

© Коллектив авторов, 2015
УДК 616.13/14-077

В. Н. Александров, А. В. Кривенцов, Г. Г. Хубулава, Л. И. Калюжная-Земляная,
Д. В. Фирсанов, А. А. Кондратенко

ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ В ХИРУРГИИ СОСУДОВ

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ
(ректор — проф. В. В. Леванович)

Ключевые слова: *сосудистый протез, тромбоз, тканевая инженерия, децеллюляризация, сосудистый каркас, биосовместимость, эндотелий, моноклеарная фракция, трансплантация*

Современной альтернативой применению сосудистых протезов из синтетических материалов является тканевая инженерия сосудов. Использование протезов осложнено риском тромбообразования и инфицирования, требует применения антикоагулянтов и антибактериальной терапии [16]. Тканеинженерный сосудистый трансплантат (ТИСТ), 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 как у детей с сосудистыми дефектами, так и у взрослых.

Продолжаются поиски эффективных методов децеллюляризации донорского сосуда [26] с целью получения иммунологически толерантного каркаса с сохранным межклеточным матриксом, обладающим необходимыми механическими свойствами и не склонного к кальцификации.

Многообразие методов удаления клеток с донорского сосуда, который станет основой для заселения персонифицированными клетками пациента, сводится к химическим и физическим. При химической децеллюляризации применяются такие детергенты, как додецилсульфат натрия (SDS) [1, 19, 20], этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА) [16, 26, 27], дезоксихолат натрия [15, 26, 28], тертоктилфенилполиоксиэтилен (тритон-Х100) [1, 7, 26], СНАПС (3-[(3-холамидопропил)-диметиламмоний]-1-пропан сульфонат) [11, 27] и такие ферменты, как трипсин [16, 22, 28], ДНКазу/РНКазу [1, 16, 28]. Различные комбинации используемых при децеллюляризации веществ дополняются разными их концентрациями, условиями и режимами перфузии.

Физическая децеллюляризация 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 мин выдерживают при давлении 980 МПа с последующей

быстрой декомпрессией. При использовании этого метода равномерному разрушению подвергаются мембраны клеток ткани, достигается стерилизующий эффект при коротком времени обработки. После декомпрессии удаляют промываемые фрагменты клеточных структур.

Полученные разными методами децеллюляризации каркасы имеют разные характеристики чистоты отмывки от клеток и сохранности самого каркаса. Высокое качество удаления клеток при децеллюляризации — непременное условие иммунологической толерантности тканеинженерного сосуда (ТИС) при трансплантации. Залог успешности рецеллюляризации — в сохранности структур полученного каркаса.

Получение каркаса сосудистого протеза. Использование трипсина или неионного детергента тритона-Х100 с последующим перевариванием нуклеазой не элиминирует все клетки, создавая риск иммунного ответа и кальцификации ТИС при его трансплантации реципиенту. Продолжительная инкубация с трипсином эффективнее удаляет клетки, но нарушает структуру межклеточного матрикса (МКМ). Применение додецилсульфата дестабилизирует тройной спиральный домен коллагена и эластиновую сеть. Ненадлежащая отмывка остатков детергента делает рецеллюляризацию малоэффективной вследствие токсичности детергента для клеток.

Применение тритона-Х100 и дезоксихолата натрия с последующей промывкой средой «М199» с добавлением нуклеаз для разрушения нуклеиновых кислот удаляет все клеточные компоненты аорты, не повреждая структуру каркаса. Эластин, ламинин, коллаген — сигнальные молекулы каркаса, необходимы для сайт-специфического приживления и(или) дифференцировки сосудоспецифических клеток. Каркас, полученный по упомянутому протоколу, в последующем был успешно рецеллюляризован [28]. Сохранная трехмерная структура каркаса являлась основой для ремоделирования ТИС после имплантации [7]. Аналогичный результат позволяет получить описанный выше физический метод.

Исследование ТИСТ в эксперименте. Децеллюляризованный каркас может быть тут же пересажен реципиенту без риска тромбообразования. Каркас аорты взрослой крысы, децеллюляризованный с помощью детергентов,шитый в инфраренальную аорту молодой крысы, через 8 нед был полностью проходим по данным МРТ и доплерографии.

