

## АНАЛИЗ ПОЛУЧЕНИЯ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫХ МАТРИКСОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ (ОБЗОР)

**В. А. Брумберг** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, специализированная лаборатория цитологии, генетики и иммунологии, инженер; **С. Е. Лаук-Дубицкий** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, специализированная лаборатория цитологии, генетики и иммунологии, биолог; **Т. А. Астрелина** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, руководитель центра биомедицинских технологий, доктор медицинских наук; **И. В. Кобзева** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующая криобанком центра биомедицинских технологий, кандидат медицинских наук; **А. Ю. Бушманов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, первый заместитель генерального директора, доктор медицинских наук, профессор; **А. С. Самойлов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, генеральный директор, кандидат медицинских наук.

## ANALYSIS OF PRODUCTION OF THE DECELLULARIZED SCAFFOLDS AND THEIR POTENTIAL USE IN CARDIOVASCULAR SURGERY (REVIEW)

**V. A. Brumberg** — Federal Medical and Biophysical Center n. a. A. I. Burnasyan of Federal Medical Biological Agency, Specialized laboratory cytology, genetics and immunology, engineer; **S. E. Lauk-Dubitsky** — Federal Medical and Biophysical Center n. a. A. I. Burnasyan of Federal Medical Biological Agency, Specialized laboratory cytology, genetics and immunology, biologist; **T. A. Astrelina** — Federal Medical and Biophysical Center n. a. A. I. Burnasyan of Federal Medical Biological Agency, head of Center for Biomedical Technologies, Doctor of Medical Sciences; **I. V. Kobzeva** — Federal Medical and Biophysical Center n. a. A. I. Burnasyan of Federal Medical Biological Agency, head of kryobank of Center for Biomedical Technologies, Candidate of Medical Sciences; **A. Yu. Bushmanov** — Federal Medical and Biophysical Center n. a. A. I. Burnasyan of Federal Medical Biological Agency, vice director, Doctor of Medical Sciences, professor; **A. S. Samoilov** — Federal Medical and Biophysical Center n. a. A. I. Burnasyan of Federal Medical Biological Agency, general director, Candidate of Medical Sciences.

Дата поступления — 6.12.2015 г.

Дата принятия в печать — 18.12.2015 г.

**Брумберг В. А., Лаук-Дубицкий С. Е., Астрелина Т. А., Кобзева И. В., Бушманов А. Ю., Самойлов А. С.** Анализ получения децеллюляризованных матриксов и их применения в сердечно-сосудистой хирургии (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал 2015; 11 (4): 615–620.

Проанализированы литературные данные по применению децеллюляризованных матриксов в сердечно-сосудистой хирургии, а также оценен ряд методических подходов, используемых для их получения. Использовались ресурсы научно-исследовательских данных систем Pubmed, Science Direct. Предпочтение отдавалось наиболее информативным работам за последние десять лет.

**Ключевые слова:** децеллюляризованные матриксы, сердечно-сосудистая хирургия, анализ, синтез.

**Brumberg VA, Lauk-Dubitsky SE, Astrelina TA, Kobzeva IV, Bushmanov AY, Samoilov AS.** Analysis of production of the decellularized scaffolds and their potential use in cardiovascular surgery (review). *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2015; 11 (4): 615–620.

Data on application of decellularized scaffolds and tissue-engineered vascular conduits in the field of cardiovascular surgery have been analyzed, and also techniques for their procurement have been studied. For finding, selection and synthesis resources of research data from the systems Pubmed, ScienceDirect were used. The preference was given to the most informative, comprehensive and contemporary publications.

**Key words:** decellularized scaffolds, cardiovascular surgery, selection, synthesis.

На современном этапе трансплантация сердца, кровеносных сосудов и сердечных клапанов является одним из эффективных способов лечения пациентов с тяжелыми сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Однако это требует применения длительной иммуносупрессивной или антикоагуляционной терапии с целью профилактики иммунологического отторжения и тромбозомболических осложнений. Кроме того, все современные протезы, изготовленные на основе искусственных материалов, не способны к росту и развитию в организме, что существенно ограничивает их применение в детской сердечно-сосудистой

хирургии. Альтернативным методом лечения может стать применение децеллюляризованных матриц (ДМ) тканевой инженерии, что даст возможность получить биоматериалы с комбинацией стволовых клеток и факторов роста, способных ускорить эндогенное формирование новых тканей и избежать применения тяжелой сопутствующей терапии. Наряду с этим использование ДМ позволит пренебречь созданием искусственных условий для синтеза внеклеточного матрикса [1].

