

В.Н. Александров, Т.А. Камилова, А.В. Кривенцов,  
Л.И. Калюжная, Д.В. Фирсанов,  
А.А. Кондратенко, Г.Г. Хубулава

## Тканевая инженерия аорты

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

**Резюме.** Успехи реконструктивной ангиохирургии неразрывно связаны с достижениями в области химии полимеров. Биологическая инертность, прочность, простота стерилизации, легкость моделирования заданных синтетических протезов сосудов способствовали их широкому применению при протезировании не только аорты, но и магистральных сосудов. Анализ накопленного клинического опыта использования синтетических протезов, однако, показал, что увлечение ими постепенно сменилось сдержанным отношением, а порой и отказом. Оказалось, что синтетические сосудистые протезы, при наличии известных достоинств, склонны к тромбообразованию и развитию инфекции. В этой связи ведется поиск не только схем антикоагулянтной, антибактериальной терапии, но и путей создания протезов, исключающих риск тромбообразования и развития инфекционных осложнений. К одному из таких путей сегодня относят тканевую инженерию, позволяющую на основе применения принципов и методов инженерии и биологии вплотную подойти к получению биоискусственных тканей и органов. Биоискусственные или тканеинженерные сосудистые трансплантаты, созданные на основе естественного децеллюризованного аллогенного или ксеногенного сосудистого каркаса, заселенного клетками пациента, то есть персонифицированные, будут биосовместимыми, атромбогенными, лишенными иных недостатков синтетических протезов. Как биосовместимые продукты, они будут способны к росту и пригодны не только для взрослых, но и для детей с сердечно-сосудистыми дефектами. Однако на пути создания тканеинженерных сосудистых трансплантатов остается ряд вопросов, связанных с отсутствием оптимального протокола децеллюризации и составом клеточного ансамбля для его заселения.

**Ключевые слова:** тканеинженерный сосудистый трансплантат, тромбогенность, тромборезистентность, децеллюризация, рецеллюризация, сосудистый каркас, стволовые клетки, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки, тканевая инженерия сосудов, регенеративная медицина.

Тканевая инженерия сосудов – современная альтернатива применению сосудистых протезов из синтетических материалов. Использование протезов осложнено риском тромбообразования и инфицирования, требует применения антикоагулянтов и антибактериальной терапии [16]. Тканеинженерный сосудистый трансплантат, представляющий собой бесклеточный каркас аллогенного или ксеногенного сосуда, заселенный клетками пациента, биосовместим и лишен тромбогенного потенциала [1, 30], способен к росту, а потому может быть использован в хирургическом лечении взрослых и детей с сосудистыми дефектами. Проводятся поиски эффективных методов децеллюризации донорского сосуда [26] с целью получения иммунологически толерантного каркаса с сохраненным межклеточным матриксом (МКМ), обладающим необходимыми механическими свойствами и не склонным к кальцификации, и рецеллюляризации его клетками пациента, а также испытание свойств тканеинженерного сосуда *in vivo* в эксперименте.

При химической децеллюризации применяют детергенты додецилсульфат натрия [1, 19, 20], этилендиаминтетрауксусную кислоту [16, 26, 27], дезоксихолат натрия [15, 25, 27], тертоктилфенилполиоксизтилен (тритон-X100) [1, 7, 25], 3-[(3-холамидопропил)-

диметиламмоний]-1-пропансульфон [11, 26] ферменты трипсин [16, 21, 27], дезоксинуклеазу (ДНКазу) или рибонуклеазу (РНКазу) [1, 16, 27]. Многообразие используемых при децеллюризации веществ дополняется различными их комбинациями, концентрациями, условиями и режимами перфузии.

Физическая децеллюризация состоит в разрушении клеток ткани в результате быстрого снижения высокого давления, созданного в барокамере. Фрагмент сосуда, из которого планируют получить бесклеточный каркас, погружают в герметичный пакет с консервирующим раствором и в течение 10 минут выдерживают при давлении 980 МПа с последующей быстрой декомпрессией. При использовании этого метода мембраны клеток ткани подвергаются равномерному разрушению, достигается стерилизующий эффект при коротком времени обработки. Фрагменты клеточных структур после декомпрессии удаляют промыванием [10].

