

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

² Российская детская клиническая больница ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Выращивание собственных тканей влагалища с помощью тканевой инженерии

Е.В. Сибирская, д.м.н., проф.^{1, 2}, И.В. Караченцова, к.м.н.^{2, 3}, Ю.А. Кириллова^{1, 2}, П.Ф. Курбанова³, А.В. Никишина⁴

Адрес для переписки: Парвин Фаилевна Курбанова, par0502@yandex.ru

Для цитирования: Сибирская Е.В., Караченцова И.В., Кириллова Ю.А. и др. Выращивание собственных тканей влагалища с помощью тканевой инженерии. Эффективная фармакотерапия. 2022; 18 (34): 38–41.

DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-34-38-41

Аплазия влагалища – врожденный порок развития, обусловленный различными патологиями, в том числе синдромом Майера – Рокитанского – Кюстера – Хаузера. При этом заболевании применяют консервативную и хирургическую коррекцию. Терапией первой линии является кольпоэлонгация. При ее неэффективности возможно применение хирургических методик (методы Vecchietty, Wallwiener, Abbe – McIndoe, Давыдова, Williams в модификации Creastas и др.). В настоящее время единого хирургического способа не существует. Однако можно использовать новые способы гинекологической реконструкции с помощью тканевой инженерии, сочетающей клеточную терапию, разные виды каркасов и мезенхимальных стволовых клеток. В статье представлены данные клинических исследований, продемонстрировавшие успешное формирование функционального неовлагалища по анатомическим и гистологическим свойствам за счет культивирования аутологических клеток на биоразлагаемые каркасы. Необходимы дальнейшие исследования в данном направлении.

Ключевые слова: *аплазия влагалища, синдром Майера – Рокитанского – Кюстера – Хаузера, кольпопоз, тканевая инженерия*

Введение

Аплазия влагалища является врожденным пороком развития, характеризующимся отсутствием влагалища. Подобное состояние может быть обусловлено различными патологиями, в том числе синдромом Майера – Рокитанского – Кюстера – Хаузера (СМРКХ), клоакальной мальформацией, эндокринными заболеваниями, такими как врожденная дисфункция коры головного мозга. Вторичными причинами могут быть травма и рак, приводящие к повреждению стенок влагалища с последующей хирургической резекцией. СМРКХ относится к одним из наиболее частых заболеваний, характеризующихся аплазией влагалища. Данная патология диагностируется у одной

из 4500–5000 новорожденных девочек [1] и является второй по распространенности причиной первичной аменореи. Большинство подобных аномалий диагностируется в подростковом возрасте.

Терапией первой линии является кольпоэлонгация. При ее неэффективности применяют хирургические методики. В гинекологической реконструкции также возможно создание неовлагалища с помощью тканевой инженерии, предполагающей использование каркаса и мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Лечение

СМРКХ возникает в результате нарушения внутриутробного развития мюллеровых протоков



и характеризуется тотальной аплазией влагалища и матки. Дополнительными клиническими проявлениями могут быть пороки развития мочевыделительной системы (подковообразная почка, дистопия почки, аплазия почки, удвоение мочеточников), пороки развития опорно-двигательной системы (сколиоз, асимметричные позвонки, деформированные или отсутствующие ребра).

В настоящее время широко применяется кольпопоз – создание искусственного влагалища. К основным методам относят кольпоэлонгацию (бескровный кольпопоз) и оперативное вмешательство, которые позволяют пациенткам вести полноценную половую жизнь. Терапией первой линии формирования неовлагалища считается кольпоэлонгация (метод Франка, Ингрэма, Шерстнева и его модификация Уваровой). Кольпопоз формируется в результате растяжения тканей влагалищной ямки за задней спайкой малых половых губ. Первая процедура выполняется один раз в сутки в течение 20 минут под контролем болевых ощущений пациентки. Впоследствии продолжительность процедуры увеличивают до 30–40 минут по два раза в сутки. Один курс кольпоэлонгации состоит из 15–20 процедур. Обычно проводят до трех курсов с интервалом два-три месяца. В большинстве случаев удается добиться положительного эффекта – формирования хорошо растяжимой неовагины, пропускающей два поперечных пальца на глубину не менее 10 см [2]. В промежутках между курсами рекомендуется обрабатывать зону задней спайки малых половых губ и кожи сформированного неовлагалища кремом с эстриолом. Во время процедур важно учитывать психоэмоциональные особенности пациенток и их заинтересованность в терапии. Успех лечения также зависит от анатомических особенностей и тканевых свойств промежности. Лучшие результаты достигаются при наличии эластичной кожи промежности, дисплазии соединительной ткани, отсутствии гимена и ригидных стенок входа во влагалище.