Несмотря на применение в тканевой инженерии разнообразных современных технологий, таких как биопринтеры и биореакторы, до настоящего времени не удалось получить полностью функциональный трансплантат. Частично это может быть объяснено недостаточным пониманием механизмов онтогенеза, так как комбинирование биоматериалов с клетками и факторами роста не позволяет в полной степени воспроизвести сложный процесс регенерации ткани [2].

**Получение и применение тканеинженерных аналогов сердца на основе ДМ при трансплантации сердца.** Сердечная недостаточность (СН) характеризуется острым или хроническим нарушением работы сердца, приводящим к кислородной недостаточности и метаболическим нарушениям в тканях [3, 4].

Трансплантация сердца по-прежнему остается основным способом лечения терминальной стадии сердечной недостаточности [5, 6]. В ряде случаев подбор донорских органов для трансплантации может превышать допустимое время ожидания у реципиента, в связи с чем возрастает актуальность получения искусственного сердца с помощью биоинженерных технологий. Реализация традиционного подхода в сердечно-сосудистой тканевой инженерии во многом определяется успешностью применения синтетических или биологических матричных материалов в сочетании с клетками сердца. Обычно подобные матричные материалы, к которым относятся желатин, коллаген или синтетические полимеры *in vitro*, культивируют с кардиомиоцитами с целью получения полноценной сердечной ткани (при трансплантации *in vivo* тестируются такие параметры, как когерентные сокращения, низкое диастолическое давление и синцитиальная генерация потенциалов действия) [8, 9]. Недостаточная миграция клеток на материал-полимерной основе и возникающая воспалительная реакция вследствие его деградации являются частыми осложнениями, встречающимися *in vivo*, которые могут быть решены с помощью тканеинженерных технологий с использованием полуфункциональной трехмерной ткани без применения искусственных материалов-подложек [10]. Однако полученная ткань требует адекватного моделирования размеров, с доказанными сократительными и функциональными свойствами [11, 12].

Биосовместимые трёхмерные опорные структуры представляют собой компоненты внеклеточного матрикса с сохранённой геометрической формой и сосудистой архитектоникой сердца, которые могут быть получены при децеллюляризации сердца трупных доноров [13]. В доклиническом исследовании внеклеточный матрикс, полученный из малой субмукозы толстого кишечника свиньи и субмукозы мочевого пузыря, был использован в качестве сосудистого трансплантата у собаки [14]. Впервые Н. С. Ott с соавт. описали метод децеллюляризации сердца крысы с помощью коронарной перфузии [15]. Аорта крысы была каннулирована с целью поддержания ретро-

градной перфузии сердца ионными детергентами. В результате децеллюляризации удалось сохранить нижележащий внеклеточный матрикс и получить бесклеточную перфузируемую сосудистую архитектуру с функциональными бесклеточными клапанами и интактными геометрическими параметрами камер. Впоследствии полученный биологический каркас был «заселен» кардиомиоцитами и клетками эндотелия и культивировался в биореакторе в течение 28 дней с стимуляцией коронарной перфузии и поддержанием электрической стимуляции. Культивируемый биологический каркас был способен генерировать сокращения. Данная методика децеллюляризации целого органа с применением перфузии растворами ионных детергентов была эффективна за счет уменьшения расстояния диффузии, необходимого для проникновения децеллюлярирующих агентов в клетки. Качество того или иного ДМ может варьировать в зависимости от возраста и патологических состояний донора.

**Использование ДМ при протезировании клапанов сердца.** На протяжении всей жизни клапанный аппарат сердца (трехстворчатый; легочный; митральный; аортальный клапаны) обеспечивает односторонний поток крови от предсердий к желудочкам и от желудочков к сердечным артериям. Ряд патологических состояний может приводить к структурным аномалиям, к деформации клапанов и к нарушению их функции с развитием острой и хронической форм сердечной недостаточности [16].

В настоящее время оптимальным видом лечения органических поражений сердечных клапанов или их структур, не поддающихся пластической коррекции, является их протезирование [17]. Наиболее часто используются искусственные протезы — механические клапаны, которые надежны и долговечны, но требуют проведения сопутствующей антикоагуляционной терапии, сопряженной с развитием тяжелых тромбоэмболических осложнений [18].

