



ARTICOL DE CERCETARE

## Terapia tisulară cu membrană amniotică în tratamentul bolnavilor cu leziuni termice: studiu prospectiv, descriptiv, pe serie de cazuri

Constantin Furtună<sup>1</sup>, Anatol Taran<sup>2</sup>, Mariana Jian<sup>2</sup>, Viorel Nacu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centrul de leziuni termice, Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie, Chișinău, Republica Moldova;

<sup>2</sup>Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 08.11.2017

Data acceptării spre publicare: 21.05.2018

### Autor corespondent:

Anatol Taran, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Catedra de ortopedie și traumatologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Stefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: anatol\_taran@yahoo.com

RESEARCH ARTICLE

## Tissue therapy with amniotic membrane in the treatment of patients with thermal lesions: prospective, descriptive, case-series study

Constantin Furtuna<sup>1</sup>, Anatol Taran<sup>2</sup>, Mariana Jian<sup>2</sup>, Viorel Nacu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Center for thermal lesions, Clinical Hospital of Traumatology and Orthopedics, Chisinau, Republic of Moldova;

<sup>2</sup>Laboratory of tissue engineering and cells culture. Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 08.11.2017

Accepted for publication on: 21.05.2018

### Corresponding author:

Anatol Taran, PhD, univ. prof.

Chair of traumatology and orthopedics

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel mare si Sfant ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: anatol\_taran@yahoo.com

### Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Membranele amniotice au fost utilizate cu succes ca pansamente biologice, demonstrând aderența bună la plagă, prevenirea pierderilor de lichide și căldură, protecția mecanică, evitarea infecțiilor bacteriene secundare și stabilitatea în contact cu plaga. Totuși, studiul suplimentare sunt necesare pentru a elucidă mecanismele acestei relații dintre membrana amniotică și recipient.

### Ipoteza de cercetare

Cu scopul reducerii numărului de complicații, obținerii regenerării țesutului epitelial într-un timp relativ scurt, s-a cercetat aplicabilitatea și eficiența bioingineriei tisulare.

### Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Datele prezentate ar putea fi utile pentru diferiți specialiști ai sistemului de sănătate care lucrează în domeniul chirurgiei. Terapia tisulară a demonstrat rezultate postoperatorii satisfăcătoare, fără complicații majore, ceea ce confirmă siguranța procedurii.

### What is not known yet, about the topic

Amniotic membranes were successfully used as dressing, demonstrating good adherence to wound, preventing fluid and heat loss, mechanical protection, avoidance of secondary bacterial infections and stable in contact with wound. However, additional studies are needed to elucidate the mechanisms of this relationship between the amniotic membranes and the burn patient

### Research hypothesis

In order to reduce the number of complications, to achieve regeneration of the epithelial tissue in a relatively short time, the need of implementing and efficiency of the tissue bioengineering.

### Article's added novelty on the scientific topic

The data presented in this clinical case might be useful for various members of the healthcare system, working in the area of surgery. Tissue therapy demonstrated postoperative satisfactory results with no significant complications, fact that confirms the safety of this procedure.

## Rezumat

**Introducere.** O nouă frontieră în tratamentul clinic al bolii combustionale este reprezentată de terapia tisulară. Mulți oameni renumiți în întreaga lume s-au folosit de această metodă de tratament care, anterior, era inaccesibilă tuturor, cunoscută sub denumirea de terapie tisulară. Din acest motiv, este pe deplin justificată preocuparea clinicienilor, dar mai ales a cercetării medicale din ultimele decenii, pentru găsirea unor soluții eficiente în obținerea unor substituenți tegumentari, cu ajutorul cărora să se înlocuiască pielea compromisă și să se mențină funcțiile de bază ale organismului uman, agreat.

**Material și metode.** Lucrarea a fost concepută ca un studiu prospectiv, descriptiv, a unui lot de 24 de pacienți cu arsuri de gr. IIIAB și IV, în tratamentul cărora s-a utilizat membrana amniotică în calitate de pansament biologic temporar (14 bărbați și 10 femei). Cazurile au fost distribuite în 2 eșantioane: eșantionul bolnavilor cărora li s-a aplicat pe locurile donore – 14 pacienți și eșantionul bolnavilor, cărora li s-a aplicat pe plăgi post-arsură, după debridare tangențială – 10 pacienți. Bolnavii au fost investigați conform standardelor naționale în vigoare.

**Rezultate.** Alotransplantul a purtat un caracter temporar, până la pregătirea satisfăcătoare a plăgii pentru autodermoplastie. S-a observat o accelerare a formării țesutului granular și, respectiv, a scurtării perioadei preoperatorii până la autodermoplastie, de la 10,2 zile în cazul tratamentului standard, cu repansări multiple, până la 6,5 zile, în cazul utilizării MA.

**Concluzii.** Membrana amniotică reprezintă un material de acoperire a plăgilor, accesibil din punctul de vedere al disponibilității, preparării și stocării. Fiind subțire și flexibilă, membrana amniotică este aplicată cu ușurință pe diverse suprafețe și aderă intim la patul plăgii.