Сведения об авторах:

Александров Виктор Николаевич (e-mail: vnaleks9@yandex.ru), Кривенцов Александр Викторович (e-mail: sascha_jiembet@mail.ru), Хубулава Геннадий Григорьевич (e-mail: khubulava@clubcvcs.ru), Калюжная-Земляная Лидия Ивановна (e-mail: terrestra@mail.ru), Фирсанов Денис Владимирович (e-mail: dfirsanov@gmail.com), Кондратенко Альбина Александровна (e-mail: Akondratenko@mail.ru), ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

Реэксплантаты имели полное эндотелиальное покрытие, целостность коллагеновых и эластических волокон средней оболочки [3]. Каркас аорты свиньи, полученный декомпрессионной децеллюляризацией, был трансплантирован свинье-реципиенту на место резецированной части брюшной аорты. В исследовании [10] такой каркас аорты был иммунологически толерантен, тромборезистентен, без признаков дилатации. Спустя 4 нед после трансплантации в нем был образован монослой в результате хоминга эндотелиальных клеток (ЭК). Каркас сонной артерии крыс, полученный декомпрессионной децеллюляризацией и отмытый от остатков клеток средой EBM-2 с ДНКазой и гепарином при температуре 4 °С, через 2 нед после аллогенной трансплантации был проходим и покрыт эндотелием. Отмывка децеллюляризованных декомпрессией сонных артерий крыс средой с температурой 37 °С вызвала уменьшение количества коллагена в каркасе и структурные изменения его тройной спирали, документированные спектральным анализом. По мнению исследователей [26], это обстоятельство привело к развитию тромбоза каркаса через 2 нед после его трансплантации, хотя эндотелиальные клетки прикрепились и пролиферировали на люминальной поверхности каркасов, полученных в разных температурных условиях отмывки. Каркасы пуповинной артерии, вшитые «конец в конец» в брюшную аорту крыс, были покрыты эндотелием только в 55% опытов. Наблюдение продолжительностью 8 нед за выжившими крысами с трансплантатами каркасов показало их функциональную состоятельность, отсутствие аневризм и разрывов [11].

Тромбообразование в трансплантированном каркасе, вероятно, связано, во-первых, с явлениями повреждения коллагена в процессе отмывки клеточных остатков, например, в связи с особенностями температурного режима [26] или концентрациями реагентов. Во-вторых, риск тромбоза в имплантированном реципиенту каркасе зависит от интенсивности заселения каркаса эндотелием реципиента [15]. Проходимыми без признаков тромбоза дилатации или стеноза были каркасы, заселенные аутологичными эндотелиоцитами, через 18 нед после имплантации. В гистологических срезах извлеченных трансплантатов отмечены высокая клеточность интимы, признаки регенерации средней, наружной оболочки. Сходная зависимость функционирования трансплантата от заселенности каркаса клетками реципиента относится и к исследованиям биоинженерных клапанов сердца.

Децеллюляризованные клапаны легочной артерии свиньи, засеянные клетками (ЭК и миофибробласты из костного мозга собаки), меченными флуоресцирующим белком, были имплантированы в легочную артерию собак. Через 1 и 3 нед 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 α -SMA. Меченые клетки выявлены на поверхности и в интерстиции створок клапана, что свидетельствует об их вкладе в регенерацию тканей клапана [19]. Значительная роль заселяющих каркас клеток в функционировании тканеинженерных протезов определяет важность этапа рецеллюляризации каркаса перед его трансплантацией.

Клетки реципиента, взаимодействующие со структурами каркаса *in vitro*, запускают процессы дифференцировки, пролиферации и приводят к созданию интимы сосуда. В

биореакторе благодаря имитации в нем пульсирующего потока жидкости с газовым составом и динамическими характеристиками, присущими току крови, формируется слой эндотелия на каркасе. Благодаря устойчивым связям клеток с матриксом и между собой такой тканеинженерный продукт, как рецеллюляризованный каркас, будет способен противостоять сдвигу напряжения потока крови, связанному с риском открепления клеток и окклюзией трансплантата [19, 20, 28]. Матрикс сосудов, заселенные клетками, в течение 130 дней наблюдения за овцами-реципиентами сохраняли проходимость [17].