Альтернативным материалом служат биопротезы, представляющие собой аортальные клапаны свиньи и бычий перикард, закрепленные на твердой основе, например на синтетическом полимере. Биоклапаны такого типа обычно фиксируются в глутаральдегиде, который поперечно сшивает коллагеновые волокна и снижает антигенность ткани. Кроме того, антиминерализация, применяемая при изготовлении биопротезов последнего поколения, способствует уменьшению риска кальцификации [19]. Однако неизбежное разрушение ксенобиопротезов является основной причиной нарушения их функциональных свойств и повышенного риска повторных операций по сравнению с механическими протезами [20]. Методы тканевой инженерии позволят получить долговечные и неиммуногенные клапаны, которые способны к росту и ремоделированию по мере старения пациента [21, 22]. Фундаментальное требование в традиционной тканевой инженерии искусственных клапанов сердца состоит в получении трехмерного матрикса с соответствующими механическими свойствами, с подходящим типом клеток [23]. В этом случае образцами децеллюляризованных графтов могут являться гомографты аорты, а также перикард и клапаны сердца свиньи [24].

Проведены клинические исследования в области трансплантации тканеинженерных клапанов сердца. При этом получены противоречивые данные. Первое клиническое применение биологического заменителя клапана аорты (Syner Graft) — децеллюляризи-

ванный аортальный клапан свиньи (без фиксации глутаральдегидом) — описано при использовании его в операции по Россу [25]. Более поздний аналог этого протеза на основе ДМ аортального клапана свиньи протестирован во многих клинических исследованиях. Так, в 2003 г. было проведено исследование по замене сердечных клапанов у четверых детей с пороками сердца в возрасте 2,5–11 лет. В послеоперационном периоде продемонстрированы удовлетворительные функциональные качества трансплантированных клапанов. Однако в течение одного года после их трансплантации в результате разрыва клапана и раннего разрушения трое детей погибли. Кроме того, по данным гистологического исследования извлеченных сердечных клапанов было выявлено, что чужеродный коллагеновый матрикс способствовал индукции сильной воспалительной реакции. Трансплантированные графты обладали также плохой целлюляризацией и вызывали фиброз [25]. В более поздней публикации [26], в которой сравнивалась эффективность трансплантации децеллюляризованного аллогraftа лёгочного клапана и стандартного криоконсервированного аллогraftа в короте из 63 пациентов в возрасте от 4 до 58 лет (29 из них был имплантирован децеллюляризованный аллогraft лёгочного клапана, а 34 пациентам — стандартный криопресервированный аллогraft), сообщается об одинаковом числе реопераций у пациентов, подвергавшихся процедуре Росса, в то время как количество отторжений было не в пользу Syner Graft [26].

Другой биологический заменитель лёгочного клапана — Matrix P был тестирован в реконструкции выносящего клапана правого желудочка при наследственных либо приобретенных заболеваниях сердца или с целью замены лёгочного клапана при операции Росса [27]. В частности, в 2012 г. опубликованы данные о результатах хирургических реконструкций выносящего клапана правого желудочка у 93 пациентов (медиана возраста 0,16–290 месяцев) с использованием децеллюляризованных лёгочных биоклапанов свиньи, Matrix P и Matrix P Plus. У 35,5% пациентов зарегистрировано разрушение ксенографтов, а у 29% — дисфункция клапанного аппарата. Разрушение графтов произошло в результате их расширения или стеноза. Во всех удаленных образцах при гистологическом исследовании были выявлены выраженный воспалительный процесс и слабая целлюляризация [27]. Однако в другом исследовании по применению биоклапанов Matrix P, в котором проводилась реконструкция клапанного аппарата по поводу различных врожденных пороков сердца 61 пациенту в возрасте от 9 дней до 50 лет, были продемонстрированы удовлетворительные функциональные свойства этих клапанов [28].

**Получение аллогraftов сосудов и тканеинженерных конструкций на их основе.** В настоящее время реконструктивная сердечно-сосудистая хирургия активно развивается. Наиболее часто при патологиях коронарных и периферических сосудов применяются шунтирующие операции [29]. В качестве шунтов преимущественно используются аутологичные сосуды (подкожные вены или внутренняя артерия молочной железы). Однако у 40% пациентов, которым необходимо проведение операций артериального шунтирования, собственные сосуды подходящего качества, диаметра и длины могут отсутствовать. Но даже если удастся получить необходимый аутологичный графт, существуют риски развития окклюзии сформированного шунта в связи с наличием

атеросклеротических изменений в нативных нешунтированных артериях [30, 31]. Это способствовало поиску других источников получения сосудистых протезов.