**Cuvinte cheie:** arsură, substituent al pielii, membrană amniotică.

## Introducere

Posibilitatea efectuării unui tratament cu ajutorul terapiei tisulare, care poate fi apoi folosită pentru acoperirea unor mari defecte tegumentare, reprezintă o remarcabilă realizare a cercetării medicale și ingineriei tisulare, pusă la îndemâna clinicienilor. Pornind de la faptul deja cunoscut, cel al capacității epitelului uman de a se reînnoi periodic, s-a căutat și s-a găsit o metodă prin care să se obțină regenerarea țesutului epitelial într-un timp relativ scurt, prin tehnici complexe de laborator, cunoscute, generic, sub denumirea de bioinginerie tisulară.

Un rol deosebit de important în realizarea unei apărări eficiente împotriva atacului factorilor externi îl constituie tegumentele, care reprezintă o barieră interpusă între organismul uman și mediul extern. Pielea este organul cel mai expus la agresiunea directă a factorilor din exterior, este un organ ce se reînnoiește rapid. În piele se conțin celulele stem regionale și ea dispune de posibilități înalte regeneratorii. Pielea a fost genetic înzestrată cu calități specifice, menite să confere o rezistență crescută la traumatism. Versalitatea tegumentului uman se manifestă, îndeosebi, printr-o mare capacitate de re-

## Abstract

**Introduction.** A new frontier regarding clinical treatment of “combustion illness” is represented by tissue therapy. A lot of well known physicians around the world used this kind of treatment, which was previously inaccessible to ordinary people, known as tissue therapy. On these premises physician’s concern but mostly last decade’s medical research, regarding finding a suitable solution on obtaining new skin substituting materials which can replace the damaged skin and maintain the normal functioning of damaged human body, is fully justified.

**Material and methods.** The research was designed as a descriptive – prospective study – of a group of 24 patients with burns gr. IIIAB and IV was conducted, amniotic membrane as a temporary biological dressing was used (14 men and 10 women) in this treatment. The cases were divided into two groups: the group of patients AM was applied to donor sites skin – 14 patients and the group of patients AM was applied on post-burn wounds after tangential debridement – 10 patients. The patients were investigated in accordance with national standards.

**Results.** The allograft had a temporary character until wound adequate preparation for autodermoplasty. An acceleration of granulation tissue formation and respectively shortening of preoperative period until autodermoplasty from 10.2 days in case of standard treatment with multiple dressing to 6.5 days in case of MA use was observed.

**Conclusions.** Amniotic membrane is wound covering material accessible in terms of availability, preparation and storage. Being easy to apply, it is also flexible, making it possible for amniotic membrane to be applied to various surfaces. It has the property to adhere intimately to the wound bed and is easily removed from necessity.

**Key words:** burn, skin substituent, amniotic membrane.

## Introduction

The possibility to perform treatment using tissue therapy which can then be used to cover large skin defects can be a remarkable achievement of medical research and tissue engineering for clinicians. Based on the already known fact, of human epithelium ability to renew periodically, a method to achieve regeneration of the epithelial tissue in a relatively short time via the complex laboratory techniques, known generically as the tissue bioengineering was searched and found.

An important role in achieving an effective defense against external factors attack pertains to teguments. This is the “barrier” interposed between body and external environment. Skin is the most exposed organ to direct aggression of external factors, an organ that renews quickly, containing regional stem cells and it has high regenerating possibilities. Skin was genetically endowed with specific qualities meant to confer increased resistance to traumatism. Versatility of human skin is manifested in particular by a high capacity for regeneration after directly trauma, but in some cases - serious trauma, deep burns, circulatory disorders – require special treatment. Re-

generare după traumatismele directe, însă, în unele cazuri – traumatismele grave, arsurile profunde, tulburările circulatorii – necesită un tratament special. Regenerarea se realizează, în fapt, prin vindecare (cicatrizare). Ca urmare a distrugerii integrității și continuității cutanate, apar defectele tegumentare. Acoperirea cât mai rapidă a defectelor cutanate a constituit întotdeauna o adevărată provocare pentru chirurghi, fie că acestea s-au produs prin traumatisme acute, fie că sunt secundare unor nozologii.

Terapia tisulară este o metodă eficientă, inovațională, de tratament a bolii combustionale și de întinerire a organismului, în genere. Deficitul de informații veridice a dezvoltat în jurul terapiei tisulare numeroase mituri și prejudecăți. Terapia tisulară sau de regenerare a permis obținerea rezultatelor clinice de o nouă calitate în diverse domenii ale medicinei: oncologie, traumatologie, ginecologie, hematologie, endocrinologie, cardiologie, obstetrică, neurologie și neurochirurgie etc. Baza terapiei tisulare este prezența în preparatele biologice folosite a celulelor stem, fibroblastelor, keratinocitelor, precum și substituenților țesutului cutanat.

