#### DOI: 10.32364/2587-6821-2024-8-4-3

# Применение аллогенного диспергированного биоматериала для профилактики рубцовых осложнений при реплантации конечностей (экспериментальное исследование)

# С.А. Муслимов<sup>1</sup>, Р.К. Ибрагимов<sup>1,2</sup>, А.И. Лебедева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа, Российская Федерация <sup>2</sup>ООО «Мастерская красоты +», Уфа, Российская Федерация

#### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования:** в ходе экспериментальной работы выявить характер рубцовых изменений после реплантации конечности и изучить возможность предупреждения фиброза с помощью аллогенного биоматериала.

Материал и методы: эксперимент проведен на 48 крысах-самцах (по 24 в контрольной и опытной группах). Операция заключалась в круговом разрезе мягких тканей в средней трети бедра с последующим микрохирургическим сшиванием сосудов, нервов, мышц и кожи. В опытной группе на раневые поверхности перед сшиванием наносили аллогенный диспергированный биоматериал (АДБ), представляющий собой стерильный порошок, приготовленный из децеллюляризированной соединительной ткани. Животных выводили из опыта через 7, 14, 30 и 90 сут после операции. Образцы тканей из зоны операции подвергали гистологическому и иммуногистохимическому исследованию: оценивали экспрессию трансформирующего фактора роста (TGF-β1), фактора некроза опухоли (TNF-α), антигена главного комплекса гистосовместимости (HLA-DR), маркера миосателлитоцитов (MyoD).

**Результаты исследования:** в контрольной группе через 90 сут после операции вокруг сосудов и нервов обнаруживались фиброзные муфты, а также очаги фиброза между сшитыми мышцами, т. е. складывалась типичная картина асептического воспаления. Указанный процесс сопровождался высокой экспрессией TGF-β1 и HLA-DR при низкой экспрессии TNF-α. В опытной группе частицы АДБ подвергались биодеградации макрофагами и резорбции. Вокруг сшитых сосудов и нервов фиброзные оболочки состояли из более тонких, чем в группе контроля, пучков коллагеновых волокон. В местах сшивания мышц рубцовые изменения не определялись. В более поздние сроки (через 30 и 90 сут) сосуды и нервы были окружены тонкими пучками коллагеновых волокон. Экспрессия TNF-α значимо превосходила таковую в контрольной группе, тогда как экспрессия TGF-β1и HLA-DR оставалась на низком уровне. Со временем (через 90 сут) происходило заживление дефекта и обнаруживалось снижение экспрессии указанных цитокинов в обеих группах. У животных опытной группы начиная с 14 сут эксперимента выявлялись МуоD<sup>+</sup>-миосателлитоциты, что указывало на регенерацию мышечных волокон. У животных контрольной группы в течение эксперимента МуоD<sup>+</sup>-клетки не выявлялись.

Заключение: проведенное экспериментальное исследование показало, что при реплантации конечности возникает асептическое воспаление, в пролиферативной фазе которого формируются фиброзные муфты вокруг воссоединенных сосудов и нервов, а также очаговый фиброз между фрагментами сшитых мышц, с высокой экспрессией TGF-β1 и HLA-DR. Использование АДБ позволяет изменить течение раневого процесса за счет активации макрофагов провоспалительного фенотипа, что проявляется значительно более высокой экспрессией TNF-α, коррелирующей с низкой экспрессией TGF-β1 и HLA-DR. В этих условиях происходит ингибирование фиброза вокруг сосудов и нервов и регенерация поврежденных мышечных волокон. Таким образом, применение АДБ при реплантации конечности способствует предупреждению фиброза вокруг сосудов и нервов и стимулирует прогениторные мышечные клетки.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА**: реплантация, воспаление, фиброз, аллогенный биоматериал, макрофаги, TGF-β1, TNF-α, HLA-DR, миосателлитоциты, MyoD.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Муслимов С.А., Ибрагимов Р.К., Лебедева А.И. Применение аллогенного диспергированного биоматериала для профилактики рубцовых осложнений при реплантации конечностей (экспериментальное исследование). РМЖ. Медицинское обозрение. 2024;8(4):201–207. DOI: 10.32364/2587-6821-2024-8-4-3.