Среди преимуществ кольпоэлонгации следует отметить консервативность метода, отсутствие необходимости начинать половую жизнь сразу после ее прекращения, возможность выполнения процедур в домашних условиях под самоконтролем пациенток, отсутствие госпитализации и связанных с ней затрат на лечение. Однако имеются и недостатки: возможный дискомфорт во время процедуры (из-за низкого порога болевой чувствительности и повышенной нервной возбудимости), повышенный риск вагинального пролапса, потенциальный эпизод кровотечения при растяжении и время, необходимое для создания функционального влагалища достаточной глубины [3].

При неэффективности консервативного лечения, наличии определенных анатомических особенностей (рубцовые изменения на промежности и наружных половых органах, кольцевидная плотная девственная плева, ригидная кожа промежности) показана хирургическая коррекция как резервный метод терапии.

В настоящее время единого хирургического подхода к лечению данной патологии не существует. Хирургические методики подразделяют на тяговые (метод Vecchietty, Wallwiener) и трансплантационные. Среди последних выделяют методы Abbe – McIndoe, Давыдова, кишечную вагинопластику, Williams в модификации Creastas. Метод сигмоидального кольпопоза представляет лишь исторический интерес ввиду высокого процента осложнений как во время проведения операции, так и в послеоперационном периоде [1].

Для реконструкции влагалища, проводимой с помощью открытых, лапароскопических и роботизированных методик, могут успешно использоваться различные материалы. Наиболее распространенный хирургический подход предполагает создание канала путем иссечения потенциального неовагинального пространства и последующего выравнивания тазового дна трансплантатом [4]. Для выравнивания используются кожные трансплантаты, целлюлоза, брюшина, децеллюляризированные матриксы, полученные из кожи или слизистой оболочки кишечника, слизистая оболочка щеки и эпителий влагалища [5]. Влагалище состоит из нескольких слоев, включающих эпителий, мышцы и матрицу, содержащую различные структурные белки – коллаген, эластин и микрофибриллы. Трансплантаты не имеют в своем составе всех структурных элементов физиологического влагалища. Они способны привести к адекватному функционированию и регенерации эпителия, однако могут иметь отсутствующий или аномальный мышечный слой. В результате у некоторых пациентов могут развиваться хронический стеноз и/или контрактура трансплантата, требующие периодического бужирования. Таким образом, данная терапия представляет собой длительный и инвазивный процесс с возможными повторными операциями.

Методы тканевой инженерии

Новые хирургические реконструктивные подходы к замене тканей функционально эквивалентными призваны улучшить результаты операций и качество жизни пациенток. Для этого в качестве альтернативного метода рассматривают тканевую инженерию, сочетающую клеточную терапию и использование каркасов. При этом важен правильный выбор каркасов для обеспечения функциональности ткани и адекватной анатомии.

В ряде исследований применяли трансплантат из тканеинженерного биоматериала в гинекологической реконструкции. Так, в исследовании А.М. Raya-Rivera и соавт. было успешно создано неовлагалище путем культивирования собственных клеток вульвы на биоразлагаемые каркасы [5]. После кольпопоза отдаленных осложнений не наблюдалось. Кроме того, ежегодное изучение образцов биопсии показало сходный фенотипический и гистологический состав с нативной тканью. Согласно утвержденному опроснику индекса женской сексуальной функции,

переменные находятся в пределах нормы во всех тестируемых областях. Исследователи пришли к заключению, что влагалище, созданное из аутологичных клеток, имеет нормальные структурные и функциональные свойства при наблюдении за пациентками в течение восьми лет.