Celulele stem sunt principiul de bază al organismului. Din ele derivă toate cele 240 de tipuri de celule specializate și țesuturi ale corpului. Un mare număr de celule stem se conțin în sângele din cordonul ombilical, în embrionul uman, în complexul placentar, în măduva osoasă a adulților. Principala caracteristică a acestora este capacitatea de autosusținere. Adică, celulele stem, teoretic, sunt veșnice. Sângele ombilical este sursa cea mai preferată de celule stem din multe puncte de vedere. În primul rând, nu există probleme etice, care interzic primirea acestuia. În al doilea rând, atrage facilitatea procedurii de selectare a mononuclearelor. Iar în al treilea rând, după conținutul celulelor stem și celulelor timpurii predecesori, acesta nu este mai puțin prețios decât măduva osoasă, dar după capacitatea proliferativă – este mai prețios. În plus, atunci când se compară compoziția celulelor din sângele periferic și cablul de sânge, au fost relevate diferențe semnificative în compoziția lor subpopulațională: în sângele din cordonul ombilical predomină celulele supresori neactivate, imature, ce exclude dezvoltarea conflictului dintre greșă și recipient.

Experiența mondială de utilizare a celulelor stem din cordonul de sânge în tratamentul arsurilor, patologiilor ereditare de celule din sânge și bolile de natură netumorală este destul de largă. După cum este raportat în multe lucrări, spectrul de activitate al celulelor stem nu este limitat la restaurarea sistemului de formare a sângelui, iar reacția organismului la introducerea preparatului nu este previzibilă. Un interes special îl reprezintă pansamentele sintetice și biologice, care se consideră a fi mai eficiente decât cele convenționale, deoarece asigură un microclimat mai corespunzător pentru vindecarea umedă a leziunii. Caracteristicile acestor pansamente cuprind protecția față de contaminare, flexibilitate mare, permit evaporarea apei, au prețuri mici și sunt ușor de aplicat. Unele dintre ele pot fi utilizate în calitate de proteză cutanată în urma excizării arsurii, pentru închiderea temporară a leziunii, până în momentul disponibilității unei cantități suficiente de autogrefă. Pansamentele sintetice sunt materiale fabricate de om, relativ ieftine, eficiente și ușor de depozitat. Există

generation is accomplished, in fact, by healing (cicatrization). Skin defects occur following skin integrity and continuity destruction. Skin defects rapid covering was always a challenge for surgeons, whether they were produced by acute trauma or by nosology.

Tissue therapy is an effective and innovative method of burning disease and body rejuvenation treatment in general. Scientific insufficient support of information developed around the tissue therapy numerous ignorant and prejudiced publications. Tissue or regeneration therapy allowed to obtain clinical outcomes by new quality in different areas of medicine: oncology, traumatology, gynecology, hematology, endocrinology, cardiology, obstetrics, neurology and neurosurgery etc. The base of tissue therapy is presence in the used biological compositions of stem cells, fibroblasts, keratinocytes and skin tissue substitutes.

Stem cells are the basic principle of the body they produce 240 specialized types of cells and tissues of the body. A large number of stem cells are contained in umbilical cord blood, in human embryos, placental complex in adult bone marrow. Their main feature is self-sustaining ability. That is, the stem cells are theoretically everlasting. Umbilical blood is the most preferred source of stem cells from different points of view. First, there is not ethical problems which prohibit receiving it, secondly – facilitating selection procedure of mononucleated cells, thirdly according to content of stem cells and early predecessor cells, it is not less precious than bone marrow but by proliferative capacity – it is more precious. Additionally comparing peripheral blood cells composition and cord blood significant differences in their subpopulation composition in umbilical cord blood non-activated suppressor, immature cells prevail were revealed which excludes transplant disease development against of the owner.

Worldwide experience of stem cells use from umbilical cord blood in the treatment of burns, hereditary pathologies of blood cells and non-tumorigenic diseases is quite wide, but, as shown in many works, the spectrum of activity of cells is not limited to restoration of blood forming system, the body's reaction to preparation introduction is not predictable. Special interest is paid to biological and synthetic dressings which are considered to be more efficient than conventional ones, because it provides a more suitable microclimate for lesion humid healing. Characteristics of these dressings include protection at contamination, high flexibility, allows water evaporation, they are low-priced and are easy to apply. Some of them can be used as prosthetic skin after burn excision for temporary closure of the lesion, to sufficient autografts quantity availability. Synthetic dressings are handmade materials relatively inexpensive, effective and easy to store. There are also a large number of bandages. They can be classified into films, foams, gels and compositions. Some of them are used as bandages in burns and as skin tissue substitutes. Biological bandages are natural tissues, usually comprising layers of collagen, elastin and lipids. These can be divided into allografts (human) and xenografts (animal). Perhaps according to autografts, they are the best bandages as possess the following characteristics: reduce water loss by evaporation, calorific

un număr mare de asemenea pansamente. Acestea pot fi clasificate în filme, spume, compoziții și geluri. O parte dintre acestea sunt utilizate atât ca pansamente în arsuri, cât și ca substituenți ai țesutului cutanat. Pansamentele biologice sunt țesuturi naturale, care conțin, de obicei, straturi de colagen, elastină și lipide. Acestea pot fi divizate în homogrefe (umane) și xenogrefe (animale). Probabil, după autogrefă, acestea sunt considerate a fi cele mai bune pansamente, deoarece posedă următoarele caracteristici: reduc pierderea apei prin evaporare, pierderea calorică și deshidratarea unei leziuni deschise, previn colonizarea, reduc numărul bacteriilor de pe suprafața leziunii și previn leziunea fizică a țesutului granular subiacent.