# Dispersed allogeneic biomaterials for the prevention of cicatricial complications during limb replantation (research study)

#### S.A. Muslimov<sup>1</sup>, R.K. Ibragimov<sup>1,2</sup>, A.I. Lebedeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation <sup>2</sup>"Masterskaya Krasoty +" LLC, Ufa, Russian Federation

#### ABSTRACT

Aim: during research study, to identify the nature of cicatricial changes after limb replantation and to study the possibility of preventing fibrosis using an allogeneic biomaterial.

**Materials and Methods:** the research was conducted on 48 male rats (24 each in the control and experimental groups). The operation consisted of a circular incision of soft tissues in the middle third thigh, followed by microvascular stitches of blood vessels, nerves, muscles and skin. In the experimental group, a dispersed allogeneic biomaterial (DAB), which is a sterile powder prepared from decellularized connective tissue, was applied to wound surfaces before stitching. The subjects were withdrawn from the study 7, 14, 30 and 90 days after surgery. Tissue samples from the surgical area were subjected to histology and immunohistochemistry: the expression of transforming growth factor (TGF- $\beta$ 1), tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), antigen of the main histocompatibility complex (HLA-DR), myosatellitocyte marker (MyoD) was evaluated.

201

**Results:** in the control group 90 days after surgery, fibroblastic sleeve was found around the vessels and nerves, as well as fibroblast foci between the stitched muscles, therefore, a typical picture of aseptic inflammation. This process was accompanied by high TGF- $\beta$ 1 and HLA-DR expression with low TNF- $\alpha$  expression. In the experimental group, DAB particles were biodegraded by macrophages and resorption. Fibrous membranes around the stitched vessels and nerves consisted of collagen fibers thinner than in the control group. Cicatricial changes were not detected at the sites of muscle stitching. At a later date (30 and 90 days), the vessels and nerves were surrounded by thin collagen fibers. TNF- $\alpha$  expression significantly exceeded that in the control group, while the TGF- $\beta$ 1 and HLA-DR expression remained at a low level. Given time (90 days), a defect cicatrization and a decrease in these cytokines expression were detected in both groups. Starting from the 14<sup>th</sup> day of the study, MyoD+myosatellitocytes were detected in the subjects of the experimental group, which indicated the muscle fiber regeneration. No MyoD+cells were detected in the subjects of the control group during the study.

**Conclusion:** conducted study showed that aseptic inflammation occured during limb replantation, in the proliferative phase of which fibroblastic sleeve formed around stitched vessels and nerves, as well as fibroblast foci between fragments of stitched muscles, accompanied by high TGF- $\beta$ 1 and HLA-DR expression. The DAB allows to change the wound process course due to the macrophages activation of the proinflammatory phenotype, which is manifested by a significantly higher TNF- $\alpha$  expression, correlating with low TGF- $\beta$ 1 and HLA-DR expression. Under these conditions, vascular fibrosis is inhibited and damaged muscle fibers are regenerated. Thus, the DAB use in limb replantation helps to prevent vascular fibrosis and stimulate progenitor muscle cells.

**KEYWORDS:** replantation, inflammation, fibrosis, allogeneic biomaterial, macrophages, TGF-β1, TNF-α, HLA-DR, myosatellitocytes, MyoD. **FOR CITATION:** *Muslimov S.A., Ibragimov R.K., Lebedeva A.I. Dispersed allogeneic biomaterials for the prevention of cicatricial complications during limb replantation (research study). Russian Medical Inquiry.* 2024;8(4):201–207 (*in Russ.*). DOI: 10.32364/2587-6821-2024-8-4-3.