В другом исследовании выполняли вагинопластику по модифицированной методике Abbe – McIndoe с использованием аутологичной культивированной *in vitro* вагинальной ткани [6]. После биопсии слизистой оболочки преддверия влагалища и процесса экстракции клеток выделенные клетки подвергались ферментативной диссоциации. В дальнейшем они переносились на пластины, покрытые коллагеном IV типа, и культивировались в течение двух-трех недель. В послеоперационном периоде пациентки находились под диспансерным наблюдением. Установлено, что во всех случаях влагалище имело нормальную длину и глубину, а биопсия показала физиологичную вагинальную ткань. Суммарный балл заполненных анкет индекса женской сексуальной функции через 12 месяцев после операции свидетельствовал об удовлетворительном качестве половой жизни пациенток. Авторы сделали вывод, что модифицированная методика Abbe – McIndoe с использованием аутологичной вагинальной ткани безопасна и эффективна. В долгосрочной перспективе, основываясь на опросниках, данная операция также показала удовлетворенность пациенток половой жизнью и улучшение качества их жизни [7].

Большинство стратегий тканевой инженерии включают разработку новых каркасов. В состав разных полимерных каркасов входят альгинат, полигликолевая кислота, коллаген, полимолочно-когликолевая кислота (PLGA) и т.д. Одной из потенциальных считается комбинация PLGA с биосовместимыми характеристиками и полиизопрена с сильными ангиогенными свойствами (PLGA/PIерох) [8]. Процедура эпоксидирования (ерох) – важный процесс в органическом синтезе, направленный на увеличение гидрофильности каучука. Выбор каркаса имеет основополагающее значение для успеха регенеративной терапии (клетки прикрепляются в большем количестве и лучше фиксируются в ткани хозяина).

Комбинация каркаса и клеточной терапии, в частности применение МСК, может стать перспективным терапевтическим подходом. МСК не экспрессируют антигены главного комплекса гистосовместимости, которые участвуют в распознавании антигена иммунной системой, поэтому не распознаются как чужеродные клетки и не вызывают реакцию отторжения при трансплантации [9]. Хотя разные типы МСК имеют общие свойства стволовых клеток, они различаются по численности [10]. Источниками МСК могут служить костный мозг, жировая ткань, ткань зубной пульпы, периферическая кровь и т.д. Получение стволовых клеток костного мозга происходит

путем аспирации костного мозга, что считается высокоинвазивной и болезненной процедурой. МСК составляют всего от 0,001 до 0,01% общей популяции клеток [11]. МСК тканей зубной пульпы расположены внутри зубной коронки, в нише, в которой находится соединительная ткань. Данная группа клеток имеет морфологию, подобную фибробластам, и способна дифференцироваться в нейральные эктодермальные клетки и адипоциты, одонтобласты, остеобласты, хондроциты и миобластные клетки мезодермального происхождения [12]. Имеют место и другие сложности, связанные с забором клеток и их ограниченным пулом. Стволовые клетки, полученные из жировой ткани, выделяют из подкожной жировой клетчатки. Это достаточно простой метод получения. МСК жировой ткани – основной источник стволовых клеток. Их распространенность составляет около 2% в стромально-васкулярной фракции, что считается самым высоким содержанием пула по сравнению с МСК иного происхождения [13]. Кроме того, МСК жировой ткани сохраняют способность дифференцироваться в клетки мезодермального происхождения, обладают низкой иммуногенностью, модуляторным и паракринным действием. В отличие от других МСК данные клетки секретируют большое количество проангиогенных молекул, таких как компоненты внеклеточного матрикса и металлопротеиназы, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Эти функции подтверждают их преимущество перед другими популяциями в терапевтических подходах, зависящих от ангиогенеза [14].

Таким образом, современные подходы к клеточной терапии могут существенно повлиять на регенеративную медицину. Сказанное в большей степени касается использования МСК. МСК способны мигрировать в поврежденную ткань и высвободить паракринные факторы, уменьшающие воспаление и стимулирующие иммуномодуляцию. В результате возможно антиапоптотическое действие за счет продукции и секреции цитокинов.

Заключение

Аплазия влагалища считается редкой патологией. При этом заболевании используются разные терапевтические методики, в частности консервативная (кольпоэлонгация) и хирургическая коррекция (методики Vecchietty, Wallwiener, Abbe – McIndoe, Давыдова, кишечная вагинопластика, Williams в модификации Creastas). Возможна также терапия, сочетающая применение стволовых клеток и каркасов.