Homogrefa, heterogrefa și membrana amniotică au fost printre primii înlocuitori cutanați, folosiți temporar în terapia arșilor. Materialele respective au oferit unele funcții benefice: plaga arsă devine mai puțin dureroasă, diminuează pierderile lichidiene și proteice, zonele donatoare au timp să se re-epitelizeze, se reduce contaminarea externă și scade concentrația germinilor în plagă.

Dar, initial, plaga trebuie debridată, deoarece umezeala și mediul cald al escarei sunt favorabile dezvoltării bacteriilor și conduc la infecția plăgii și pierderea completă de piele, în pofida pansamentului biologic.

Dacă plaga a fost debridată și rezultă un țesut granular curat, cu o concentrație a germenilor sub  $10^5$  per gram de țesut, pansamentul biologic poate ajuta la pregătirea patului pentru autogrefă. Similar, arsurile cu pierdere incompletă de piele pot fi tratate cu pansament biologic pentru asistarea vindecării. Dacă densitatea microbiană este mai mare de  $10^5$  per gram de țesut, pansamentul va fi schimbat la cel mult 8 ore (unii practicieni folosesc agenți topici antibacterieni, cu pansamente clasice frecvente, până la obținerea unei concentrații a germenilor satisfăcătoare). Dacă numărul bacteriilor este de  $10^5$  per gram de țesut, pansamentul va fi schimbat zilnic, iar dacă acesta este sub  $10^5$  per gram de țesut, pansamentul poate fi schimbat și la 2-3 zile, dacă nu există alte motive de a amâna autogrefarea.

Deoarece primul țel în terapia plăgii arse este transformarea unei plăgi deschise într-una închisă, printre criteriile alegerii pansamentului biologic menționăm: aderența la plagă, prevenirea pierderilor de lichide și căldură, protecția mecanică, evitarea infecțiilor bacteriene secundare, să fie netoxic, neantigenic și stabil în contact cu plaga. Membranele amniotice au fost utilizate cu succes ca și pansamente, dar au fost tolerate slab de către pacienți și nu sunt bune în prevenirea pierderii apei prin evaporare. Davis a utilizat membrana amniotică pentru prima dată în scopul pregătirii paturilor recipiente pentru grefarea pielii. Membranele extraembrionice fetale sunt compuse dintr-o membrană amniotică internă și o membrană externă, numită corion. După separarea componentelor membranelor, se observă o suprafață mezenchimală a membranei amniotice și a corionului, care constituie suprafața cu ajutorul careia membrana poate fi aplicată.

Membrana amniotică este un material disponibil și relativ ieftin, oferind, pe lângă stimularea unei rapide re-epitelizări în arsurile superficiale și promovarea epitelizării în arsurile cu pierderea completă de piele. Membrana este spălată cu hipo-

loss and dehydration of open lesions, prevent colonization, reducing the number of bacteria on lesions wound surface and prevent physical damage of granulation tissue underlying it. Homograft, heterograft and amniotic membrane were among the first artificial cutaneous temporarily use in burned therapy, these materials offer some beneficial functions: burned wound becomes less painful, reduces fluid and protein loss, donor sites have time for re-epithelialization, reduces external contamination and wound germ concentration in the wound.

Wound must be initially debrided because moisture and bedsores warm environment are favorable for bacterial growth and lead to wound infection and complete loss of skin despite biological bandage.

If wound was debrided and a clean granulation tissue with a concentration of germs less than  $10^5$  per gram of tissue resulted, biological bandage may help to prepare vessel bed for autograft. Similarly, burns with incomplete loss of skin can be treated with biological bandage to assist healing. If microbial concentration is greater than  $10^5$  per gram of tissue, bandage will be changed at least every 8 hours (some use topical antibacterial agents with frequent classical bandages until obtaining satisfactory concentration of germs). If concentration is  $10^5$  per gram of tissue, bandage will be changed every day, and if it is less than  $10^5$  per gram of tissue bandage may be changed every 2-3 days if there are no reasons to delay autograft. Since the first goal in wound burn therapy is transformation of open in closed wounds, between criteria for choosing biological dressing should be mentioned: adherence to wound, preventing fluid and heat loss, mechanical protection, avoidance of secondary bacterial infections, to be nontoxic, non antigenic and stable in contact with wound. Amniotic membranes were successfully used as dressing, but are poorly tolerated by patients and are not good in water loss by evaporation prevention. Davis used amniotic membrane for the first time to prepare beds containers for grafting skin. Fetal extra embryonic membranes are composed of inner amniotic membrane and outer membrane called chorion. After membranes components separation a mesenchymal surface of amniotic membrane and chorion is observed, which is the surface with which the membrane can be applied.