Наиболее часто в сосудистой хирургии при шунтировании сосудов крупного диаметра в качестве протезов используются графты, сделанные из синтетических полимеров, которые показали отличные результаты. Однако они практически не используются в аортокоронарном шунтировании вследствие повышенного риска развития тромба на поверхности просвета сосудов малого диаметра [32]. Синтетические сосудистые графты демонстрируют также недостаточные механические свойства по сравнению с аутологичными, что может привести к окклюзии графта [33].

С использованием подходов тканевой инженерии удалось получить сосудистые графты, обладающие соответствующими структурными и механическими свойствами, например набуханием и растяжением, а также удержанием шва и проводимостью клеток [34]. Сообщалось также, что имплантированные бесклеточные аллогraftы артерий не вызывают иммунологического отторжения [35, 36].

По данным литературы, для изготовления ДМ сосудов наиболее часто используется метод двусторонней перфузии с растворами детергентов. В первых публикациях в качестве децеллюляризирующего вещества использовался додецилсульфат натрия (SDS), который приводил к образованию внеклеточного матрикса с морфологически интактными эластиновой и коллагеновой сетями, что способствовало снижению иммуногенности аллогraftа или ксенографта. При этом полученные ДМ обеспечивали оптимальное микроокружение для поддержания миграции клеток, их роста и дифференцировки, но не обладали необходимыми сосудам физико-механическими свойствами [37, 38].

Таким образом, дальнейшая задача, которая стояла перед специалистами тканевой инженерии, заключалась в разработке методик децеллюляризации с получением сосудистых графтов, обладающих механическими свойствами нативных сосудов и не вызывающих иммунологического отторжения. В исследовании J. C. Fitzpatrick (2010) были продемонстрированы различные протоколы с использованием в качестве децеллюляризирующего вещества SDS, Triton X-100/деоксихолата натрия и Triton X-100/EDTA (динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты). Это позволило полностью лизировать гладкие миоциты сосудов, что привело к значительно меньшей вариабельности механических параметров. При этом раствор Triton X-100/деоксихолата способствовал более эффективному удалению клеток [39]. Однако в исследовании Y. Zou с соавт. (2012) преимущества в использовании Triton X-100 по сравнению с додецилсульфатом натрия выявлено не было: оба вещества способствовали эффективному удалению клеток из свиной аорты и сохранению нативной структуры внеклеточного матрикса [40]. Эффективность додецилсульфата натрия также была доказана в работах N. D. Martin с соавт. (2005) при децеллюляризации подкожных вен человека. Полученные ДМ характеризовались сохраненной морфологией коллагеновой сети [41].

В дальнейшем, ввиду простоты получения ДМ и их широкой доступности, было разработано множество методологических подходов для получения тканеинженерных кровеносных сосудов (ТИКС),



большинство из которых основаны на сочетании бесклеточных матриц с аутологичными типами клеток. Однако в некоторых публикациях описываются альтернативные технологии — получение тканеинженерных сосудов, созданных из листов клеток без использования матрицы-подложки [42].

При конструировании ТИКС получены противоречивые результаты. Так, М. Ноеніска с соавт. (2008) исследовали возможность применения пупочных вен человека в качестве источника ТИКС. Они показали, что пупочные вены, эндотелий которых был предварительно удален, могут быть совместно культивированы с аутологичными клетками, полученными от пациентов, которым назначили аортокоронарное шунтирование, с целью образования неэндотелия и достижения им 80% конfluenceности [43]. Также авторами была поставлена задача изучить целесообразность использования децеллюляризированной пупочной вены человека в качестве матрицы для аллогraftов при шунтировании. Сосуды были децеллюляризованы различными детергентами, осмотическим лизисом и пероксиуксусной кислотой. В итоге авторами было показано, что децеллюляризованные пупочные вены, по-видимому, требуют дополнительных модификаций, чтобы поддерживать оптимальный сидинг аутологичных клеток. В связи с этим удаление эндотелия сосудов донора и замещение эндотелием реципиента представляется более перспективной альтернативой немодифицированным децеллюляризованным матриксам пупочных вен при конструировании ТИКС с неиммуногенными люминальными поверхностями [43].

N. L'Heureux с соавт. (1993) удалось получить ТИКС с помощью альтернативной технологии. Образованный graft был представлен исключительно культивируемыми миоцитами и фибробластами человека. После тридцати дней культивирования происходило формирование листков, которые закручивались вокруг инертной трубчатой основы.

