an amniotic membrane. Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of Vitebsk State Medical University. 2017; 16 (3) 38–45 (In Russ.).
7. Kupchenko A. M., Stanovenko V. V., Sharkova L. I. Experimental substantiation of the possibility of using amniotic membrane in surgical practice. Dostizheniya fundamentalnoy, klinicheskoy meditsiny i farmatsii = Achievements of fundamental, clinical medicine and pharmacy. Ed. by A. T. Shchastny. Vitebsk: Vitebsk State Medical University; 2020: 31–33 (In Russ.).
8. Ob utverzhdenii klinicheskikh protokolov: postanovleniye Ministerstva zdravookhraneniya Respubliki Belarus = On approval of clinical protocols. Resolution of the Ministry of Health of the Republic of Belarus. February 13, 2023; 31: 210–211. URL: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W22339846p> (In Russ.).
9. Voronin G. V., Osipyan G. A., Trufanov S. V., Budnikova Ye. A., Rozinova V. N., Subbot A. M., Makarova M. A. Methods of preservation of donor corneas. Vestnik oftalmologii = Bulletin of Ophthalmology. 2018; 5: 238–243 (In Russ.).
10. Sereda Ye. V., Drozhzhina G. I., Gaydamaka T. B., Vit V. V. Effect of viable cryopreserved human amniotic membrane fixed to the cornea with suture material on the course of modeled bacterial keratitis. Oftalmologicheskiy zhurnal = Ophthalmological Journal. 2015; 5: 35–41 (In Russ.).
11. Chentsova Ye. V., Borovkova N. V., Makarov P. V., Bozhenko D. A., Ponomarev I. N., Storozheva M. V., Makarov M. S. Biological effect of a combination of platelet lysate and amniotic membrane in buccal epithelial culture. Rossiyskiy oftalmologicheskiy zhurnal = Russian Ophthalmological Journal. 2022; 15: 115–120 (In Russ.).
12. Podoprígora R. N. Methods of preservation of donor material. Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of the Orenburg State University. 2004; 13: 100–103 (In Russ.).
13. Vasiliev A. M., Andreev A. N. Experience of using silicone-dried amniotic membrane implant “Flexamer” for the treatment of persistent corneal defects. Acta medica Eurasica. 2016; 4: 1–4 (In Russ.).
14. Ostrozhinsky Ya. A., Shust L. G., Chisty A. A. Pathophysiological aspects of various methods of cold preservation of human donor tissues. Nauchnyy meditsinskiy vestnik Yugry = Scientific Medical Bulletin of Yugra. 2021; 1 (5): 126–128 (In Russ.).
15. Iskandarov M. A. Evaluation of the regenerative activity of the amniotic membrane after preservation. XII Kongress Mezhdunarodnoy assotsiatsii morfologov i VII sezd Rossiyskogo nauchnogo meditsinskogo obshchestva anatomov, histologov i embriologov = XII Congress of the International Association of Morphologists and VII Congress of the Russian Scientific Medical Society of Anatomists, Histologists and Embryologists. 2014; 145 (3) 83 (In Russ.).
16. Maltsev D. S., Rudko A. S., Kulikov A. N., Chernysh V. F. The effect of amniotic membrane extract on epithelialization and neovascularization in corneal damage models. Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal. 2018; 2: 46–49 (In Russ.).

Информация об авторах

A. M. Гапоник, ассистент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь, ORCID: 0009-0004-9758-0108, e-mail: ahaponik@mail.ru;

Ю. М. Киселевский, кандидат медицинских наук, доцент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь, ORCID: 0000-0003-3120-7605, e-mail: kiselevsky@grsmu.by.

Information about the authors

A. M. Gaponik, Assistant Professor, Grodno State Medical University, Grodno, Belarus, ORCID: 0009-0004-9758-0108, e-mail: ahaponik@mail.ru;

Yu. M. Kiselevsky, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Grodno State Medical University, Grodno, Belarus, ORCID: 0000-0003-3120-7605, e-mail: kiselevsky@grsmu.by.