Amniotic membrane is easily available and relatively inexpensive provide besides a quick re-epithelialization in superficial burns and promote epithelialization in burns with complete loss of skin. Membrane is washed with 0.25% sodium hypochlorite, 200,000 units of penicillin and stored at  $40^{\circ}\text{C}$  up to 9 months, allowing access to a desired amount at any time. Amniotic membranes decrease pain, loss of fluid and proteins and protect uncured areas up to permanent coating layer application. The method of choice in medical practice is – autodermoplasty. However, this method has a significant disadvantage, namely new graft formation instead of wound sample take making impossible to use this technology in vast burns. For the treatment of deep burns and large areas that replace skin or accelerates grafts epithelialization auto transplantation. In different etiology diseases treatment cell therapy method gives positive results, even if diagnosis sounds like a verdict and disease is considered incurable.



clorit de sodiu 0,25%, penicilină 200.000 unități și stocată la 40°C până la 9 luni, permițând, astfel, accesul la o cantitate dorită în orice moment. Membranele amniotice scad durerea, pierderea lichidiană și cea de proteine, protejează suprafețele nevindecate până la aplicarea unui înveliș permanent.

Metoda de elecție în practica medicală o constituie autodermpoplastia. Însă, această metodă are un dezavantaj semnificativ și anume, formarea unei noi plăgi în locul prelevării grefei, făcând, astfel, imposibilă folosirea acestei tehnologii în arsurile vaste. În tratamentul bolilor de diferită etiologie, metoda de terapie celulară oferă rezultate pozitive.

În rezultatul dezvoltării biotehnologiilor, a apărut posibilitatea creșterii pe medii de cultură, în condiții de laborator, a keratinocitelor, cu ulterioara transplantare pe plăgile granulante (Green H., Rheinwald J., 1979).

### Material și metode

Pe parcursul anilor 2015-2016, în Centrul Republican de Leziuni Termice al Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie, s-a efectuat un studiu descriptiv, prospectiv, pe o serie de 24 de pacienți cu arsuri de gr. IIIAB și IV, în tratamentul cărora s-a utilizat membrana amniotică (MA) în calitate de pansament biologic temporar (14 bărbați și 10 femei). La 14 pacienți, MA s-a aplicat pe locurile donore de piele, iar la 10 dintre ei – pe plăgi post-arsură, după debridare tangențială. Lotul martor a inclus 32 de bolnavi cu arsuri de gr. II-III-IV, extinse pe o suprafață corporală între 5% și 60%. Arsurile de gr. II au fost tratate cu pansamente simple, îmbibate cu sol. Betadină 10%, pansamente atraumatice și unguente hidrosolubile. Pansamentele, îmbibate cu sol. Betadină diluată 1:1, se aplicau nemijlocit pe plăgile pacienților, cărora li s-au efectuat plastii cutanate, zona donatorie fiind îngrijită tradițional, cu pansamente aseptice.

### Rezultate

Conform profunzimii leziunii termice, distribuția persoanelor a fost următoarea: 4 (16,7%) – arsuri de gr. IIIA, 10 (41,7%) – arsuri de gr. IIIAB, 8 (33,3%) – arsuri de gr. IIIB-IV și 2 (8,3%) – arsuri de gr. IV. (Figura 1).

Aplicarea membranei amniotice s-a efectuat pe plăgile post-arsură, după debridarea tangențială în 10 cazuri, dintre care, în 8 cazuri, arsura a fost de gr. III și în 2 cazuri – de gr. IV.

Alotransplantul a purtat un caracter temporar, până la pregătirea satisfăcătoare a plăgii pentru autodermpoplastie. S-a observat o accelerare a formării țesutului granular și, respectiv, a scurtării perioadei preoperatorii până la autodermpoplastie de la 10,2 zile, în cazul tratamentului standard, cu repansări multiple, până la 6,5 zile, în cazul utilizării MA. La fel, a fost influențată și durata de spitalizare a pacienților respectivi, cu scurtarea ei de la o medie de 21,3 zile, în cazul pacienților tratați prin metodele standard, până la 17,5 zile, la pacienții tratați cu MA.

Distribuția pacienților internați, conform grupelor de vârstă, a fost următoarea: 21-45 de ani – 22 (68,7%) de pacienți, 45-60 de ani – 7 (21,8%) pacienți, peste 60 de ani – 3 (9,3%) pacienți (Figura 2).

Distribuția pacienților după gradul arsurilor superficiale și

As a result of biotechnologies development, there was the possibility of laboratory keratinocytes production on culture media (Green H., Rheinwald J., 1979) with subsequent transplanting on granulated wounds.

### Material and methods

During 2015-2016 in Republican Center of Thermic Lesions, Clinical Hospital of Traumatology and Orthopedics, was performed a prospective, descriptive study on a group of 24 patients with burns gr. IIIAB and IV. The amniotic membrane (MA) as a temporary biological dressing was used (14 men and 10 women) in this treatment. In 14 patients, MA was applied to donor sites skin, but in 10 of them on post-burn wounds after tangential debridement. Control group included 32 patients with burns of II-III-IV groups estimated between 5% and 60% of body surface, II group wound being treated with simple dressings of 10% Betadine solution, atraumatic dressings and water-soluble ointments. Dressings soaked with Betadine solution diluted 1:1 are applied directly to wounds of patients who undertook skin plasty, donor surface being cared with traditional aseptic dressings.