Клеточный состав в сосудах разного типа и пропорции его представителей неодинаковы. Специализированные клетки аорты — преимущественно эндотелиоциты и гладкие мышечные клетки [17, 18, 28] как секреторные, так и контрактильные клетки [7, 13, 27]. Клетки соединительной ткани аорты — малодифференцированные звездчатые клетки или миофибробласты внутренней и средней оболочки [16, 28], а также перициты наружной оболочки [18]. Роль соединительнотканых клеток чрезвычайно важна, поскольку малодифференцированные клетки (миофибробласты и перициты) регулируют пролиферативную активность эндотелиоцитов и гладких миоцитов. Перициты способны дифференцироваться в гладкие миоциты, участвовать вместе с миоцитами в создании межклеточного матрикса, обеспечивать самоподдержание сосудистой стенки в целом. Состав клеток для рецеллюляризации должен включать, очевидно, все их разновидности.

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

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

Для заселения каркаса эндотелиоциты и гладкие миоциты абсолютно достаточны, если речь идет об аорте. Другие необходимые для нормального функционирования ТИС клетки могут мигрировать из крови и тканей реципиента.

«Двойной» посев (эндотелиоциты и гладкомышечные клетки) считают [24] наиболее предпочтительным, поскольку таким путем создаются тромборезистентные свойства, снижающие угрозу тромбообразования, и моделируются сократительные свойства сосуда.

Популяция клеток, включающая не только гемопоэтические, стромальные стволовые клетки, но и ЭК-предшественники и предшественники других специализированных и вспомогательных сосудистых клеток, — это мононуклеарные клетки костного мозга [12]. Гетерогенность этой популяции особо привлекательна в свете заселения сосудистого каркаса. Костномозговые мононуклеарные клетки могут быть использованы непосредственно после выделения

[18], а также после предифференцировки их в направлении гладкомышечных и эндотелиальных клеток [7].

В 80% опытов после трансплантации децеллюляризованных каркасов сосуда, не засеянных недифференцированными мононуклеарами костного мозга, первые 2 нед у мышей развивались ранний стеноз, аневризматические дилатации, разрывы и тромбоз трансплантата. Подобные осложнения у мышей-реципиентов с трансплантатами, заселенными сингенными недифференцированными мононуклеарами костного мозга, наблюдали у 20% из них [13].

Оценивая результаты трансплантации мышам биodeградируемых полимерных сосудов, засеянных мононуклеарами без моноцитов или мононуклеарами с моноцитами, или только моноцитами, Т. Migrensky и соавт. [22] показали, что только в группах мышей-реципиентов трансплантатов, содержащих моноциты, имели место признаки регенерации сосудистой ткани, способствующие прохождению трансплантатов. Ключевую роль авторы отводят потомкам трансплантатов моноцитов — тканевым макрофагам, образующимся из моноцитов в ближайшие 3 дня после выхода клеток из костного мозга. Секретируя хемокин MCP-1 (macrophage chemoattractant protein-1) и ангиогенные цитокины, макрофаги привлекают в ТИС клетки реципиента (моноциты, предшественники эндотелиоцитов, гладкомышечных клеток), благодаря которым происходит ремоделирование трансплантата. Пик макрофагальной инфильтрации возникает через 2 нед после трансплантации протеза и совпадает с почти полным формированием центральных слоев гладкомышечных клеток и эндотелия. Следовательно, тканевые макрофаги — не только источники хемоаттрактантов и цитокинов для привлечения клеток, участвующих в ангиогенезе, но и фактор ремоделирования ТИС, осуществляемого макрофагальными паракринными влияниями [13, 29].

Стволовые мезенхимальные клетки, экспрессирующие гепарин, не несущие антигены HLA-II [18], подобно мононуклеарам, могут быть выделены из костного мозга, периферической крови, размножены и использованы по типу «двойного» посева [14] на матриксе вместе с ЭК или предифференцированы в гладкомышечные и ЭК. 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 мес. В незасеянных контрольных каркасах через 2 нед сформировались тромбы [33].