Образованный в результате цилиндрический конструкт помещался в биореактор, который обеспечивал люминальный поток культуральной среды и механическую поддержку. После недели культивирования на реконструированную среднюю оболочку сосуда «накручивался» листок фибробластов, образующий адвентицию. После восьми недель культивирования в биореакторе внутренняя трубчатая мандрель была удалена и в оба конца полученного конструкта введены канюли для обеспечения посадки клеток эндотелия в просвет. Полученная модель была трансплантирована собакам при окклюзии бедренной артерии. С целью предотвращения развития немедленного тромбоза, связанного с острой реакцией отторжения эндотелия ксенографта, эндотелий данных сосудистых конструктов был удален. В 50% авторами была зарегистрирована проходимость сосудистых аллотрансплантантов [42].

В исследовании М. Vertanha с соавт. удалось получить тканеинженерный кровеносный сосуд, эндотелий которого был реконструирован за счёт сокультивирования децеллюляризованных SDS матриксов полых вен кроликов с мультипотентными стромальными клетками (МСК), дифференцировка которых в эндотелиоциты индуцировалась фактором роста эндотелия (ЕІGF), полученного из лизатов тромбоцитов человека [44]. После трёх недель сокультивирования с МСК используемые матрицы подвергались иммуногистохимическому анализу с использованием моноклональных антител против фасцина — белка,

широко экспрессирующегося в клетках эндотелия. Кроме того, морфология децеллюляризованных матриксов оценивалась методом окрашивания трихромом по Массону с целью подтверждения полного удаления клеток. Результаты гистологических исследований, приведенных в работе, показали присутствие в просвете децеллюляризованных матриксов эпителиально-подобных клеток с уплощенной / вытянутой морфологией, в дальнейшем идентифицированных как эндотелиальные [44]. Таким образом, был разработан метод реконструирования функционально активного эндотелия в просвете децеллюляризованного матрикса полых вен с использованием стволовых клеток; в совокупности сочетание биоматрикса, МСК и индукции их дифференцировки в эндотелиоциты представляется интересным подходом для получения ТИКС [44].

Другой подход к получению ТИКС был применен Z. H. Syedain с соавт. (2014), где graftы с диаметром 4 мм и длиной до 2–3 см были изготовлены из фибринового геля, реконструированного *in vitro* кожными фибробластами овец. Фибрин в форме гидрогеля использован в качестве основного поддерживающего материала, что позволяло нивелировать риски развития иммунологической реакции хозяина на остаточный синтетический материал [45]. Культуру фибробластов кожи овцы вводили в трубчатую основу длиной до 9 см, с внешним и внутренним диаметром 12,5 мм и 4 мм соответственно, содержащую стеклянную мандрель. Полученные graftы культивировали в проточном биореакторе непрерывного действия в течение трех недель [45]. Далее они были децеллюляризованы смесью детергентов SDS+Triton X-100 с последующей инкубацией с ДНКазой. Полученные ТИКС были использованы при трансплантации шести овцам в качестве graftов бедренных артерий на срок от 8 до 24 недель. После вывода животных из эксперимента проводили гистологическое исследование имплантированных биопротезов. Гистологический анализ эксплантированных graftов показал наличие миграции как на люминальной, так и на аблюминальной поверхности. Частичная эндотелиализация graftов в их средних участках была заметна после восьми недель, в то время как анастомозы были полностью покрыты эндотелием. После 24 недель восстановление эндотелия наблюдалось по всей длине graftа. Таким образом, было показано, что полученные на основе суспензии фибробластов дермы овцы с фибрином ТИКС могут быть потенциально применены в качестве имплантатов при окклюзии бедренных артерий и не являются тромбогенными [45].

#### **Клинические примеры использования ТИКС в сердечно-сосудистой хирургии.**

Тканеинженерный сосудистый имплантат был получен из аутологичных васкулярных клеток, выращенных в культуре и заселённых на биодеградируемый каркас из поликапролактон-полилактида [46]. Получившийся аутологичный искусственный сосуд был имплантирован на место сонной артерии когорте из 42 пациентов в возрасте от 1 до 24 лет (медиана возраста составляла 5,5 года). Авторами не было зарегистрировано тромботических осложнений или стенозов тканеинженерных аллогraftов; все graftы обладали хорошей проводимостью, и, кроме того, их диаметр увеличивался со временем (110%±7% относительно размера имплантата) [46].