### Results

Percentage distribution of examined person from group I after the throughout depth of thermal injury: 4 (16.7%) presented the third degree burns of IIIA group, 10 (41.7%) – IIIAB group of burns 8 (33.3%) – IIIB-IV group of burns, 2 (8.3%) burns of IV group (Figure 1).

Application of amniotic membrane was performed on post-burn wounds after tangential debridement in 10 cases, where from eight cases of III degree burn and 2 cases of group IV.

The allograft had a temporary character until wound adequate preparation for autodermplasty. An acceleration of granulation tissue formation and respectively shortening of preoperative period until autodermplasty from 10.2 days in case of standard treatment with multiple dressing to 6.5 days in case of MA use was observed. Hospitalization period of patients was also influenced with its shortening from average length of 21.3 days for patients treated by standard methods to 17.5 days for patients for whom MA treatment was used.

Distribution of patients admitted to hospital by age, was the following: 21-45 years – 22 (68.7%) patients, 45-60 years – 7 (21.8%) patients over 60 – 3 (9.3%) patients (Figure 2).

Superficial burns of II-III group – 10 (31.2%) patients, profound IIIB-IV group 22 (68.7%) – patients. So, among the examined patients the third degree burns prevailed only those of III B-IV, but those with superficial lesion of II, IIIA degree had a low percentage (Figure 3).

Percentage distribution of individuals examined in group II by total area of thermal injury: in 6 (18.7%), they constituted up to 5%, to 10 (31.2%) amounted to 10% burns, 13 (40.6%) – burns up to 20% of body surface, 2 (6.2%) to 30% of body 1 (3.1%) more than 30% of body surface (Figure 4).

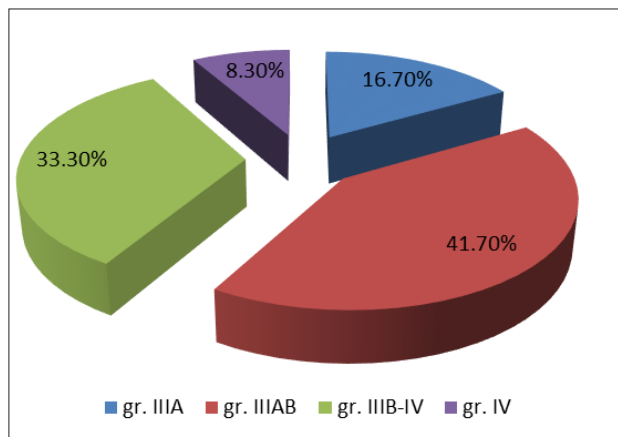
In 14 cases, MA was used on donor areas of autograft, where 11 thigh location cases, but in 3 cases on trunk, but in one of these patients was used, and on remaining granulating wounds. In case of application to donor wound an accelera-

profunde a fost următoarea: arsuri superficiale, gr. II-III A – 10 (31,2%) pacienți; arsuri profunde, gr. IIIB-IV – 22 (68,7%) de pacienți. Așadar, printre bolnavii examinați, au predominat cei cu arsuri de gradul IIIB-IV (Figura 3).

Distribuția procentuală a persoanelor din lotul martor, în funcție de suprafața totală a leziunii termice a fost următoarea: 6 (18,7%) pacienți – până la 5%, 10 (31,2%) pacienți au avut suprafața arsă până la 10%; 13 (40,6%) pacienți au avut arsă până la 20% din suprafața corpului, iar 2 (6,2%) – până la 30%. Un pacient (3,1%) a fost ars pe mai mult de 30% din suprafața corpului (Figura 4).

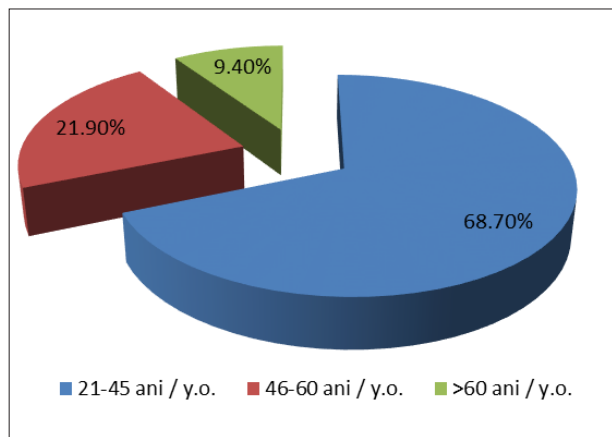
În 14 cazuri, MA s-a utilizat pe zonele donore de autogrefă, dintre care, în 11 cazuri cu localizare pe coapsă, iar în 3 cazuri – pe trunchi; la unul dintre pacienți, MA s-a aplicat și pe plăgi granulare restante. În cazul aplicării pe plăgile donore, s-a observat o accelerare a procesului de epitelizare și, în rezultat, o închidere mai precoce a plăgii, concomitent cu reducerea complicațiilor septică și eliminarea necesității pansamen-