Каркасы, полученные разными методами децеллюризации, имеют разные характеристики чистоты отмывки от клеток и сохранности самого каркаса. Высокое качество удаления клеток при децеллюризации – неперемное условие иммунологической толерантности реципиента к трансплантированному тканеинженерному сосуду, сохранность каркаса –

залог его успешной рецеллюризации. Применение трипсина или неионного детергента тритона-X100 с последующим перевариванием нуклеазой не элиминирует все клетки, создавая риск иммунного ответа и кальцификации тканеинженерного сосуда при его трансплантации реципиенту. Продолжительная инкубация с трипсином эффективнее удаляет клетки, но нарушает структуру МКМ. Применение додецилсульфата дестабилизирует тройной спиральный домен коллагена и эластиновую сеть, а при ненадлежащей отмывке делает рецеллюризацию малоэффективной [27].

Использование тритона-X100 и дезоксихолата натрия с последующей промывкой средой M199 с добавлением нуклеаз для разрушения нуклеиновых кислот удаляет все клеточные компоненты аорты, не повреждая структуру каркаса. Эластин, ламинин, коллаген и сигнальные молекулы каркаса необходимы для специфического приживания и/или дифференцировки сосудоспецифических клеток. Полученный каркас в последующем был успешно рецеллюризован [27]. Сохранная трехмерная структура каркаса явилась основой для ремоделирования тканеинженерного сосуда после имплантации [7]. Описанный выше физический метод позволяет получить аналогичный результат [10].

Успешно децеллюризованный каркас может быть сразу пересажен реципиенту без риска тромбообразования. Каркас аорты взрослой крысы (200–250 г), децеллюризованный с помощью детергентов, вшитый в инфраренальную аорту молодой крысы (70–80 г), через 8 недель был полностью проходим (по данным МРТ и доплерографии). Реэксплантаты имели полное эндотелиальное покрытие, целостность коллагеновых и эластических волокон средней оболочки [3]. Каркас аорты свиньи, полученный декомпрессионной децеллюризацией, был трансплантирован свинье-реципиенту на место резецированной части брюшной аорты. В исследовании S. Funamoto et al. [10] такой каркас аорты был неиммуногенен, тромборезистентен, не имел признаков дилатации. Спустя 4 недели после трансплантации в нем был образован монослой эндотелиальных клеток (ЭК) реципиента.

Каркас сонной артерии крыс, полученный декомпрессионной децеллюризацией и отмытый от остатков клеток средой EBM-2 с ДНКазой и гепарином при температуре 4°C, через две недели после аллогенной трансплантации был проходим и покрыт эндотелием. Отмывка децеллюризованных декомпрессионным методом сонных артерий крыс средой с температурой 37°C вызвала уменьшение количества коллагена в каркасе и структурные изменения его тройной спирали, документированные спектральным анализом. По мнению J. Negishi et al. [25], это обстоятельство привело к развитию тромбоза каркаса через две недели после его трансплантации, хотя эндотелиальные клетки прикреплялись и пролиферировали на люминальной поверхности каркасов, полученных в разных температурных условиях отмывки. Каркасы пуповин-

ной артерии, вшитые «конец-в-конец» в брюшную аорту крыс, были покрыты эндотелием только в 55% случаев. Наблюдение продолжительностью 8 недель за выжившими крысами с трансплантатами каркасов показало их функционирование с постоянным диаметром, без аневризм и разрывов [11].

Запуск процессов тромбообразования в трансплантированном каркасе, очевидно, связан, во-первых, с повреждением структуры коллагеновых волокон в процессе отмывки клеточных остатков, например, в связи с особенностями температурного режима [25] или концентрациями реагентов. Во-вторых, риск тромбоза в имплантированном реципиенту каркасе зависит от интенсивности заселения каркаса эндотелиальными клетками реципиента. Каркасы, заселенные аутологичными эндотелиоцитами, через 18 недель после имплантации проходимы и не имеют признаков тромбоза, дилатации или стеноза. В гистологических срезах извлеченных трансплантатов отмечена высокая клеточность интимы, признаки регенерации средней, наружной оболочек. Сходная зависимость функционирования трансплантата от заселенности каркаса клетками реципиента относится и к исследованиям биоинженерных клапанов сердца [15].

