

© Коллектив авторов, 2017
УДК 616.231-089.44:616.231-089.28

В. Н. Александров^{1, 2}, Л. И. Калюжная^{1, 2}, Д. В. Фирсанов^{1, 2}, А. В. Кривенцов^{1, 2},
А. А. Кондратенко^{1, 2}, М. А. Фигуркина²

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ ТРАХЕИ КАК АЛЬТЕРНАТИВЫ АЛЛОГЕННОЙ ТРАХЕИ

¹ ФГБВОУ ВХО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ (нач. — проф. А. Н. Бельских), Санкт-Петербург; ² ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (и.о. ректора — д-р мед наук Д. О. Иванов)

Ключевые слова: биоинженерная трахея, регенерация дыхательных путей, децеллюляризация, рецеллюляризация, матрикс трахеи, хондроциты, мезенхимальные стромальные мультипотентные стволовые клетки костного мозга

V. N. Aleksandrov^{1, 2}, L. I. Kalyuzhnaya^{1, 2}, D. V. Firsanov^{1, 2}, A. V. Kriventsov^{1, 2}, A. A. Kondratenko^{1, 2}, M. A. Figurkina²

Transplantation of tissue-engineering trachea as alternative to allogenic trachea

¹ S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg; ² St. Petersburg State Pediatric Medical University

Key words: bioengineering trachea, regeneration of pulmonary tracks, decellularization, recellularization, matrix of the trachea, chondrocytes, mesenchymal stromal multipotent stem cells of the marrow

Трахея представляет собой сложный орган, состоящий из хрящевой ткани, охватывающей $\frac{2}{3}$ окружности, гладкомышечной ткани вокруг оставшейся трети, респираторного эпителия, соединительной ткани и кровеносных сосудов. Стабильность просвета трахеи обеспечивается механическими свойствами её хряща, тогда как респираторный эпителий осуществляет мукоцилиарный клиренс [18, 25].

Трахея, как и любой иной орган, подвержена травмам, а также заболеваниям, как врожденным, так и приобретенным. Повреждения трахеи размером менее нескольких миллиметров восстанавливаются благодаря миграции клеток из окружающих рану тканей, травмы большей площади приводят к деформации просвета трахеи, хронические заболевания её слизистой оболочки — к стенозу и обструктивной дыхательной недостаточности [12]. Кроме того, многим из 650 000 больных, ежегодно оперируемых по поводу опухолей головы и шеи, резецируют часть верхних дыхательных путей, порой превышающую в длину 5–6 см, т. е. критичную для формирования прямого анастомоза величину. У детей этот предел ещё меньше. Есть даже мнение [27], что риск развития осложнений и летальность при реконструктивных операциях на трахее пропорциональны длине иссеченного фрагмента и, следовательно, длине анастомоза.

В то же время возможность аллотрансплантации трахеи не однозначна. Она зависит от доступности донорского органа, а также ограничений, обусловленных высоким риском операционных и послеоперационных осложнений, включая иммунные. Формирование комбинированного трахеального трансплантата из аутогенных и аллогенных тканей и протезных материалов также имеет ограничения. Кожно-мышечный аутогенный трансплантат без реснитчатого эпителия и секреторных клеток не способен к мукоцилиарному клиренсу, и его использование может привести к угрожающей жизни обструкции дыхательных путей слизью. Другие протезы, доступные в настоящее время, не способны полностью инте-

грироваться с тканями реципиента и заместить функцию нативных тканей [12, 18, 25].

Перспективной альтернативой донорской трахеи может стать биоинженерная трахея (БИТ). Создание БИТ — это процесс, состоящий из трех последовательных этапов. Первый из них — подготовка иммунологически инертного бесклеточного матрикса, или каркаса, второй — получение в достаточном количестве всех видов органоспецифических клеток пациента и третий — заселение каркаса клетками с культивированием полученной конструкции до конечного продукта (БИТ) — живой копии нативной трахеи. Такой персонализированный биоинженерный орган может быть трансплантирован пациентам с врожденным или приобретенным дефектом верхних дыхательных путей [8, 12, 18, 25].