Несколькими годами позднее другим коллективом авторов сделано сообщение о клиническом приме-

нении ТИКС для реконструкции подвздошной вены 49-летней пациентки [47]. Реконструкция подвздошной вены была выполнена с помощью тканеинженерной неовены, полученной при заселении криопресервированного децеллюляризованного аллогraftа эндотелиальными клетками подкожной вены реципиента и культивирования данной конструкции в биореакторе. В первые три месяца после трансплантации регистрировалось открытое состояние ТИКС, однако в результате злокачественной опухоли малого таза, наблюдаемой у пациентки, в течение четвертого месяца наблюдалась обструкция graftа [47].

Другая группа исследователей применяла многослойные клеточные слои для создания сосудов, которые были использованы при проведении гемодиализа [48]. В этом исследовании десяти пациентам с терминальной почечной недостаточностью, подвергавшимся гемодиализу, были имплантированы полностью аутологичные ТИКС, полученные с использованием технологии, описанной N. L'Heureux с соавт. Graft был функциональным в течение 6–20 месяцев после имплантации [48].

Как уже отмечалось, заболевания сердечно-сосудистой системы являются основной причиной смертности во всем мире. По оценкам экспертов ВОЗ, в 2012 г. от сердечно-сосудистых заболеваний умерло 17,5 млн человек, что составило 31% всех случаев смерти. Часто единственным способом лечения данных заболеваний является трансплантация целого органа, как при терминальной стадии сердечно-сосудистой недостаточности, так и его части, сосудов или сердечных клапанов. Важно подчеркнуть, что трансплантация децеллюляризованных аллогraftов сердечных клапанов, в особенности в том случае, когда они не заселяются аутогенными эндотелиальными клетками-предшественницами, приводит к неудовлетворительным результатам. По сравнению с децеллюляризованными аллогraftами клапанов, децеллюляризованные матриксы и полученные на их основе ТИКС используются куда более широко в восстановительной хирургии, при этом наихудшие результаты (неудовлетворительная проходимость, тромботические и инфекционные осложнения) демонстрируют аллогенные сосудистые аллотрансплантаты, полученные на основе PTFE (политетрафторэтилен) — матриксов; значительно лучшими альтернативами являются криопресервированные сосудистые аллогraftы маргинального происхождения и ТИКС, полученные в результате заселения децеллюляризованного матрикса (синтетического или полученного от сосудов маргинальных доноров) аутологичными МСК реципиента.

Именно поэтому получение и изучение кардиоваскулярных протезов на основе децеллюляризованных матриксов с комбинацией аутологичных клеток и факторов роста — актуальная задача, которая стоит перед современными исследователями в данной области.

Обобщая, можно заключить, что взаимодействие между различными областями тканевой инженерии, включающее в себя (но не ограниченное ими) стволовые клетки, биоматериалы, технологии децеллюляризации / рецеллюляризации и криоконсервации, будет являться ключевым фактором для успешного применения децеллюляризованных матриксов в лечении сердечно-сосудистых заболеваний.