Децеллюризованные клапаны легочной артерии свиньи, засеянные клетками (ЭК и миофибробласты из костного мозга собаки), мечеными зеленым флуоресцирующим белком, были имплантированы в легочную артерию собак. Через 1 и 3 недели после имплантации клапаны были интегрированы с тканями хозяина. При гистологическом исследовании они имели нормальную морфологию, в них обнаружены признаки регенерации клапанных структур, состоящих из ЭК-подобных клеток, экспрессирующих маркеры ЭК (vWF, CD31), и миофибробластоподобных клеток, экспрессирующих  $\alpha$ -SMA. Флуоресцентно меченые клетки выявлены на поверхности и в интерстиции створок клапана, что свидетельствует об их вкладе в регенерацию тканей клапана [29]. Значительная роль заселяющих каркас клеток в функционировании тканеинженерных протезов определяет важность этапа рецеллюризации каркаса, предшествующей трансплантации и проводимой *in vitro*.

Лиганд-рецепторное взаимодействие клеток реципиента со структурами каркаса *in vitro* запускает процессы их дифференцировки, пролиферации и приводит к созданию интимы сосуда. В биореакторе благодаря имитации в нем пульсирующего потока жидкости с газовым составом и динамическими характеристиками, присущими току крови, на каркасе формируется слой эндотелия. Благодаря устойчивым связям клеток с матриксом и между собой, такой тканеинженерный продукт как рецеллюризованный каркас будет способен противостоять сдвигу напряжения потока крови, связанному с риском открепления клеток и окклюзией трансплантата [19, 27]. Заселенные клетками матриксы сосудов сохраняли проходимость в течение 130 дней наблюдения за овцами-реципиентами [17].

В сосудах разного типа клеточный состав и пропорции его представителей неодинаковы. Специализированные клетки аорты – преимущественно эндотелиоциты [17, 18, 27] и гладкие мышечные клетки, как секреторные, так и контрактильные [7, 13, 26]. Клетки соединительной ткани аорты – низкодифференцированные звездчатые клетки или миофибробласты внутренней и средней оболочек [16, 27], а также перициты наружной оболочки [18]. Роль соединительнотканых клеток чрезвычайно важна, поскольку низкодифференцированные клетки (миофибробласты и перициты) регулируют пролиферативную активность эндотелиоцитов, гладких миоцитов. Перициты способны дифференцироваться в гладкие миоциты, участвовать вместе с миоцитами в создании МКМ, обеспечивать самоподдержание сосудистой стенки в целом. Поэтому состав клеток для рецеллюризации должен включать все их разновидности.

Существующие схемы выделения и культивирования позволяют получить продукт, содержащий упомянутые клетки. Источники клеток могут быть разными. Эндотелиоциты выделяют из сосуда, их клеточные предшественники – из периферической крови и костного мозга. ЭК из разных источников способны создавать эндотелиальный слой на матриксе [5, 17, 18]. При использовании зрелых эндотелиоцитов сосудов слой этих клеток стареет быстрее [16].

Гладкомышечные клетки могут быть выделены из ткани сосуда, их предшественники – из мононуклеаров костного мозга [7] и размножены. Через 6 недель после трансплантации иммунодефицитным животным каркаса, заселенного такими клетками, в нем обнаружена неоинтима со сплошным слоем эндотелия и субэндотелиальным слоем гладкомышечных клеток. В неоинтиме выявлено образование эластина [26]. Тканеинженерный сосуд, заселенный гладкомышечными клетками, через 6 недель после трансплантации не имел признаков дилатации или стеноза.

Есть основания считать достаточными для заселения каркаса эндотелиоциты и гладкие миоциты, если речь идет об аорте. Другие необходимые для нормального функционирования тканеинженерного сосуда клетки могут мигрировать из крови и тканей реципиента. Некоторые авторы считают наиболее предпочтительным «двойной» посев (эндотелиоциты и гладкомышечные клетки) [14, 24], поскольку таким путем создаются тромборезистентные свойства, снижающие угрозу тромбообразования, и моделируются сократительные свойства сосуда.

Мононуклеарные клетки костного мозга – популяция клеток, включающая в себя не только гемопоэтические, стромальные стволовые клетки, но и эндотелиальные клетки-предшественники и предшественники других специализированных и вспомогательных сосудистых клеток. Гетерогенность этой популяции особенно привлекательна в свете заселения сосудистого каркаса. Костномозговые мононуклеарные клетки могут быть использованы непосредственно после выделения [18], а также после прецифференцировки

их в направлении гладкомышечных и эндотелиальных клеток [7].