#### Введение

медико-социальной Довольно распространенной проблемой в настоящее время является травматизм, частота которого растет в связи с широким использованием режущих инструментов в производственных процессах и в быту. Наиболее сложными для хирургического лечения являются случаи травматического отчленения конечностей, но с помощью операционного микроскопа и микрохирургического инструментария удается восстановить их анатомическую целостность. В большинстве случаев пациенты отмечают полную субъективную удовлетворенность результатом операции, однако при обследовании в отдаленные сроки после реплантации выявляется неполное функциональное восстановление [1, 2]. Одним из факторов, снижающих эффективность хирургического лечения при травмах с повреждением мышц, сосудов и нервов конечностей, считается рубцово-спаечный процесс, развитие которого вынуждает хирургов проводить повторные вмешательства [3, 4] и удлиняет период реабилитации [5]. Естественно полагать, что при реплантации конечностей со сшиванием сосудов, нервов и мышц развивающийся в той или иной степени фиброз должен влиять на результат операции, особенно проявляющийся в отдаленные сроки. Отсюда вытекает задача выяснения характера фиброзных изменений после реплантации, а также разработки методов их предупреждения. Описано применение в эксперименте коллагеновой мембраны и аутовены для снижения фиброзных изменений при сшивании нерва, однако гистологический анализ не выявил существенного уменьшения экстраневральной или интраневральной рубцовой ткани [6]. Более эффективными для коррекции и предупреждения фиброза зарекомендовали себя аллогенные биоматериалы, которые применяются как стимуляторы регенерации при замещении различных дефектов [7, 8].

Цель исследования: в ходе экспериментальной работы выявить характер рубцовых изменений после реплантации конечности и изучить возможность предупреждения фиброза с помощью аллогенного биоматериала.

#### Материал и методы

Эксперимент проведен на 48 половозрелых крысах-самцах породы Вистар (по 24 животных в контрольной и опытной группах). Техника операции заключалась в круговом разрезе мягких тканей в средней трети бедра без повреждения бедренной кости с последующим микрохирургическим сшиванием сосудов, нервов, мышц и кожи. В опытной группе на раневые поверхности перед сшиванием наносили аллогенный диспергированный биоматериал (АДБ), представляющий собой стерильный порошок из измельченной соединительной ткани, предварительно прошедшей физико-химическую обработку с целью децеллюляризации (технология Аллоплант<sup>®1</sup> [9], разработанная во Всероссийском центре глазной и пластической хирургии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Эксперимент проводили с соблюдением правил работы с лабораторными грызунами и кроликами<sup>2</sup> согласно приказу Минздрава России<sup>3</sup>. Операции проводили под операционным микроскопом Takagi OM-10 (Takagi, Япония). Для исследования динамики морфологических изменений животных выводили из опыта через 7, 14, 30 и 90 сут после операции. Гистологические срезы окрашивали по Ван Гизону, а также гематоксилином и эозином. Исследование и микрофотосъемку препаратов осуществляли с помощью микроскопа Leica DM 2500 (Leica, Германия) с программным обеспечением захвата и анализа изображений. Для иммуногистохимического исследования применяли непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия) с использованием иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond<sup>™</sup> (Германия). Применяли следующие антитела (АТ): АТ к трансформирующему фактору роста (TGF-β1) в разведении 1:300, АТ к фактору некроза опухоли (TNF-α) в разведении 1:300, АТ к антигену главного комплекса гистосовместимости (HLA-DR) в разведении 1:300, АТ к маркеру миосателлитоцитов (MyoD) в разведении 1:50 (Santa Cruz Biotechnology, США).

Специфичность реакции оценивали на срезах, окрашенных без первичных АТ. Подсчет клеток производили в 20 полях зрения каждого образца.

202

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Регистрационное удостоверение на медицинское изделие ФСР 2011/12012 ТУ 9398-001-04537642-2011 от 03.02.2015.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами».

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

Для статистической обработки данных был использован пакет программ Statistica 10,0. Из-за особенностей исходных данных использовали непараметрические методы — ранговый дисперсионный анализ по Краскелу — Уоллису и критерий Манна — Уитни для сравнения результатов отдельных сроков наблюдения внутри одной серии опытов или между ними. Различия считались статистически значимыми при p<0,05.