## References (Литература)

1. Badylak SF, Freytes DO, Gilbert TW. Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function. *Acta Biomater* 2009; 5 (1): 1–13.
2. Moroni F, Mirabella T. Decellularized matrices for cardiovascular tissue engineering. *Am J Stem Cells* 2014; 3 (1): 1–20.
3. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2012; 33 (14): 1787–847.
4. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. Heart disease and stroke statistics — 2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2013; 127 (1): 6–245.
5. Banner NR, Bonser RS, Clark AL, et al. UK guidelines for referral and assessment of adults for heart transplantation. *Heart* 2011; 97 (18): 1520–7.
6. Mehra MR, Kobashigawa J, Starling R, et al. Listing criteria for heart transplantation: International Society for Heart and Lung Transplantation guidelines for the care of cardiac transplant candidates — 2006. *J Heart Lung Transplant* 2006 Sep; 25 (9): 1024–42.
7. Vega JD, Moore J, Murray S, Chen JM, Johnson MR, Dyke DB. Heart transplantation in the United States, 1998–2007. *Am J Transplant* 2009; 9 (4): 932–41.
8. Zimmermann WH, Melnychenko I, Eschenhagen T. Engineered heart tissue for regeneration of diseased hearts. *Biomaterials* 2004; 25 (9): 1639–47.
9. Zimmermann WH, Melnychenko I, Wasmeier G, et al. Engineered heart tissue grafts improve systolic and diastolic function in infarcted rat hearts. *Nat Med* 2006; 12 (4): 452–8.
10. Shimizu T, Yamato M, Kikuchi A, Okano T. Cell sheet engineering for myocardial tissue reconstruction. *Biomaterials* 2003; 24 (13): 2309–16.
11. Radisic M, Deen W, Langer R, Vunjak-Novakovic G. Mathematical model of oxygen distribution in engineered cardiac tissue with parallel channel array perfused with culture medium containing oxygen carriers. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288 (3): H1278–89.
12. Radisic M, Park H, Chen F, Salazar-Lazzaro JE, et al. Biomimetic approach to cardiac tissue engineering: oxygen carriers and channeled scaffolds. *Tissue Eng* 2006; 12 (8): 2077–91.
13. Song JJ, Ott HC. Organ engineering based on decellularized matrix scaffolds. *Trends Mol Med* 2011; 17 (8): 424–32.
14. Robinson KA, Li J, Mathison M, et al. Extracellular matrix scaffold for cardiac repair. *Circulation* 2005; 112 (9): 1135–43.
15. Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, et al. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nat Med* 2008; 14 (2): 213–21.
16. Brinkley DM, Gelfand EV. Valvular heart disease: classic teaching and emerging paradigms. *Am J Med* 2013; 126 (12): 1035–42.
17. Bonow RO, Carabello BA, et al. 2008 focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease). Endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52 (13): e1–142.
18. Brown JM, O'Brien SM, Wu C, et al. Isolated aortic valve replacement in North America comprising 108,687 patients in 10 years: changes in risks, valve types, and outcomes in the Society of Thoracic Surgeons National Database. *Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 137 (1): 82–90.
19. Chikwe J, Filsoufi F, Carpentier AF. Prosthetic valve selection for middle-aged patients with aortic stenosis. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7 (12): 711–9.
20. Smedira NG, Blackstone EH, Roselli EE. Are allografts the biologic valve of choice for aortic valve replacement in nonelderly patients? Comparison of explantation for structural