В первые две недели после трансплантации не засеянных клетками децеллюрированных каркасов сосудов в 80% случаев у мышей развивался ранний стеноз, аневризматические дилатации, разрывы и тромбоз трансплантата. Подобные осложнения у мышей-реципиентов с трансплантатами, заселенными сингенными недифференцированными мононуклеарами костного мозга, наблюдали в 20% случаев [13].

Сравнивая результаты трансплантации мышам биodeградируемых полимерных сосудов, засеянных мононуклеарами без моноцитов, или мононуклеарами с моноцитами, или только моноцитами, T.L. Mirensky et al. [22] показали, что только в группах мышей-реципиентов трансплантатов, содержащих моноциты, имели место признаки регенерации сосудистой ткани, способствующие проходимости трансплантатов. Ключевую роль авторы отводят потомкам трансплантированных моноцитов – тканевым макрофагам, образующимся из моноцитов в ближайшие 3 дня после выхода клеток из костного мозга. Секретируя хемокин macrophage chemoattractant protein-1 и ангиогенные цитокины, макрофаги привлекают в тканеинженерный сосуд клетки реципиента (моноциты, предшественники эндотелиоцитов, гладкомышечных клеток), благодаря которым происходит ремоделирование трансплантата. Пик макрофагальной инфильтрации возникает через 2 недели после трансплантации протеза и совпадает с почти полным формированием концентрических слоев гладкомышечных клеток и эндотелия. Следовательно, тканевые макрофаги – не только источники хемоаттрактантов и цитокинов для привлечения клеток, участвующих в ангиогенезе, но и фактор ремоделирования тканеинженерного сосуда, осуществляемого макрофагальными паракринными влияниями [13, 28].

Мезенхимальные стволовые клетки, экспрессирующие гепарин, не несущие HLA-II антигены [12, 18], подобно мононуклеарам могут быть выделены из костного мозга, периферической крови, размножены и использованы по типу двойного посева [14] на матриксе вместе с эндотелиальными клетками или прецифференцированы в гладкомышечные и эндотелиальные клетки. Каркасы сосудов, засеянные эндотелиальными и гладкомышечными клетками, дифференцированными из аутологических мезенхимальных стволовых клеток, и имплантированные овцам, оказались тромборезистентными, проходимыми и механически стабильными в течение 5 месяцев. В незасеянных контрольных каркасах через 2 недели сформировались тромбы [33].

Миофибробласты используются для создания тканеинженерных сосудов вследствие их вероятной способности к трансдифференцировке в эндотелиоциты, уникального спектра функциональных возможностей и секретлируемых продуктов [2]. Миофибробласты, выделенные из подкожной вены [27] или из адвентиции

аорты [16] и посеянные *in vitro* на матрикс сосуда, *in vivo* активно синтезируют коллаген [7].

Перициты – периваскулярные клетки, экспрессирующие  $\alpha$ -SMA, участвуют в синтезе белков МКМ и регенерации тканей. Тканеинженерные сосуды, заселенные перицитами, сохраняли 100% проходимость через 8 недель после имплантации. Клетки участвовали в активном ремоделировании трансплантата, инициируя продукцию коллагена, эластина, формирование нескольких слоев гладкомышечных клеток и монослоя эндотелиоцитов, экспрессирующего фактор Виллебранда [18].

Цитокиновая стимуляция размножения клеток сосудов на имплантированных бесклеточных сосудистых каркасах как стратегия их эндотелизации представляется заманчивой [3]. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, фактор роста нервов, которые мобилизуют предшественников эндотелиальных клеток в периферическую кровь, при системном введении увеличивают эндотелиализацию каркасов, проходимость тканеинженерных протезов и редуцируют гиперплазию неоинтимы [8, 32, 34]. Ценность этого метода состоит в исключении процедуры культивирования и посева клеток. Однако велик риск тромбоза не покрытого эндотелием сосуда [17, 18, 23]. Поэтому цитокиновая стимуляция эндотелизации каркаса – важная составляющая в технологии создания биоинженерного сосуда, не отменяющая необходимость посева клеток.