#### Результаты исследования

203

В контрольной группе в начальные сроки эксперимента (через 7 сут) в зоне операции отмечалась типичная картина альтерационной фазы асептического воспаления в виде инфильтрации полиморфноядерными лейкоцитами, макрофагами и фибробластами. Определялись признаки отека и плазматического пропитывания тканей. Через 14 сут от момента операции у животных появлялись морфологические признаки пролиферативной фазы воспаления: образование грануляционной ткани с выраженной инфильтрацией фибробластами и признаками интенсивного коллагеногенеза. Новообразованные коллагеновые волокна формировали пучки вокруг сшитых сосудов и нервов, а также между фрагментами поврежденных мышечных волокон. В более поздние сроки (через 30 сут) обнаруживалась тенденция к утолщению пучков коллагеновых волокон вокруг сосудов и нервов. Также наблюдалось утолщение пучков коллагеновых волокон, образующих перимизий и эндомизий. В структуре перимизия можно было видеть кровеносные сосуды, но в эндомизии они не обнаруживались. В конечный срок эксперимента (через 90 сут) наблюдались своеобразные фиброзные муфты вокруг сосудов и нервов, а также очаги фиброза между сшитыми мышцами. Признаки регенерации поврежденных мышечных волокон не обнаруживались в течение всего эксперимента, о чем свидетельствует отрицательный результат иммуногистохимического исследования по выявлению MyoD<sup>+</sup>-клеток. Динамика морфологических изменений в зоне операции у животных контрольной группы представлена на рисунке 1.

В опытной группе животных через 7 сут после операции наблюдались те же признаки начальной фазы асептического воспаления, что и в контрольной группе, но в клеточном



Рис. 1. Динамика морфологических изменений в зоне операции у животных контрольной группы. Окраска по Ван Гизону. *А* — образование грануляционной ткани, признаки коллагеногенеза вокруг сшитых сосудов и нервов через 14 сут с момента операции; В — утолщение пучков коллагеновых волокон вокруг сосудов и нервов (через 30 сут); С — выраженный фиброз вокруг сосудов через 90 сут после реплантации, видна деформация просвета артерии; D — фиброзный рубец в месте сшивания мышц через 90 сут после реплантации

#### Fig. 1. Morphological changes in the surgical area in the control group subjects. Van Gieson's stain.

A. Granulation tissue presence, signs of collagenogenesis around the stitched vessels and nerves for 14 days after surgery. B. Collagen fibers thickening around blood vessels and nerves (30 days). C. Marked vascular fibrosis 90 days after replantation, visible luminal deformity. D. Fibrotic scar at the site of muscle suturing 90 days after replantation

инфильтрате можно было наблюдать относительное преобладание макрофагов, которые концентрировались вокруг частиц введенного биоматериала. Через 14 сут в зоне оперативного вмешательства частицы биоматериала уже не определялись, но макрофагальная инфильтрация сохранялась. Слабо выраженные фиброзные оболочки вокруг сшитых сосудов и нервов состояли из более тонких, чем в контрольной группе, пучков коллагеновых волокон. В местах сшивания мышц рубцовые изменения не определялись. Перимизий и эндомизий были хорошо васкуляризованы. В более поздние сроки (через 30 и 90 сут) васкуляризация сохранялась, а оболочки вокруг сосудов и нервов были представлены относительно тонкими, рыхло расположенными пучками коллагеновых волокон. Иммуногистохимическое окрашивание для выявления МуоD<sup>+</sup>-клеток (миосателлитоциты) показало, что у животных опытной группы МуоD<sup>+</sup>-клетки начинали выявляться через 14 сут эксперимента, а через 30 сут их количество увеличивалось. Миосателлитоциты формировали тяжи прогениторных мышечных клеток, выстраивающихся конец-в-конец с последующим формированием миотуб, что свидетельствовало о регенерации мышечных волокон в месте повреждения (рис. 2).

Иммуногистохимическое исследование динамики экспрессии TGF-β1 выявило, что наиболее значимые показатели (наличие/отсутствие) обнаруживались в период до 30 сут, который совпадает с фазой пролиферации. У животных контрольной группы количество клеток, экспрессирующих TGF-β1, достоверно преобладало по сравнению с опытной группой. В начальные и конечные сроки внутри- и межгрупповые данные значимо не отличались (рис. 3).

При определении TNF-α выявлено, что в начальные сроки наблюдения экспрессия данного цитокина у животных опытной группы значимо превосходила таковую в контрольной группе. По мере прогрессирования



Рис. 2. Динамика морфологических изменений в зоне операции у животных опытной группы. Окраска по Ван Гизону. A — макрофагальная инфильтрация вокруг частиц АДБ (†) через 7 сут эксперимента; В — рыхлая волокнистая соединительная ткань вокруг кровеносных сосудов и мелких нервов через 30 сут после реплантации; С — микроструктура артерии и нерва в зоне сшивания через 90 сут после реплантации. Адвентиция артерии и эпиневрий представлены относительно тонкими пучками коллагеновых волокон. Просвет артерии не деформирован; D — МуоD<sup>+</sup>миосателлитоциты (†) в реактивной зоне через 30 сут (непрямой иммунопероксидазный метод выявления МуоD<sup>+</sup> с докраской гематоксилином)