Для создания ТИС миофибробласты используются не только из-за их вероятной способности к трансдифференцировке в эндотелиоциты, уникального спектра функциональных возможностей и секретируемых продуктов, сколько представления о них как хранителей генетической программы развития ткани [2]. Миофибробласты, выделенные из подкожной вены [28] или из адвентиции аорты [16] и засеянные *in vitro* на матрикс сосуда, *in vivo* активно синтезировали коллаген [7].

Периваскулярные клетки (перициты), экспрессирующие α -SMA, участвуют в синтезе белков гладкомышечных клеток и регенерации тканей. ТИС, заселенные перицитами, сохраняли 100% проходимость через 8 нед после имплантации. Клетки участвовали в активном ремоделировании трансплантата, инициируя продукцию коллагена, эластина, формирование нескольких слоев гладкомышечных клеток и

монослой эндотелиоцитов, экспрессирующий фактор Виллебранда [18].

Стимуляция размножения клеток сосудов на имплантированных бесклеточных сосудистых каркасах цитокинами, как стратегия их эндотелизации, представляется заманчивой [3]. Гранулоцитарный колонистимулирующий фактор, фактор роста нервов, которые мобилизуют предшественников ЭК в периферическую кровь, при системном введении увеличивают эндотелиализацию каркасов, проходят тканеинженерных протезов и редуцируют гиперплазию неоинтимы [8, 32, 34]. Ценность этого метода состоит в исключении процедуры культивирования и посева клеток. Однако велик риск тромбоза непокрытого эндотелием сосуда [17, 18, 24]. Поэтому цитокиновая стимуляция эндотелизации каркаса — важная опция в технологии создания биоинженерного сосуда, не отменяющая необходимости посева клеток.

Каркас аорты свиного плода оказался удачным объектом рецеллюляризации. Эндотелиоциты, заселившие бесклеточный каркас аорты, выявили высокую жизнеспособность, способность к адгезии и пролиферации на поверхности каркаса, а спустя 7 дней после рецеллюляризации *in vitro* каркас сосуда имел интиму, восстановленную жизнеспособными эндотелиоцитами. Каркас аорты свиного плода по своим механическим свойствам (предел прочности на растяжение, давление разрыва и др.) не уступает нативной аорте животного, но, будучи эмбриональной тканью, каркас иммунологически толерантен. 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 децеллюляризованных артерий взрослой свиньи [22]. Короткая миокардиальная манжетка легочного ствола, клапан и часть сосуда с покрытой на 7-й день после посева аутологических эндотелиоцитов интимой и исследованные через 1 и 3 мес после трансплантации их ягнятам-донорам клеток в отличие от незаселенных бесклеточных каркасов были проходимы, имели сплошной монослой эндотелиоцитов и редко тромботические отложения на клапанах.

В исследованиях S. W. Cho и соавт. [7] «двойной» посев клеток состоял в заселении бесклеточного каркаса брюшной аорты свиньи $4,0 \times 10^7$ гладкомышечно-подобными клетками в объеме 1,0 мл культуральной среды. Спустя 2 ч засеивали $1,0 \times 10^7$ эндотелиоцито-подобными клетками, суспендированными в 1,0 мл среды. Каркас, засеянный клетками, перед имплантацией в течение 1 нед 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 межклеточного матрикса. Ремоделирование включает разрушение матрикса аллогенного каркаса протеолитическими ферментами клеток реципиента и постепенный синтез аутологических межклеточных структур мигрировавшими в ТИС клетками реципиента. Появление матриксной металлопротеиназы и ее ингибитора, свидетельствующих о процессах деградации межклеточного вещества каркаса, и молекул проколлагена I и III, тропоэластина, знаменующих активизацию процессов синтеза межклеточного матрикса реципиента биоинженерного протеза, подтверждает предположение о ремоделировании каркаса.