Матрикс трахеи представляет собой уникальную бесклеточную органоспецифичную 3D-структуру, состоящую из молекул коллагена разных типов, ламинина, фибронектина, протеогликанов. Эти молекулы формируют пространственную пористую структуру матрикса, определяющую его биомеханические свойства [12]. Они же обеспечивают распространение питательных субстратов, хоминг клеток-предшественников, расселение их по каркасу, прикрепление, пролиферацию и дифференцировку в хондроциты, клетки реснитчатого эпителия, эндотелиоциты, т. е. эффекторы функции органа, физиологической и репаративной его регенерации [24–26].

Ключевым моментом его получения является децеллюляризация донорской трахеи в режиме сохранения предсуществующей структуры и молекулярного состава матрикса. Децеллюляризация осуществляется детергентно-ферментативной обработкой органа. Обычно используют две группы реагентов: детергент, например, дезоксихолат натрия, растворяющий клеточные мембраны с локализованными на них антигенами главного комплекса гистосовместимости (HLA-антигены) [7, 28], и ферменты, например, дезокси-

рибонуклеаза (ДНКаза-I), расщепляющая ДНК [16, 22], и трипсин, расщепляющий белковые компоненты клеток, частично разрушенных детергентом [10, 24].

Длительность процесса удаления клеток трахеи зависит от видовых и возрастных особенностей донора органа (экспериментального животного, человека), но, в целом, процедура требует времени, предопределённого особенностями гистологической структуры органа [30–34]. Так, обильно пронизанный волокнистыми структурами, уплотнённый вокруг хондроцитов и хондробластов внеклеточный матрикс трахеи предполагает длительную диффузию детергентов, прежде чем они достигнут клеток. Фрагмент трахеи крысы из 10 хрящевых полуколец или более децеллюляризовали по протоколу, который включал в себя промывание дистиллированной водой (72 ч), пять 48-часовых циклов, состоящих из детергентной обработки (4% раствор дезоксихолата 4 ч при комнатной температуре), воздействия ДНКазы (5000 Ед/мл в 1 мМ растворе хлорида натрия, 3 ч при 37 °С) и отмывания дистиллированной водой в течение 40 ч. В последнем цикле продолжительность отмывания дистиллированной водой увеличивали до 72 ч. Без промывания водой полная децеллюляризация не достигается даже после 25 циклов [4, 20]. При условии выполнения водной фазы процедуры 22 циклов оказывается достаточно для полного удаления клеток.

Иммуногистохимический анализ показал, что после первого цикла НЛА-антигены отсутствовали в слизистой оболочке, подслизистом слое, адвентиции. В лакунах хрящевой ткани и после 5 циклов оставалось небольшое количество ядер и клеточного дебриса. Тканевая архитектура хряща, базальной мембраны и подслизистого слоя в основном сохранилась. Обработанный таким образом матрикс трахеи теряет способность вызывать иммунные реакции [27].

Длина и толщина стенки трахеи животных крупных видов больше трахеи крысы и сопоставимы с трахеей взрослого человека. Соответственно децеллюляризация трахеи свиньи длиной около 10 см потребовала 25 циклов детергентно-ферментативной обработки, после которой макро- и микроскопическая структура трахеи оказалась сохранной, хотя и с некоторым количеством ядерного материала в хрящевой ткани [22]. Однако это обстоятельство не является критичным, поскольку коммерчески доступные биоинженерные протезы сосудов и клапанов сердца также содержат фрагменты ДНК [16], но безопасной длины, какой принято считать длину 200–300 пар оснований [9].