#### Fig. 2. Morphological changes of the surgical area in the experimental group subjects. Van Gieson's stain.

A. Macrophage infiltration around DAB particles ( $\uparrow$ ) on day 7 of the study. B. Loose fibrous connective tissue around blood vessels and small nerves 30 days after replantation. C. Artery and nerve microstructure in the stitching area for 90 days after replantation. The adventitia of the artery and epineurium are represented by relatively thin collagen fibers. Arterial lumen is not deformed. D. MyoD<sup>+</sup>-myosatellitocytes ( $\uparrow$ ) in the reactive zone after 30 days (an indirect immunoperoxidase method for detecting MyoD<sup>+</sup> with hematoxylin staining)



Рис. 3. Динамика экспрессии TGF-β1<sup>+</sup>-клеток в реактивной зоне.

Здесь и на рис. 4, 5: КГ — контрольная группа, ОГ — опытная группа

**Fig. 3.** Changes of TGF- $\beta$ 1<sup>+</sup> cell expression in the reactive zone.

Here and on fig 4, 5: CG — control group, EG — experimental group

воспаления и перехода в пролиферативную фазу число TNF-α<sup>+</sup>-клеток в обеих группах увеличивалось и преобладало в опытной группе. Со временем (через 90 сут) происходило заживление дефекта и обнаруживалось снижение численности данных клеток в обеих группах (рис. 4).

Исследование экспрессии HLA-DR показало, что в начальные сроки наблюдения (14 сут) внутригрупповые данные численности клеток значимо не различались, что может быть связано с развитием стадии альтерации после повреждения мышечной ткани. Через 30 сут в количественном отношении HLA-DR<sup>+</sup>-клетки кратно увеличивались в контрольной группе по сравнению с опытной группой (р≤0,05). В конечные сроки (через 90 сут) наблюдения численность данных клеток резко сокращалась в соответствии с затуханием репаративного ответа (рис. 5).

# Обсуждение

Проведенное исследование показало, что динамика морфологических изменений у животных контрольной группы представляет собой стереотипный процесс асептического воспаления, развивающегося как реакция на операционную травму [10]. Как правило, пролиферативная фаза посттравматического воспаления заканчивается образованием фиброзного рубца [11]. Собственно, фиброзный рубец является следствием синтеза коллагена фибробластами [12]. Фактором, стимулирующим пролиферативную активность фибробластов и синтез коллагена, является цитокин TGF-β1, повышенная экспрессия которого отмечается в пролиферативной фазе воспаления [13]. Вышеизложенное описание подтверждают и результаты проведенного нами иммуногистохимического исследования: экспрессия TGF-61 у животных контрольной группы была относительно высокой и достигала пиковых значений через 30 сут после реплантации. Особенностью выявленных нами фиброзных изменений при реплантации конечности является то, что у животных контрольной группы рубец локализовался не только в местах



Рис. 4. Динамика экспрессии TNF- $\alpha^+$ -клеток в реактивной зоне





Рис. 5. Динамика экспрессии HLA-DR<sup>+</sup>-клеток в реактивной зоне

Fig. 5. Changes of HLA-DR $^+$  cell expression in the reactive zone

сшивания мышц, но и вокруг сшитых сосудов и нервов. Так как свойством рубцовой ткани является контракция, можно предположить, что фиброзные муфты, образующиеся вокруг сосудов и нервов, будут приводить к сужению просвета сосудов и сдавлению нервов и, следовательно, к ухудшению кровоснабжения и иннервации пришитого сегмента конечности. Клинически это может проявляться в виде жалоб оперированных пациентов на плохую переносимость холода [14, 15]. Между сшитыми фрагментами мышц нами также выявлены участки фиброза, причиной которого может быть высокая экспрессия TGF-*β*1. Установлено, что при повреждении скелетных мышц во взрослом организме TGF-β негативно влияет на их регенерацию, подавляя пролиферацию миосателлитоцитов, слияние миофибрилл и экспрессию некоторых специфичных для мышц генов [16]. Более того, TGF-β1 индуцирует трансформацию миогенных клеток в фиброзные [17].