tion of epithelialization process was observed and resulted in earlier wound closure, concurrently with septic complications reduction and the need of post-operative dressings' elimination. MA is applied to wound after removing the blood and covered with atraumatic dressing. It adheres intimately to wound bed and detaches when wound is completely epithelialized. In patients to whom donor bed membrane was applied faster regeneration in average 7 days was observed compared to the patients treated with standard method, where regeneration occurred for 12.4 days. Simultaneously decrease in dolor syndrome intensity in the postoperative period was observed. Considering the fact that MA is applied only once and remains on the wound throughout postoperative period, patient discomfort and cost of consumables reduction due to need for repeated dressing changes elimination was highlighted. Applying MA as temporary dressing of granular wound, amniotic foil was protection barrier of granulations against injuries, shear forces and fluid loss.



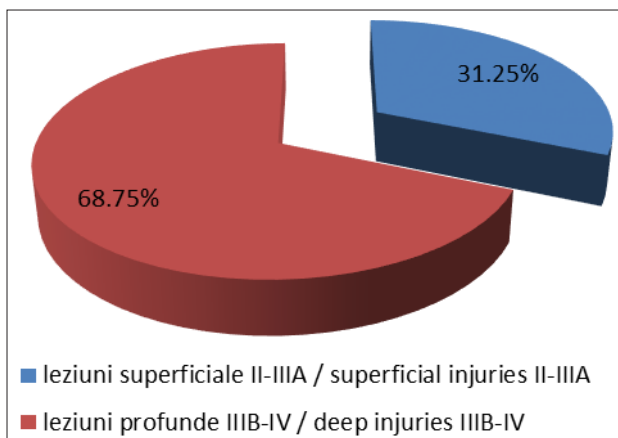
**Fig. 1** Utilizarea membranei amniotice în diverse grade ale arsurilor.

**Fig. 1** Use of amniotic membranes in various degrees of burns.



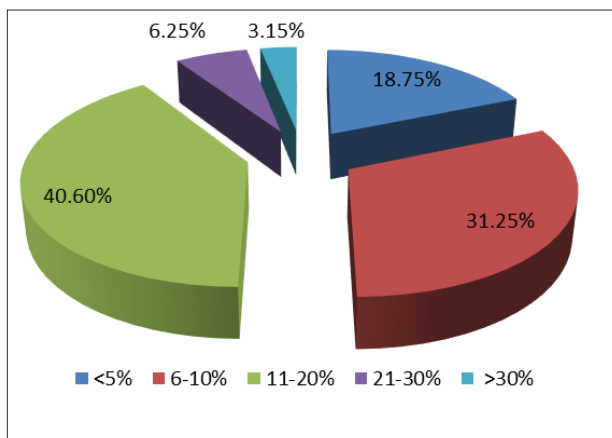
**Fig. 2** Repartizarea pacienților pe grupuri de vârstă.

**Fig. 2** Patients repartition by age groups.



**Fig. 3** Repartiția pacienților după gradul arsurilor superficiale și profunde (%).

**Fig. 3** Patients distribution by superficial and deep burns degree (%).



**Fig. 4** Repartiția pacienților după suprafața totală de afectare prin arsuri (%).

**Fig. 4** Patients distribution by total burn area (%).

telor postoperatorii. MA se aplică pe plagă după înlăturarea sângelui și se acoperă cu pansament atraumatic. Ea aderă intim la patul plăgii și se detașează odată ce plaga este complet epitelizată. La pacienții cărora li s-a aplicat membrană amniotică pe patul donator, s-a observat o regenerare mai rapidă, în mediu, de 7 zile, comparativ cu pacienții tratați prin metoda standard, la care regenerarea a survenit timp de 12,4 zile. Concomitent, s-a observat și o scădere a intensității durerii postoperatorii.

Deoarece MA se aplică o singură dată și rămâne pe plagă pe toată perioada postoperatorie, s-a evidențiat și reducerea disconfortului pacientului și a costului consumabilelor medicale, datorită evitării pansamentelor repetate. La aplicarea MA în calitate de pansament temporar al plăgilor granulare restante, foia amniotică a jucat rolul unei bariere de protecție a granulației contra traumatismelor, forțelor de forfecare și a pierderilor de lichid.

În 3 cazuri s-a constatat rejectarea MA din cauza prezenței *Stafilococcus aureus* pe plăgile granulare.

### Discutii

Beneficiile de bază a utilizării MA în tratarea suprafețelor arse au fost: reducerea intensității durerii, scăderea ratei de infecții, diminuarea pierderilor de electroliți, proteine și apă la nivelul plăgii post-arsură. La fel, s-a ameliorat proprietatea de barieră mecanică de protecție contra forțelor de forfecare, traumatismelor minore a plăgilor. La folosirea MA pe plaga debridată în arsurile de gr. IIIB, se stimulează producerea țesutului granular într-un timp mai scurt, ceea ce face posibil mai rapid de a acoperi definitiv plaga cu autogrefă de piele. În cazul plăgilor cu arsuri de gr. IIIA, MA accelerează epitelizarea. La utilizarea MA în calitate de pansament biologic a locului donator de autogrefă, se ușurează epitelizarea plăgii, cu constituirea unui epiteliu nou, mai subțire și mai fin, decât în cazul tratamentului standard.