Удачным объектом рецеллюризации является каркас аорты свиного плода. Эндотелиоциты, заселившие бесклеточный каркас аорты, проявляют высокую жизнеспособность, способность к адгезии и пролиферации на поверхности каркаса, а спустя 7 дней после рецеллюризации *in vitro* каркас сосуда имеет интиму, восстановленную жизнеспособными эндотелиоцитами. Каркас аорты свиного плода по своим механическим свойствам (предел прочности на растяжение, давление разрыва и др.) не уступает нативной аорте, но, будучи эмбриональной тканью, каркас менее иммуногенен. Исследования реакции на имплантацию каркаса под кожу крысам показали, что он не вызывает хронического иммунного ответа и подвергается кальцификации и дегенерации в минимальной степени, в отличие от децеллюрированных артерий взрослой свиньи [21]. Короткая миокардиальная манжетка легочного ствола, клапан и часть сосуда с покрытой аутологичными эндотелиоцитами интимой, через 1 и 3 месяца после трансплантации их ягнятам – донорам клеток, в отличие от незасеянных бесклеточных каркасов, были проходимыми, имели сплошной монослой эндотелиоцитов и редко тромбоцитарные отложения на клапанах [19, 20].

«Двойной» посев клеток в исследованиях S.W. Cho et al. [7] состоял в заселении бесклеточного каркаса брюшной аорты свиньи  $4 \cdot 10^7$  гладкомышечно-подобных клеток в 1,0 мл культуральной среды и спустя два часа –  $1 \cdot 10^7$  эндотелиоцито-подобных клеток, суспендированных в 1 мл среды. Каркас, за-

сеянный клетками, перед имплантацией в течение недели культивировали в среде M199, дополненной 20% телячьей сывороткой, человеческими VEGF и bFGF. Трехмерная пористая структура каркаса создает условия для адгезии посеянных, а после имплантации – и циркулирующих клеток, а также для дальнейшего ремоделирования МКМ. Ремоделирование включает в себя разрушение матрикса аллогенного каркаса протеолитическими ферментами клеток реципиента и постепенный синтез аутологичных межклеточных структур мигрировавшими в тканеинженерный сосуд клетками реципиента. Появление матриксной металлопротеиназы и ее ингибитора свидетельствует о процессах деградации межклеточного вещества каркаса, а молекул проколлагена I и III, тропоэластина – об активизации синтеза аутологичного МКМ, и подтверждает процесс ремоделирования каркаса в организме реципиента.

Отдельные детали посева клеток на каркасы требуют дальнейшего исследования. U-образные каркасы аорты крысы, заселенные миофибробластами и эндотелиоцитами в биореакторе в течение 7 дней, были трансплантированы животным. Исследование функционирования каркасов показало их проходимость, доплерэхографическое исследование подтвердило открывающее/закрывающее движение створок клапана, коррелирующее с пульсирующим током крови. У тканеинженерных протезов, извлеченных через 28 дней после имплантации, выявлено утолщение стенки аорты, переходящее на створки клапана, с развитием их недостаточности и признаками очаговой кальцификации. Данные изменения связаны с присутствием в культуральной среде фактора роста фибробластов или неконтролируемой миграцией в тканеинженерный протез миофибробластов реципиента [16].

Долгосрочные наблюдения за судьбой пересаженного реципиенту тканеинженерного сосуда для суждения о его функциональной полноценности, проходимости, степени интеграции в организм хозяина, немногочисленны [30]. P.M. Dohmen et al. [9] заменили 43-летнему больному клапан легочного ствола аллогенным криоконсервированным децеллюрированным протезом, засеянным в биореакторе аутологичными эндотелиоцитами. Спустя год гемодинамических нарушений (по данным трансторакальной эхокардиографии, компьютерной и магнитнорезонанской томографии) у пациента не выявлено.

Операция замены корня аорты (в связи с врожденными или приобретенными пороками) криоконсервированным децеллюрированным аллотрансплантатом аортального клапана была проведена 22 пациентам в возрасте 31–80 лет без антикоагулянтной поддержки после операции. Госпитальная смертность отсутствовала. Две смерти пациентов через 1 год после операции не были связаны с функцией трансплантата. Через 1 месяц после операции результаты анализа панели реактивных антител были отрицательными у 20 (91%) пациентов; через 3 месяца – у 19 (86%), в том числе у одного пациента с положительны-

ми результатами предыдущего анализа; через 1 г. – у 19 (95%) из 20, в том числе у двух из трех пациентов с положительными результатами предыдущего анализа. Признаков регургитации аортального клапана, эндокардита, тромбоэмболии не обнаружено ни у одного из оперированных. Нормализация гемодинамики, отсутствие признаков аллогенной сенсбилизации, необходимости в антикоагулянтах делает эту тканевую реконструкцию особо пригодной для пациентов с противопоказаниями к антикоагулянтной терапии [31].