Фактором, ингибирующим экспрессию TGF-β1, является TNF-α [18], который в основном высвобождается из стимулированных моноцитов и макрофагов [19]. В данном эксперименте такое подавление экспрессии TGF-β1 проявлялось через 14–30 сут после реплантации.

Определенный вклад в заживление раны с образованием фиброзного рубца, по-видимому, вносит и HLA-DR, сравнительно высокая экспрессия которого у животных контрольной группы наблюдалась на протяжении всего эксперимента. Отмечена тесная корреляция между экспрессией HLA-DR и фиброзом [20]. Выявленные различия в динамике экспрессии указанных цитокинов у животных контрольной и опытной групп, по-видимому, обусловлены наличием АДБ, частицы которого являются аттрактантами для макрофагов с провоспалительным фенотипом М1, экспрессирующим TNF-α [21]. Известно, что макрофаги это гетерогенные клетки и они могут проявлять полярность. Макрофаги системы М1 — клетки с провоспалительной направленностью, секретируют TNF-α, интерлейкины 1 и 6 (IL-1 и 6), отвечают за антимикробную деятельность, хемотаксис фагоцитарных клеток, стимуляцию иммуногенеза, ангиогенез [22]. Макрофаги противовоспалительной системы активации M2 секретируют TGF-β, IL-10 и являются промотором фиброза и иммуносупрессором [23]. Провоспалительная реакция, вызванная введением аллогенного биоматериала, приводит к его деградации и высвобождению биоактивных компонентов, связанных с матриксом, которые действуют как сигналы для миграции, пролиферации и дифференцировки клеток, тем самым обеспечивая оптимальные условия для регенерации [24]. На поздних стадиях провоспалительные клетки исчезают и появляются противовоспалительные клетки, что включает поляризацию макрофагов до фенотипа M2 [25]. Результаты иммуногистохимического исследования показали, что при использовании аллогенного биоматериала удлиняется период активности M1 макрофагов и поддерживается более высокая экспрессия TNF-α, что замедляет процесс фиброза вокруг воссоединенных сосудов и нервов и способствует регенерации мышечных волокон, о чем свидетельствуют активация МуоD<sup>+</sup>-миосателлитоцитов [26] и их дифференциация в миосимпласты.

### Заключение

Проведенное экспериментальное исследование показало, что при реплантации конечности возникает асептическое воспаление, в пролиферативной фазе которого формируются фиброзные муфты вокруг воссоединенных сосудов и нервов, а также очаговый фиброз между фрагментами сшитых мышц. Описанные морфологические изменения коррелируют с высокой экспрессией TGF-β1 и HLA-DR. Использование при данной операции диспергированного биоматериала позволяет изменить течение раневого процесса за счет активации макрофагов провоспалительного фенотипа, что проявляется значительно более высокой экспрессией TNF-α, коррелирующей с низкой экспрессией TGF-61 и HLA-DR. В этих условиях не развивается фиброз вокруг сосудов и нервов и наблюдается регенерация поврежденных мышечных волокон, о чем свидетельствует обнаружение МуоD<sup>+</sup>-миосателлитоцитов.

Таким образом, применение при реплантации конечности АДБ способствует ингибированию фиброза и стимуляции прогениторных мышечных клеток.

#### Литература / References

1. Mattiassich G., Rittenschober F., Dorninger L. et al. Long-term outcome following upper extremity replantation after major traumatic amputation. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017;18(1):77. DOI: 10.1186/s12891-017-1442-3. 2. Noh K., Hacquebord J.H. 50+ years of replantation surgery experience: are we progressing or regressing? *Plast Aesthet Res.* 2020;7:50. DOI: 10.20517/2347-9264,2020.49.

3. Sabapathy S.R., Chen J.T., Afifi A.M. et al. Secondary Procedures in Replantation. In: Salyapongse A., Poore S., Afifi A., Bentz M., eds. Extremity Replantation. Boston: Springer; 2015:171-190. DOI: 10.1007/978-1-4899-7516-4\_14.

4. Wang C., Askari M., Zhang F. et al. Long-Term Outcomes of Arm Replantation. *Ann Plast Surg.* 2020;84(3):151–157. DOI: 10.1097/SAP.00000000002283.