Некоторые детали посева клеток на каркасы требуют дальнейшего исследования. U-образные каркасы аорты (корень, восходящий отдел и дуга аорты) крысы, заселенные мио-

фибробластами и эндотелиоцитами в биореакторе в течение 7 дней, были трансплантированы животным. Исследование функционирования каркасов показало их проходимость, доплерэхография продемонстрировала открывающее и закрывающее движение створок клапана, коррелирующее с пульсирующим током крови. При исследовании эксплантированных тканеинженерных протезов, извлеченных через 28 дней после имплантации, обнаружено утолщение стенки аорты, переходящее на створки клапана, с развитием их недостаточности и признаками очаговой кальцификации. Описанные изменения авторы связывают с присутствием в культуральной среде факторов роста фибробластов вследствие неконтролируемой их миграции в тканеинженерный протез реципиента [16].

Применение ТИСТ в клинической практике. Продолжительные наблюдения за судьбой пересаженного реципиенту ТИС для оценки его функциональной полноценности, проходимости, степени интеграции в организм хозяина немногочисленны [30]. Р.М. Dohmen и соавт. [9] заменили 43-летнему больному клапан легочного ствола аллогенным криоконсервированным децеллюляризованным протезом, засеянным в биореакторе аутологичными эндотелиоцитами. Спустя 1 год у пациента не выявлено гемодинамических нарушений (по данным трансторакальной эхокардиографии, компьютерной и магнитно-резонансной томографии).

В связи с врожденными или приобретенными пороками операция замены корня аорты криоконсервированным децеллюляризованным 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 мес после операции результаты анализа панели реактивных антител были отрицательны у 20 пациентов из 22 (91%), через 3 мес — у 19 из 22 (86%), в том числе у 1 пациента с положительными результатами предыдущего анализа, через 1 год — у 19 из 20 (95%), в том числе у 2 из 3 пациентов с положительными результатами предыдущего анализа. Признаков регургитации аортального клапана, эндокардита, тромбоемболии не обнаружено ни у одного из оперированных. Нормализация гемодинамики, отсутствие признаков аллогенной сенсibilизации, необходимости в антикоагулянтах делают эту тканевую реконструкцию особо пригодной для пациентов с противопоказаниями к антикоагулянтной терапии [31].

В клиническом рандомизированном исследовании [4] 22 пациентам с поражениями аортального клапана был имплантирован криоконсервированный бесклеточный каркас клапана легочного ствола. Ни градиенты давления через аллотрансплантаты, ни эффективная площадь отверстия не отличались от таковых у пациентов, перенесших стандартную операцию (процедура 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. В течение 10 мес наблюдения у рассматриваемой группы пациентов каких-либо различий от больных контрольной группы по гемодинамическим показателям не было. Авторы [4] считают аллотрансплантацию бесклеточного криоконсервированного клапана легочного ствола безопасной.

Наблюдения в течение 3,5 лет двух пациентов 11 и 13 лет, которым были трансплантированы децеллюляри-

зованные матриксы клапана легочного ствола, засеянные аутологичными эндотелиальными клетками, показали увеличение диаметра входного отверстия клапана, уменьшение клапанной регургитации и нормализацию трансальвеолярного градиента без признаков дегенерации клапана у обоих пациентов. Площадь поверхности тела у пациентов увеличилась за время наблюдения с 1,1 до 1,4 м² и с 1,1 до 1,5 м². Замена сердечных клапанов тканеинженерными конструкциями на основе децеллюляризованного матрикса, заселенного эндотелиальными клетками, выполнима и безопасна, трансплантат имеет потенциал ремоделирования и роста в соответствии с ростом ребенка [6].