Длина и диаметр просвета трахеи человека, толщина хрящевой части стенки зависят от возраста. Воронкообразная по форме трахея новорожденного имеет длину 3,2–4,5 см против 13 см у взрослого человека и диаметр просвета не более 8 мм против 15–18 мм взрослого. Лишенная хрящевой задняя стенка трахеи относительно шире, чем у взрослого, хрящевая ткань более тонкая и мягкая. Для удаления клеток трахеи человека использовали 17 циклов децеллюляризации и более. Почти все клеточные элементы исчезли только после 25 циклов. Микроархитектоника матрикса и его биомеханические свойства были сохранены вплоть до 27-го цикла. Количество коллагена в децеллюляризованном матриксе и нативной трахее различалось незначительно. Ориентация коллагеновых волокон в матриксе децеллюляризованной и нативной трахеи была сходной. Цитотоксичность матрикса по отношению к посеянным клеткам отсутствовала [27]. Очевидно, описанный протокол децеллюляризации следует считать щадящим, так как, по данным авторов, обнаружен-

ные ультраструктурные нарушения на поверхности матрикса заметно не повлияли на адгезию и рост посеянных респираторных эпителиоцитов и способность мезенхимальных стволовых клеток к хондрогенной дифференцировке. Можно предположить, что 8 циклов децеллюляризации трахеи карликовой свиньи (мини-пиги), близкой к таковой ребенка, окажется достаточно для последующей рецеллюляризации и трансплантации.

Длительная децеллюляризация, помимо удаления клеток с поверхностей органа и хрящевых клеток из толщи трахеи, приводит к частичной потере таких важных компонентов матрикса, как гликозаминогликаны (ГАГ) — второго после коллагена II типа белка матрикса, коллаген, ламинин, фибронектин [13, 22] и вследствие этого — к изменению некоторых биомеханических свойств каркаса. Тестирование на эластичность, упругость, сжатие, жесткость, предел прочности при растяжении бесклеточного каркаса трахеи показало недостоверное снижение большинства этих параметров после 5 циклов децеллюляризации трахеи крысы или после 25 циклов децеллюляризации трахеи человека [22, 27] и косвенно — на имеющее место повреждение матрикса, способного повлиять на качество последующей рецеллюляризации. В связи с этим нельзя не отметить, что децеллюляризация только в рамках её щадящего протокола обеспечит возможность дальнейших процессов в технологической цепи создания биоинженерного органа — его рецеллюляризации и «созревания» [26].

Важным этапом подготовки БИТ является оценка децеллюляризованного каркаса на цитотоксичность в связи с последующей его рецеллюляризацией, так как реагенты, используемые в процессе децеллюляризации, цитотоксичны по своей природе. В специальных экспериментах *in vitro* установлено, что экстракты интактных и децеллюляризованных трахей, добавленные в культуральную среду, одинаково безопасны для стволовых клеток костного мозга. Клетки, инкубированные с экстрактом децеллюляризованного матрикса, показали более высокую способность к пролиферации, по сравнению с интактным контролем [27]. Этот парадоксальный феномен можно объяснить активностью некоторых ростовых факторов, остающихся в матриксе после децеллюляризации, например, bFGF (basic fibroblast growth factor), которые высвобождаются в процессе частичной деградации ткани [2].

Следующий этап создания БИТ — рецеллюляризация матрикса. Приживление или отторжение заселенного клетками каркаса после трансплантации реципиенту зависит от сохранности уникальной архитектуры и ростовых факторов внеклеточного матрикса после децеллюляризации [10, 23].

Среди специалистов по тканевой инженерии нет согласия относительно оптимального типа клеток для БИТ. В настоящее время предпочтение отдается аутологичным хондроцитам хряща трахеи, носовой перегородки, уха, ребра, а также клеткам-предшественникам из костного мозга [15]. Хрящ носовой перегородки обладает преимуществом, заключающимся в возможности получать три типа клеток для трехмерного тканевого конструктора из одного биоптата. Если доступность назального хряща ограничена заболеванием или возрастом, то можно использовать мезенхимальные стволовые клетки костного мозга (МСК КМ) благодаря их мультитипотентности, пролиферативному, дифференцировочному потенциалу, низкой иммуногенности [18]. Для трахеи оптимальным оказалось сочетание различных типов клеток

[3, 29]. Совместное культивирование хондроцитов носовой перегородки и МСК КМ в соотношении 1 : 1 повышает их способность регенерировать межклеточные связи, по сравнению с популяциями, культивируемыми по отдельности [18]. Скорость регенерации и плотность респираторного эпителия увеличивается, когда в рецеллюляризации бесклеточного каркаса трахеи участвуют фибробласты [12, 14, 17].