5. Гильмутдинова Ј.Г., Шарипова Э.Ш. Применение комплексного лечения при травмах конечностей, осложненных повреждением нервов. Лазерная медицина. 2007;11(2):7–13.

Gilmutdinova L.T., Sharipova E.Sh. Complex treatment of extremities' traumas complicated by nerve damage. *Laser Medicine*. 2007;11(2):7–13 (in Russ.).

6. Mathieu L., Adam C., Legagneux J. et al. Reduction of neural scarring after peripheral nerve suture: an experimental study about collagen membrane and autologous vein wrapping. *Chir Main.* 2012;31(6):311–317. DOI: 10.1016/j.main.2012.10.167.

7. Регенеративная медицина. Alloplant®. Под ред. Мулдашева Э.Р. Уфа; 2014.

Regenerative medicine. Alloplant<sup>®</sup>. Muldashev E.R., ed. Ufa; 2014 (in Russ.). 8. Лебедева А.И., Гареев Е.М., Афанасьев С.А. и др. Аллогенный биоматериал — ингибитор фиброза в ишемически поврежденном миокарде. *Медицинская иммунология*. 2023;25(2):301–308. DOI: 10.15789/10.15789/1563-0625-ABA-2359.

Lebedeva A.I., Gareev E.M., Afanasiev S.A. et al. Allogeneic biomaterial: a fibrosis inhibitor in ischemic myocardial damage. *Medical Immunology.* 2023;25(2):301–308 (in Russ.). DOI: 10.15789/10.15789/1563-0625-ABA-2359. 9. Мулдашев Э.Р., Муслимов С.А., Вялков В.А. и др. Биоматериал Аллоплант для регенеративной хирургии. Патент RU2189257C1. Опубл. 20.09.2002.

Muldashev E.R., Muslimov S.A., Vyalkov V.A. et al. Alloplant biomaterial for regenerative surgery. Patent RU2189257C1. Publ. 09.20.2002.

10. Kohl B.A., Deutschman C.S. The inflammatory response to surgery and trauma. *Curr Opin Crit Care.* 2006;12(4):325–332. DOI: 10.1097/01. ccx.0000235210.85073.fc.

11. Broughton G. 2nd, Janis J.E., Attinger C.E. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7):12S-34S. DOI: 10.1097/01. prs.0000225430.42531.c2.

12. Karsdal M.A., Nielsen S.H., Leeming D.J. et al. The good and the bad collagens of fibrosis — Their role in signaling and organ function. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;121:43–56. DOI: 10.1016/j.addr.2017.07.014.

13. Kim K.K., Sheppard D., Chapman H.A. TGF-β1 Signaling and Tissue Fibrosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2018;10(4):a022293. DOI: 10.1101/ cshperspect.a022293.

14. Walaszek I., Zyluk A. Long term follow-up after finger replantation. *J Hand Surg Eur Vol.* 2008;33(1):59–64. DOI: 10.1177/1753193407088499.

15. Rosberg H.E., Dahlin L.B., Carlsson I.K. A qualitative study of the long-term consequences and adaptation in daily life after replantation surgery at a young age. *Hand Ther.* 2022;27(4):112–122. DOI: 10.1177/17589983221118399.

16. Allen R.E., Boxhorn L.K. Inhibition of skeletal muscle satellite cell differentiation by transforming growth factor-beta. *J Cell Physiol.* 1987;133:567–572. DOI: 10.1002/jcp.1041330319.

17. Li Y., Foster W., Deasy B.M. et al. Transforming growth factorbeta1 induces the differentiation of myogenic cells into fibrotic cells in injured skeletal muscle: a key event in muscle fibrogenesis. *Am J Pathol.* 2004;164:1007–1019. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63188-4.

18. Abraham D.J., Shiwen X., Black C.M. et al. Tumor necrosis factor alpha suppresses the induction of connective tissue growth factor by transforming growth factor-beta in normal and scleroderma fibroblasts. *J Biol Chem.* 2000;275(20):15220–15225. DOI: 10.1074/jbc.275.20.15220.

19. Horiuchi T., Mitoma H., Harashima Sh. et al. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology*. 2010;49(7):1215–1228. DOI: 10.1093/rheumatology/keq031.