Таким образом, характеристики заменяющего сосуд протеза должны соответствовать свойствам здоровых сосудов: быть эластичным, прочным и выдерживать артериальное давление, тромборезистентным, иммунологически толерантным и способным к ремоделированию. Неповрежденный децеллюляризованный матрикс сосуда, хотя и отвечает требованиям по прочности на разрыв, эластичности, силе удержания шва, а иммунологической толерантности, тромборезистентности вряд ли может рассматриваться как «идеальный» протез. Прежде всего, из-за отсроченного во времени ремоделирования, таящего в себе риск тромбоза, инфицирования. Персонифицированный биоинженерный сосуд — бесклеточный матрикс, заселенный сосудоспецифическими клетками пациента, инициирующими ремоделирование и интеграцию трансплантата, отвечает требованиям «идеального» заменителя сосуда. Несмотря на отдельные успехи тканевой инженерии сосудов, существуют вопросы, решение которых снимет препятствия для широкого внедрения биоинженерных сосудов в клиническую практику. К ним относятся поиски оптимальных вариантов децеллюляризации, комбинации клеток для рецеллюляризации и условий заселения клетками матрикса сосуда.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ахмедов Ш. Д., Афанасьев С. А., Егорова М. В. и др. Использование бесклеточного коллагенового матрикса в качестве платформы для изготовления кровеносных сосудов в сердечно-сосудистой хирургии // *Ангиол. и сосуд. хир.* 2012. № 2. С. 7–12.
2. Баринов Э. Ф., Сулаева О. Н. Гастроинтестинальные фибробласты — роль в регуляции физиологической активности и репарации желудочно-кишечного тракта // *Росс. журн. гастроэнтер., гепатол., колопроктол.* 2010. № 3. С. 9–18.
3. Assmann A., Akhyari P., Delfs C. et al. Development of a growing rat model for the in vivo assessment of engineered aortic conduit // *J. Surg. Res.* 2012. Vol. 176, № 2. P. 367–375.
4. Bechtel J. F., Gellissen J., Erasmi A. W. et al. Mid-term findings on echocardiography and computed tomography after RVOT-reconstruction: comparison of decellularized (SynerGraft) and conventional allografts // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2005. Vol. 27. P. 410–415.
5. Brown M. A., Zhang L. S., Levering V. W. et al. Human umbilical cord blood-derived endothelial cells reendothelialize vein grafts and prevent thrombosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010. Vol. 30. P. 2150–2155.
6. Cebotari S., Lichtenberg A., Tudorache I. et al. Clinical application of tissue engineered human heart valves using autologous progenitor cells // *Circulation.* 2006. Vol. 114 (Suppl. 1). P. I132–I137.
7. Cho S. W., Kim I. K., Kang J. M. et al. Evidence for in vivo growth potential and vascular remodeling of tissue-engineered artery // *Tissue Eng. Part A.* 2009. Vol. 15, № 4. P. 901–912.