По данным J.F. Bechtel et al. [4] в рандомизированном клиническом исследовании 22 пациентам с поражениями аортального клапана были имплантированы криоконсервированные бесклеточные каркасы клапана легочного ствола. Ни градиенты давления через аллотрансплантаты, ни эффективная площадь отверстия не отличались от таковых у пациентов, перенесших стандартную операцию Росса. Частота кальцификации была достаточно высока – 26% против 15% в контроле, но все очаги обызвествления у реципиентов бесклеточных протезов представляли собой небольшие изолированные пятна без видимой функциональной значимости. Тромбы отсутствовали. В течение 10 месяцев наблюдения у рассматриваемой группы пациентов каких-либо различий с больными контрольной группы по гемодинамическим показателям не было. Авторы считают аллотрансплантацию бесклеточного криоконсервированного клапана легочного ствола безопасной.

Регулярное обследование в течение 3,5 лет двух пациентов 11 и 13 лет, которым были трансплантированы децеллюризованные матриксы клапана легочного ствола, засеянные аутологичными эндотелиальными клетками, показало увеличение диаметра входного отверстия клапана, уменьшение клапанной регургитации и нормализацию трансвальвулярного градиента без признаков дегенерации клапана у обоих пациентов. Площадь поверхности тела пациентов увеличилась за время наблюдения с 1,1 до 1,4 м<sup>2</sup> и с 1,1 до 1,5 м<sup>2</sup>. Замена сердечных клапанов тканеинженерными конструктами на основе децеллюризованного матрикса, заселенного эндотелиальными клетками, выполняема и безопасна, трансплантат имеет потенциал ремоделирования и роста в соответствии с ростом ребенка [6].

Таким образом, свойства заменителя сосуда должны соответствовать свойствам здоровых сосудов: он должен быть эластичным, прочным и выдерживать артериальное давление, тромборезистентным, неиммуногенным, способным к ремоделированию. Поврежденный децеллюризованный матрикс сосуда, хотя и отвечает требованиям по прочности на разрыв, эластичности, силе удержания шва, отсутствию иммуногенности, тромборезистентности, вряд ли может рассматриваться как идеальный протез прежде всего из-за отсроченного во времени ремоделирования, таящего в себе риск тромбоза и инфицирования. Персонафицированный биоинженерный сосуд – бес-

клеточный матрикс, заселенный сосудоспецифичными клетками пациента, инициирующими ремоделирование и интеграцию трансплантата, – отвечает требованиям, предъявляемым к идеальному заменителю сосуда. Несмотря на отдельные успехи тканевой инженерии сосудов, существуют вопросы, решение которых снимет препятствия для широкого внедрения биоинженерных сосудов в клиническую практику. К ним относят поиски оптимального варианта децеллюризации, оптимальной комбинации клеточек для рецеллюризации и оптимальных условий заселения клетками матрикса сосуда.