Гинекологическая реконструкция с помощью тканевой инженерии, направленная на создание функционального по анатомическим и гистологическим свойствам неовлагалища, показала свою эффективность. Вероятно, данное направление является новой попыткой лечения поврежденных тканей и органов и требует дальнейшего изучения. ❧



Литература

1. Committee on Adolescent Health Care. ACOG Committee Opinion No. 728: Müllerian agenesis: diagnosis, management, and treatment. *Obstet. Gynecol.* 2018; 131 (1): e35–e42.
2. Кругляк Д.А., Буралкина Н.А., Ипатова М.В., Уварова Е.В. Синдром Майера – Рокитанского – Кюстера – Хаузера: современные методики лечения, психологические и социальные аспекты (аналитический обзор). *Репродуктивное здоровье детей и подростков.* 2018; 14 (3): 58–73.
3. Callens N., de Cuypere G., de Sutter P., et al. An update on surgical and non-surgical treatments for vaginal hypoplasia. *Hum. Reprod. Update.* 2014; 20 (5): 775–801.
4. McQuillan S.K., Grover S.R. Dilation and surgical management in vaginal agenesis: a systematic review. *Int. Urogynecol. J.* 2014; 25 (3): 299–311.
5. Raya-Rivera A.M., Esquiliano D., Fierro-Pastrana R., et al. Tissue-engineered autologous vaginal organs in patients: a pilot cohort study. *Lancet.* 2014; 384 (9940): 329–336.
6. Panici P.B., Maffucci D., Ceccarelli S., et al. Autologous in vitro cultured vaginal tissue for vaginoplasty in women with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome: anatomic and functional results. *J. Minim. Invasive Gynecol.* 2015; 22 (2): 205–211.
7. Sabatucci I., Palaia I., Marchese C., et al. Treatment of the Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome with autologous in vitro cultured vaginal tissue: descriptive study of long-term results and patient outcomes. *BJOG.* 2019; 126 (1): 123–127.
8. Guerra N.B., Cassel J.B., Henckes N.A.C., et al. Chemical and in vitro characterization of epoxidized natural rubber blends for biomedical applications. *J. Polym. Res.* 2018; 25 (8): 172.
9. Cherian D.S., Bhuvan T., Meagher L., Heng T.S.P. Biological considerations in scaling up therapeutic cell manufacturing. *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 654.
10. Mazini L., Rochette L., Amine M., Malka G. Regenerative Capacity of Adipose Derived Stem Cells (ADSCs), Comparison with Mesenchymal Stem Cells (MSCs). *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20 (10): 2523.
11. Henckes N.A.C., Faleiro D., Chuang L.C., Cirne-Lima E.O. Scaffold strategies combined with mesenchymal stem cells in vaginal construction: a review. *Cell Regen.* 2021; 10: 26.
12. Mattei V., Martellucci S., Pulcini F., et al. Regenerative potential of DPSCs and revascularization: direct, paracrine or autocrine effect? *Stem. Cell Rev. Rep.* 2021; 17 (5): 1635–1646.
13. Ntege E., Sunami H., Shimizu Y. Advances in regenerative therapy: a review of the literature and future directions. *Reg. Ther.* 2020; 14: 136–153.
14. Costa L.A., Eiro N., Fraile M., et al. Functional heterogeneity of mesenchymal stem cells from natural niches to culture conditions: implications for further clinical uses. *Cell Mol. Life Sci.* 2021; 78 (2): 447–467.

The Cultivation of Autologous Vaginal Tissue by Tissue Engineering

Ye.V. Sibirskaya, PhD, Prof.^{1,2}, I.V. Karachentsova, PhD^{2,3}, Yu.A. Kirillova^{1,2}, P.F. Kurbanova³, A.V. Nikishina⁴

¹ A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry

² Russian Children's Clinical Hospital of N.I. Pirogov Russian National Research Medical University

³ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Contact person: Parvin F. Kurbanova, par0502@yandex.ru

Vaginal aplasia is a congenital malformation that can be caused by various disorders, including Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. Therapeutic approaches to the treatment of this pathology are divided into methods of conservative and surgical correction. The first-line therapy is colpoelongation, with the ineffectiveness of which it is possible to use surgical techniques (methods of Vecchietty, Wallwiener, Abbe-McIndoe, Davydov, Williams in the Creastas modification, etc.). Currently, there is no single surgical approach. However, it is possible to use new methods of gynecological reconstruction based on tissue engineering using cell therapy, different types of scaffolds and the potential use of mesenchymal stem cells. The data of clinical trials are presented, which have shown the successful formation of a functional neovaginal space by anatomical and histological properties by culturing autologous cells on biodegradable scaffolds. Further research in this area and a detailed study of the issue are needed.

Key words: vaginal aplasia, Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome, colpoepoiesis, tissue engineering