20. McCarty S.M., Syed F., Bayat A. Influence of the human leukocyte antigen complex on the development of cutaneous fibrosis: an immunogenetic perspective. *Acta Derm Venereol.* 2010;90(6):563–574. DOI: 10.2340/00015555-0975.

21. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М. и др. Морфологические особенности макрофагов и их цитокинового профиля в регенерации скелетной мышечной ткани при пластике аллогенным губчатым биоматериалом. Цитокины и воспаление. 2015;14(1):27–33.

Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Gareev E.M. et al. Morphological characteristics of macrophages and their cytokine profile in the regeneration of skeletal muscular tissue in case of plasty with the spongiform biomaterial. *Cytokines and Inflammation.* 2015;14(1):27–33 (in Russ.).

22. Smigiel K.S., Parks W.C. Macrophages, Wound Healing, and Fibrosis: Recent Insights. *Curr Rheumatol Rep.* 2018;20(4):17. DOI: 10.1007/s11926-018-0725-5.

23. Wang H., Melton D.W., Porter L. et al. Altered macrophage phenotype transition impairs skeletal muscle regeneration. *Am J Pathol.* 2014;184(4):1167–1184. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013,12.020.

24. Qu F., Pintauro M.P., Haughan J.E. et al. Repair of dense connective tissues via biomaterial-mediated matrix reprogramming of the wound interface. *Biomaterials.* 2015;39:85–94. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.067. 25. Xu M., Su T., Jin X. et al. Inflammation-mediated matrix remodeling of extracellular matrix-mimicking biomaterials in tissue engineering and regenerative medicine. *Acta Biomaterialia.* 2022;151:106–117. DOI: 10.1016/j.actbio.2022.08.015.

26. Battistelli C., Garbo S., Maione R. MyoD-induced trans-differentiation: a paradigm for dissecting the molecular mechanisms of cell commitment, differentiation and reprogramming. *Cells.* 2022;31;11(21):3435. DOI: 10.3390/cells11213435.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Муслимов Сагит Астахович — д.м.н., ведущий научный сотрудник Института фундаментальной медицины ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; 450075, Россия, г. Уфа, ул. Рихарда Зорге, д. 67/1; ORCID iD 0000-0002-9076-0251.

Ибрагимов Руслан Кабирович — к.м.н., доцент кафедры факультетской хирургии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; 450075, Россия, г. Уфа, ул. Рихарда Зорге, д. 67/1; врач-хирург, пластический хирург ООО «Мастерская красоты +»; 450075, Россия, г. Уфа, ул. Салавата, д. 17; ORCID iD 0009-0005-3518-0675. Лебедева Анна Ивановна — д.б.н., заведующая научно-исследовательским отделом морфологии Всероссийского центра глазной и пластической хирургии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; 450075, Россия, г. Уфа, ул. Рихарда Зорге, д. 67/1; ORCID iD 0000-0002-9170-2600.

Контактная информация: Муслимов Сагит Асхатович, e-mail: msagit@mail.ru.

**Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует.

Статья поступила 27.02.2024.

Поступила после рецензирования 21.03.2024. Принята в печать 15.04.2024.

#### **ABOUT THE AUTHORS:**

**Sagit A. Muslimov** — Dr. Sc. (Med.), Leading Researcher at the Institute of Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University; 67/1, Richard Sorge str., Ufa, 450075, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-9076-0251.

**Ruslan K. Ibragimov** – C. Sc. (Med.), Associate Professor of the Department of Surgery, Bashkir State Medical University; 67/1, Richard Sorge str., Ufa, 450075, Russian Federation; surgeon, plastic surgeon, "Masterskaya Krasoty +" LLC; 17, Salavat str., Ufa, 450075, Russian Federation; ORCID iD 0009-0005-3518-0675.

Anna I. Lebedeva — Dr. Sc. (Bio.), Head of the Research Department of Morphology, All-Russian Center for Ocular and Plastic Surgery, Bashkir State Medical University; 67/1, Richard Sorge str., Ufa, 450075, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-9170-2600.

**Contact information:** *Sagit A. Muslimov, e-mail: msagit@ mail.ru.* 

**Financial Disclosure:** *no authors have a financial or property interest in any material or method mentioned.* 

*There is no* **conflict of interest**.

Received 27.02.2024. Revised 21.03.2024. Accepted 15.04.2024.