## Литература

1. Ахмедов, Ш.Д. Использование бесклеточного коллагенового матрикса в качестве платформы для изготовления кровеносных сосудов в сердечно-сосудистой хирургии / Ш.Д. Ахмедов [и др.] // *Ангиол. сосуд. хир.* – 2012. – Т. 18, № 2. – С. 7–12.
2. Баринов, Э.Ф. Гастроинтестинальные фибробласты – роль в регуляции физиологической активности и репарации желудочно-кишечного тракта / Э.Ф. Баринов, О.Н. Сулаева // *Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* – 2010. – Т. 20, № 3. – С. 9–18.
3. Assmann, A. Development of a growing rat model for the *n vivo* assessment of engineered aortic conduit / A. Assmann [et al.] // *J. surg. res.* – 2012. – Vol. 176, № 2. – P. 367–375.
4. Bechtel, J.F. Mid-term findings on echocardiography and computed tomography after RVOT-reconstruction: comparison of decellularized (SynerGraft) and conventional allografts / J.F. Bechtel [et al.] // *Eur. j. cardiothorac. surg.* – 2005. – Vol. 27, № 3. – P. 410–415.
5. Brown, M.A. Human umbilical cord blood-derived endothelial cells reendothelialize vein grafts and prevent thrombosis / M.A. Brown [et al.] // *Arterioscler. thromb. vasc. biol.* – 2010. – Vol. 30, № 11. – P. 2150–2155.
6. Cebotari, S. Clinical application of tissue engineered human heart valves using autologous progenitor cells / S. Cebotari [et al.] // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114, № 1 (Suppl). – P. 132–137.
7. Cho, S.W. Evidence for *in vivo* growth potential and vascular remodeling of tissue-engineered artery / S.W. Cho [et al.] // *Tissue eng. Part A.* – 2009. – Vol. 15, № 4. – P. 901–912.
8. Cho, S.W. Enhancement of *in vivo* endothelialization of tissue engineered vascular grafts by granulocyte colony-stimulating factor / S.W. Cho [et al.] // *J. biomed. mater. res.* – 2006. – Vol. 76, № 2. – P. 252–263.
9. Dohmen, P.M. Ross operation with a tissue-engineered heart valve / P.M. Dohmen [et al.] // *Ann. thorac. surg.* – 2002. – Vol. 74, № 5. – P. 1438–1442.
10. Funamoto, S. The use of highhydrostatic pressure treatment to decellularize blood vessels / S. Funamoto [et al.] // *Biomaterials.* – 2010. – Vol. 31, № 13. – P. 3590–3595.
11. Gui, L. Development of decellularized human umbilical arteries as small-diameter vascular grafts / L. Gui [et al.] // *Tissue eng. Part A.* – 2009. – Vol. 15, № 9. – P. 2665–2676.
12. Hashi, C.K. Antithrombogenic property of bone marrow mesenchymal stem cells in nanofibrous vascular grafts / C.K. Hashi [et al.] // *Proc. natl. acad. sci. USA.* – 2007. – Vol. 104, № 29. – P. 11915–11920.
13. Hibino, N. A critical role for macrophages in neovessel formation and the development of stenosis in tissue-engineered vascular grafts / N. Hibino [et al.] // *FASEB j.* – 2011. – Vol. 12, № 12. – P. 4253–4263.
14. Hjortnaes, J. Intravital molecular imaging of small-diameter tissue-engineered vascular grafts in mice: a feasibility study / J. Hjortnaes [et al.] // *Tissue eng. Part C.* – 2010. – Vol. 16, № 4. – P. 597–607.
15. Hwang, S.J. The decellularized vascular allograft as an experimental platform for developing a biocompatible small-