### Concluzii

- 1) Membrana amniotică reprezintă un material de acoperire a plăgilor accesibil din punct de vedere al disponibilității, preparării și stocării. Fiind subțire și flexibilă, membrana amniotică este ușor aplicabilă pe diverse suprafețe, aderă intim la patul plăgii și este ușor înlăturată la necesitate.
- 2) Beneficiile de bază sunt scăderea intensității durerii, ratei de infecții și diminuarea pierderilor de electroliți, proteine și apă la nivelul plăgii post-arsură. La fel, manifestă o proprietate de barieră mecanică de protecție contra forțelor de forfecare, traumatismelor minore ale plăgilor.
- 3) La folosirea pe plaga debridată cu arsură de gr. IIIB, membrana amniotică stimulează producerea țesutului granular într-un timp mai scurt, ceea ce face posibil mai rapid de a acoperi definitiv plaga cu autogrefă de piele, iar în plăgile arse de gr. IIIA, se accelerează epitelizarea și regenerarea, cu formarea unui țesut mai subțire și mai fin decât în cazul tratamentului standard.

### Declarația de conflict de interese

Nimic de declarat.

In 3 cases, MA rejection was determined due to *Staphylococcus aureus* present on granulating wounds as a result of poor drain.

### Discussion

Basic benefits are lowering dolor syndrome, decrease of infection rate, electrolytes loss, proteins and water reduction from wound post burning. The same is protection of mechanical barrier property against shear forces, minor trauma wounds. Using on debrided wound of IIIB group stimulates production of granulation tissue in lesser time period, making possible to cover quicker definitely wound with autograft skin, and on wounds of IIIA group this leads to promote epithelialization reducing regeneration time. Using as biological dressing of autograft donor site this promote wound epithelialization with new epithelium establishment thinner and smoother than the standard therapy.

### Conclusions

- 1) Amniotic membrane is wound covering material accessible in terms of availability, preparation and storage. Being easy to apply, it is also flexible, making it possible for amniotic membrane to be applied to various surfaces. It has the property to adhere intimately to the wound bed and is easily removed from necessity.
- 2) Basic benefits lower dolor syndrome, decrease rate of infection, reduce electrolytes, proteins and water loss from the wound post burn. The same is mechanical barrier property of protection against the shear forces, minor trauma wounds.
- 3) Using debrided wound of IIIB group stimulates production of granulation tissue in less time, making it possible to quickly cover wound with skin autograft permanently, and in IIIB wounds this leads to promoting epithelialization reducing regeneration time. Using as biological dressing the autograft donor site promotes epithelialization of wound with new thinner and smoother epithelium establishment than the standard therapy.

### Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

### Authors' contribution

All authors equally contributed to the elaboration and writing of the manuscript. All authors have read and accepted the final version of the article.

### Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit la elaborarea și scrierea manuscrisului. Toți autorii au citit și aprobat versiunea finală a manuscrisului.

### Referinte / references

- 1) Hadjiinski O., Anatassov N., Amniotic membrane for temporary burn coverage. [http://www.medbc.com/annals/review/vol\\_9/num\\_2/text/vol9n2p88.htm](http://www.medbc.com/annals/review/vol_9/num_2/text/vol9n2p88.htm)
- 2) Alvin Wen Choong Chua, Yik Cheong Khoo, Bien Keem Tan. Skin tissue engineering advances in severe burns: review and therapeutic applications. *Burns and Trauma*, 2016; 4: 3. <https://doi.org/10.1186/s41038-016-0027-y>
- 3) Mohammadi A., Mohammadi M. How does human amniotic membrane help major burn patients who need skin grafting: New experiences. <http://www.intechopen.com/books/skin-grafts-indications-applications-and-current-research/how-does-human-amniotic-membrane-help-major-burn-patients-who-need-skin-grafting-new-experiences>.
- 4) Andonovska D., Dzokic G., Spasevska L. The advantages of the application of amnion membrane in the treatment of burns. <http://www.manu.edu.mk/prilozi/14and.pdf5>) Loeffelbein D., Rohleder N., Eddicks M. *et al.* Evaluation of human amniotic membrane as a wound dressing for split-thickness skin-graft donor sites. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4070483/>.
- 6) Michael D. Caldwell. Wounds and Wound Management. Editura Saunders, 2010.
- 7) Eskandarlou M., Azimi M, Rabiee S. The healing effect of amniotic membrane in burn patients. [http://www.wjps.ir/files/site1/user\\_files\\_c1050c/mehdieskandarlou-A-10-65-2-ddc57b1.pdf](http://www.wjps.ir/files/site1/user_files_c1050c/mehdieskandarlou-A-10-65-2-ddc57b1.pdf).