8. Cho S.W., Lim J.E., Chu H.S. et al. Enhancement of in vivo endothelialization of tissue engineered vascular grafts by granulocyte colony-stimulating factor // *J. Biomed. Mater. Res.* 2006. Vol. 76A. P. 252–263.
9. Dohmen P.M., Lembcke A., Hotz H. et al. Ross operation with a tissue-engineered heart valve // *Ann. Thorac. Surg.* 2002. Vol. 74. P. 1438–1442.
10. Funamoto S., Nam K., Kimura T. et al. The use of highhydrostatic pressure treatment to decellularize blood vessels // *Biomaterials.* 2010. Vol. 31. P. 3590–3595.
11. Gui L., Muto A., Chan S.A. et al. Development of decellularized human umbilical arteries as small-diameter vascular grafts // *Tissue Engineering. Part A.* 2009. Vol. 15, № 9. P. 2665–2676.
12. Hashi C.K., Zhu Y.Q., Yang G.Y. et al. Antithrombogenic property of bone marrow mesenchymal stem cells in nanofibrous vascular grafts // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. Vol. 104. P. 11915–11920.
13. Hibino N., Yi T., Duncan D.R. et al. A critical role for macrophages in neovessel formation and the development of stenosis in tissue-engineered vascular grafts // *FASEB J.* 2011. Vol. 12. P. 4253–4263.
14. Hjortnaes J., Gottlieb D., Figueiredo J.L. et al. Intravital molecular imaging of small-diameter tissue-engineered vascular grafts in mice: a feasibility study // *Tissue Eng. Part. C: Methods.* 2010. Vol. 16. P. 597–607.
15. Hwang S.J., Kim S.W., Choo S.J. et al. The decellularized vascular allograft as an experimental platform for developing a biocompatible small-diameter graft conduit in a rat surgical model // *Yonsei Med. J.* 2011. 52. P. 227–233.
16. Kallenbach K., Sorrentino S., Mertsching H. et al. A novel small-animal model for accelerated investigation of tissue-engineered aortic valve conduit // *Tissue Engineering. Part C.* 2010. Vol. 16, № 1. P. 41–50.
17. Kaushal S., Amiel G.E., Guleserian K.J. et al. Functional small-diameter neovessels created using endothelial progenitor cells expanded ex vivo // *Nat. Med.* 2001. Vol. 7. P. 1035–1040.
18. Krawiec J.T., Vorp D.A. Adult stem cell-based tissue engineered blood vessels: A review // *Biomaterials.* 2012. 33. P. 3388–3400.
19. Kim S.S., Lim S.H., Hong Y.S. et al. Tissue engineering of heart valves in vivo using bone marrow-derived cells // *Artificial Organs.* 2006. Vol. 30. P. 554–557.
20. Lichtenberg A., Tudorache I., Cebotari S. et al. In vitro re-endothelialization of detergent decellularized heart valves under simulated physiological dynamic conditions // *Biomaterials.* 2006. Vol. 27. P. 4221–4229.
21. Lichtenberg A., Tudorache I., Cebotari S. et al. Preclinical testing of tissue-engineered heart valves re-endothelialized under simulated physiological conditions // *Circulation.* 2006. Vol. 114 (1 Suppl.). P. I559–I565.
22. Liu G.F., He Z.J., Yang D.P. et al. Decellularized aorta of fetal pigs as a potential scaffold for small diameter tissue engineered vascular graft // *Chin. Med. J.* 2008. Vol. 121. P. 1398–1406.
23. Mirensky T.L., Hibino N., Sawh-Martinez R.F. et al. Tissue-engineered vascular grafts: does cell seeding matter? // *J. Pediatr. Surg.* 2010. Vol. 45. P. 1299–1305.
24. Muller F., Gailani D., Renne T. Factor XI and XII as antithrombotic targets // *Curr. Opin. Hematol.* 2011. Vol. 18, № 5. P. 349–355.
25. Neff L.P., Tillman B.W., Yazdani S.K. et al. Vascular smooth muscle enhances functionality of tissue-engineered blood vessels in vivo // *J. Vasc. Surg.* 2011. Vol. 53. P. 426–434.
26. Negishi J., Funamoto S., Kimura T. et al. Effect of treatment temperature on collagen structures of the decellularized carotid artery using highhydrostatic pressure // *J. Artif. Organs.* 2011. Vol. 14, № 3. P. 223–231.
27. Quint C., Arief M., Muto A. et al. Allogeneic human tissue-engineered blood vessel // *J. Vasc. Surg.* 2012. Vol. 55. P. 790–798.
28. Rieder E., Kasimir M.-T., Silberhumer G. et al. Decellularization protocols of porcine heart valves differ importantly in efficiency of cell removal and susceptibility of the matrix to recellularization with human vascular cells // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2004. Vol. 127, № 2. P. 399–405.
29. Roh J.D., Sawh-Martinez R., Brennan M.P. et al. Tissue-engineered vascular grafts transform into mature blood vessels via an inflammation-mediated process of vascular remodeling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107. P. 4669–4674.
30. Swartz D.D., Andreadis S.T. Animal models for vascular tissue engineering // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2013. Vol. 24, Issue 5. P. 916–925.
31. Zehr K.J., Yagubyan M., Connolly H.M. et al. Aortic root replacement with a novel decellularized cryopreserved aortic homograft: postoperative immunoreactivity and early results // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2005. Vol. 130. P. 1010–1015.
32. Zeng W., Yuan W., Li L. et al. The promotion of endothelial progenitor cells recruitment by nerve growth factors in tissue engineered blood vessels // *Biomaterials* 2010. Vol. 31. P. 1636–1645.
33. Zhao Y.L., Zhang S., Zhou J.Y. et al. The development of a tissue-engineered artery using decellularized scaffold and autologous ovine mesenchymal stem cells // *Biomaterials.* 2010. Vol. 31. P. 296–307.
34. Zhou M., Liu Z., Li K. et al. Beneficial effects of granulocyte-colony stimulating factor on small-diameter heparin immobilized decellularized vascular graft // *J. Biomed. Mater. Res.* 2010. Vol. 95A. P. 600–610.

Поступила в редакцию 26.09.2015 г.