- diameter graft conduit in a rat surgical model / S.J. Hwang [et al.] // Yonsei med. j. – 2011. Vol. 52, № 2. – P. 227–233.
16. Kallenbach, K. A novel small-animal model for accelerated investigation of tissue-engineered aortic valve conduit / K. Kallenbach [et al.] // Tissue eng. Part C. – 2010. – Vol. 16, № 1. – P. 41–50.
  17. Kaushal, S. Functional small-diameter neovessels created using endothelial progenitor cells expanded ex vivo / S. Kaushal [et al.] // Nat. med. – 2001. – Vol. 7, № 9. – P. 1035–1040.
  18. Krawiec, J.T., Vorp, D.A. Adult stem cell-based tissue engineered blood vessels: a review / J.T. Krawiec, D.A. Vorp // Biomaterials. – 2012. – Vol. 33, № 12. – P. 3388–3400.
  19. Lichtenberg, A. In vitro re-endothelialization of detergent decellularized heart valves under simulated physiological dynamic conditions / A. Lichtenberg [et al.] // Biomaterials. – 2006a. – Vol. 27, № 23. – P. 4221–4229.
  20. Lichtenberg, A. Preclinical testing of tissue-engineered heart valves re-endothelialized under simulated physiological conditions / A. Lichtenberg [et al.] // Circulation. – 2006b. – Vol. 114, Suppl. 1. – P. I559–I565.
  21. Liu, G.F. Decellularized aorta of fetal pigs as a potential scaffold for small diameter tissue engineered vascular graft / G.F. Liu [et al.] // Chin. med. j. – 2008. – Vol. 121, № 15. – P. 1398–1406.
  22. Mirensky, T.L. Tissue-engineered vascular grafts: does cell seeding matter? / T.L. Mirensky [et al.] // J. pediatr. surg. – 2010. – Vol. 45, № 6. – P. 1299–1305.
  23. Muller, F. Factor XI and XII as antithrombotic targets / F. Muller [et al.] // Curr. opin. hematol. – 2011. – Vol. 18, № 5. – P. 349–355.
  24. Neff, L.P. Vascular smooth muscle enhances functionality of tissue-engineered blood vessels in vivo / L.P. Neff [et al.] // J. vasc. surg. – 2011. – Vol. 53, № 2. – P. 426–434.
  25. Negishi, J. Effect of treatment temperature on collagen structures of the decellularized carotid artery using high hydrostatic pressure / J. Negishi [et al.] // J. artif. organs. – 2011. – Vol. 14, № 3. – P. 223–231.
  26. Quint, C. Allogeneic human tissue-engineered blood vessel / C. Quint [et al.] // J. vasc. surg. – 2012. – Vol. 55, № 3. – P. 790–798.
  27. Rieder, E. Decellularization protocols of porcine heart valves differ importantly in efficiency of cell removal and susceptibility of the matrix to recellularization with human vascular cells / E. Rieder [et al.] // J. thorac. cardiovasc. surg. – 2004. – Vol. 127, № 2. – P. 399–405.
  28. Roh, J.D. Tissue-engineered vascular grafts transform into mature blood vessels via an inflammation-mediated process of vascular remodeling / J.D. Roh [et al.] // Proc. natl. acad. sci. USA. – 2010. – Vol. 107, № 10. – P. 4669–4674.
  29. Kim, S.S. Tissue engineering of heart valves in vivo using bone marrow-derived cells / S.S. Kim [et al.] // Artificial organs. – 2006. – Vol. 30, № 7. – P. 554–557.
  30. Swartz, D.D. Animal models for vascular tissue engineering / D.D. Swartz [et al.] // Curr. opin. biotechnol. – 2013. – Vol. 24, Issue 5. – P. 916–925.
  31. Zehr, K.J. Aortic root replacement with a novel decellularized cryopreserved aortic homograft: postoperative immunoreactivity and early results / K.J. Zehr [et al.] // J. thorac. cardiovasc. surg. – 2005. – Vol. 130, № 4. – P. 1010–1015.
  32. Zeng, W. The promotion of endothelial progenitor cells recruitment by nerve growth factors in tissue engineered blood vessels / W. Zeng [et al.] // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31, № 7. – P. 1636–1645.
  33. Zhao, Y.L. The development of a tissue-engineered artery using decellularized scaffold and autologous ovine mesenchymal stem cells / Y.L. Zhao [et al.] // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31, № 2. – P. 296–307.
  34. Zhou, M. Beneficial effects of granulocyte-colony stimulating factor on small-diameter heparin immobilized decellularized vascular graft / M. Zhou [et al.] // J. biomed. mater. res. A. – 2010. – Vol. 95, № 2. – P. 600–610.

V.N. Alexandrov, T.A. Kamilova, A.V. Kriventsov, L.I. Kaluzhnaya,  
D.V. Firsanov, A.A. Kondratenko, G. G. Khubulava

### Tissue engineering of aorta

**Abstract.** Success in reconstructive vascular surgery is inseparably linked with the developments of polymer chemistry. Biological inertness, durability, eases of sterilization and modeling of synthetic vascular grafts contributed to their widespread use as in aortic and great vessels. However, analysis of the accumulated clinical experience in using of synthetic grafts showed that fascination with them was gradually replaced by cautious attitude, and sometimes by refusing. It is because of in the presence of well-known advantages, synthetic grafts are prone to infection and the development of thrombosis. In this regard, it takes place not only searching of anticoagulant and antibiotic therapy schemes, but also of the ways to create such grafts which eliminates the risk of thrombus formation and the development of infectious complications. Today one of such ways include tissue engineering, which allows using principles and methods of engineering and biology come close to obtaining bioartificial tissues and organs. Bioartificial or tissue-engineering vascular grafts, created on the basis of natural decellularized allogeneic or xenogeneic vascular matrix and populated with patient cells, so personalized, are thought to be biocompatible, athrombogenic, and deprived of any drawbacks of synthetic grafts. Being biocompatible products, they will be able to grow and will be suitable not only for adults but also for children with cardiovascular defects. However, on the way of creation of tissue-engineering vascular grafts there remain a number of questions related to the lack of optimal protocol for decellularization and for cellular composition for its repopulation.

**Key words:** tissue-engineered vascular grafts, thrombogenicity, thromboresistance, decellularization, recellularization, vascular scaffold, stem cells, endothelial cells, smooth muscle cells, vascular tissue engineering, regenerative medicine.

Контактный телефон: +7-921-637-46-51; e-mail: kamilovaspb@mail.ru