- valve deterioration of allograft and pericardial prostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 131 (3): 558–564.
21. Rippel RA, Ghanbari H, Seifalian AM. Tissue-engineered heart valve: future of cardiac surgery. *World J Surg* 2012; 36 (7): 1581–91.
  22. Vesely I. Heart valve tissue engineering. *Circ Res* 2005; 97 (8): 743–55.
  23. Lam MT, Wu JC. Biomaterial applications in cardiovascular tissue repair and regeneration. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2012; 10 (8): 1039–49.
  24. Dainese L, Guarino A, Burba I, et al. Heart valve engineering: decellularized aortic homograft seeded with human cardiac stromal cells. *J Heart Valve Dis* 2012; 21 (1): 125–34.
  25. O'Brien MF, Goldstein S, Walsh S, et al. The Syner Graft valve: a new acellular (nongluteraldehyde-fixed) tissue heart valve for autologous recellularization first experimental studies before clinical implantation. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 11 (1): 194–200.
  26. Brown JW, Ruzmetov M, Eltayeb O, Rodefild MD, Turrentine MW. Performance of Syner Graft decellularized pulmonary homograft in patients undergoing a Ross procedure. *Ann Thorac Surg* 2011; 91: 416–422; discussion 422–413.
  27. Konertz W, Angeli E, Tarusinov G, et al. Right ventricular outflow tract reconstruction with decellularized porcine xenografts in patients with congenital heart disease. *J Heart Valve Dis* 2011; 20 (3): 341–7.
  28. Perri G, Polito A, Esposito C, et al. Early and late failure of tissue-engineered pulmonary valve conduits used for right ventricular outflow tract reconstruction in patients with congenital heart disease. *Eur J Cardiothorac Surg* 2012; 41 (6): 1320–5.
  29. Hall MJ, DeFrances CJ, Williams SN, Golosinskiy A, Schwartzman A. National Hospital Discharge Survey: 2007 summary. *Natl Health Stat Report* 2010; 26 (29): 1–20, 24.
  30. Salacinski HJ, Goldner S, Giudiceandrea A, et al. The mechanical behavior of vascular grafts: a review. *J Biomater Appl* 2001; 15 (3): 241–78.
  31. Liu SQ, Moore MM, Yap C. Prevention of mechanical stretch-induced endothelial and smooth muscle cell injury in experimental vein grafts. *J Biomech Eng* 2000; 122 (1): 31–8.
  32. Zilla P, Bezuidenhout D, Human P. Prosthetic vascular grafts: wrong models, wrong questions and no healing. *Biomaterials* 2007; 28 (34): 5009–27.
  33. Bordenave L, Fernandez P, Rémy-Zolghadri M, et al. In vitro endothelialized ePTFE prostheses: clinical update 20 years after the first realization. *Clin Hemorheol Microcirc* 2005; 33 (3): 227–34.
  34. Matsumura G, Isayama N, Matsuda S, et al. Long-term results of cell-free biodegradable scaffolds for in situ tissue engineering of pulmonary artery in a canine model. *Biomaterials* 2013; 34 (27): 6422–8.
  35. Poh M, Boyer M, Solan A, et al. Blood vessels engineered from human cells. *Lancet* 2005; 365 (9477): 2122–4.
  36. Kelm JM, Lorber V, Snedeker JG, et al. A novel concept for scaffold-free vessel tissue engineering: self-assembly of microtissue building blocks. *J Biotechnol* 2010; 148 (1): 46–55.
  37. Macbeth GA, Rubin JR, McIntyre KE Jr, Goldstone J, Malone JM. The relevance of arterial wall microbiology to the treatment of prosthetic graft infections: graft infection vs. arterial infection. *J Vasc Surg* 1984; 1 (6): 750–6.
  38. Lalka SG, Oelker LM, Malone JM, et al. Acellular vascular matrix: a natural endothelial cell substrate. *Ann Vasc Surg* 1989; 3 (2): 108–17.
  39. Fitzpatrick JC, Clark PM, Capaldi FM. Effect of decellularization protocol on the mechanical behavior of porcine descending aorta. *Int J Biomater* 2010.
  40. Zou Y, Zhang Y. Mechanical evaluation of decellularized porcine thoracic aorta. *J Surg Res* 2012; 175 (2): 359–68.
  41. Martin ND, Schaner PJ, Tulenko TN, et al. In vivo behavior of decellularized vein allograft. *J Surg Res* 2005; 129 (1): 17–23.
  42. L'Heureux N, Pâquet S, Labbé R, Germain L, Auger FA. A completely biological tissue-engineered human blood vessel. *FASEB J* 1998; 12 (1): 47–56.
  43. Hoenicka M, Schrammel S, Bursa J, et al. Development of endothelium-denuded human umbilical veins as living scaffolds for tissue-engineered small-calibre vascular grafts. *J Tissue Eng Regen Med* 2013; 7 (4): 324–36.
  44. Bertanha M, Moroz A, Jaldin RG, et al. Morphofunctional characterization of decellularized vena cava as tissue engineering scaffolds. *Exp Cell Res* 2014.
  45. Syedain ZH, Lahti MT, Johnson SL, Tranquillo RT. Implantation of completely biological engineered grafts following decellularization into the sheep femoral artery. *Tissue Eng Part A* 2014; 20 (11–12): 1726–34.
  46. Shin'oka T, Matsumura G, Hibino N, et al. Midterm clinical result of tissue-engineered vascular autografts seeded with autologous bone marrow cells. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 129 (6): 1330–8.
  47. Teebken OE, Puschmann C, Rohde B, et al. Human iliac vein replacement with a tissue-engineered graft. *Vasa* 2009; 38: 60–65.
  48. McAllister, Maruszewski M, Garrido SA, et al. Effectiveness of haemodialysis access with an autologous tissue-engineered vascular graft: a multicentre cohort study. *Lancet* 2009; 373 (9673): 1440–6.

УДК [57+61]:575.224.232:616–00

Оригинальная статья

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ПРЕБЫВАНИЯ В ЗОНЕ СЕМИПАЛАТИНСКОГО АТОМНОГО ПОЛИГОНА

**В. Ю. Нугис** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий лабораторией, доктор биологических наук; **М. Г. Козлова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, научный сотрудник.

## CYTOGENETIC EXAMINATION IN REMOTE PERIOD AFTER THE STAY IN THE SEMIPALATINSK NUCLEAR TEST SITE AREA

**V. Yu. Nugis** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Head of Laboratory, Doctor of Biological Sciences; **M. G. Kozlova** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, Scientific Associate.

Дата поступления — 7.12.2015 г.

Дата принятия в печать — 18.12.2015 г.

**Нугис В. Ю., Козлова М. Г.** Цитогенетическое обследование в отдаленные сроки после пребывания в зоне Семипалатинского атомного полигона. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2015; 11 (4): 620–624.

**Цель:** ретроспективная цитогенетическая индикация доз, возможно полученных отдельными индивидуумами при проживании в регионе Семипалатинского атомного полигона, при работе или прохождении службы в рядах Вооруженных сил на нем. **Материал и методы.** Выполнялся анализ аберраций хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови 16 человек с помощью FISH-метода. **Результаты.** В 7 случаях из 16