Для выяснения роли эпителиальных клеток и хондроцитов в эффективности трансплантации БИТ сегменты свиной трахеи заменили децеллюляризованным матриксом (1-я группа); децеллюляризованным матриксом с хондроцитами, дифференцированными из аутологичных МСК КМ (2-я группа); децеллюляризованным матриксом, люминальная поверхность которого была рецеллюляризована аутологичными эпителиальными клетками (3-я группа) или децеллюляризованным матриксом, засеянным клетками обоих типов (4-я группа). Все БИТ были изготовлены из каркасов, децеллюляризованных с использованием дезоксихолата натрия и ДНКазы-I. После операции животных наблюдали в течение 60 дней. Обструкция дыхательных путей и инфекционные осложнения определили малую продолжительность жизни животных 1-й группы — от 9 до 11 дней. Инфекция стала причиной летального исхода у животных 2-й группы спустя 25–33 дня после трансплантации БИТ. Стеноз БИТ, как ведущее звено танатогенеза, наблюдался у животных 3-й группы, продолжительность жизни которых составила 30–38 дней. У животных 4-й группы отсутствовали признаки спадения дыхательных путей, ишемии и отторжения, несмотря на отсутствие иммуносупрессии. Видимо, заселение матрикса аутологичными хондроцитами и респираторными эпителиоцитами привело к получению жизнеспособного функционального трансплантата. Клинический исход коррелировал с гистологическими данными. Недостаточность внешнего дыхания обструктивно-го типа наблюдали при трансплантации БИТ без клеток или только с одним типом клеток. Исследования эластических свойств БИТ и нативной трахеи перед трансплантацией показали сходные значения в тестах на растяжение. После эксплантации БИТ у животных 1–3-й группы обнаружена статистически более низкая эластичность, по сравнению с нативной трахеей. Очевидно, биомеханические характеристики трансплантированных БИТ определяются не только составом клеток, засеянных на бесклеточный каркас [10], но и могут изменяться в послеоперационном периоде.

Подвергнутые хондрогенной дифференцировке МСК КМ засеяли на каркасы трахеи с добавлением в среду TGF- β 3 (трансформирующий фактор роста- β 3) и BMP-2 (протеин морфообразования кости-2). На люминальную поверхность каркаса засеивали выделенные из слизистой оболочки дыхательных путей доноров эпителиоциты, поскольку их культивирование быстро (на втором пересевании) способствует превращению в фибробласты. Спустя 1 сут МСК КМ, посеянные на наружную поверхность каркаса, оказались прикрепленными и начавшими дифференцировку, а через 2 нед образовали многослойную структуру. Для оценки антигенности конструкции её имплантировали под кожу спины крысам. Эксплантация биоинженерной трахеи через 1 мес, в течение которого у животных не было признаков воспаления, показала образование сосудов в подслизистом слое и перитрахеальной ткани. БИТ были частично кальцинированы, без клеточной репопуляции в сохранившихся лакунах хряща и формирования нового хряща. Авторы заключают, что БИТ иммунологически инертна, реэпителизация кон-

структа происходит даже в отсутствие водно-воздушного интерфейса, но хондроциты, дифференцированные из МСК КМ, не приживляются по данной методике [27, 28].

Судьба эпителиоцитов трансплантата *in vivo* не исследована. Возможно, их замещает эпителий, мигрирующий из краев раны [14], как это происходит при эндотелизации тканеинженерных сосудов. Мышечные аллотрансплантаты трахеи оказались инфильтрованы клетками реципиента, в последующем обеспечившими полную регенерацию [12].

Бесклеточный матрикс трахеи — пространственная структура, достаточная, чтобы (после щадящей децеллюляризации и адекватной рецеллюляризации) в специальных условиях биореактора [3] обеспечить пролиферацию и дифференцировку засеянных клеток до формирования биоинженерного органа. Сам биореактор состоит из двух отсеков с газо-жидкостным интерфейсом для обеспечения условий культивирования разных типов клеток. Спустя 1 сут все эпителиальные клетки и хондроциты подаваемой клеточной суспензии или засеянные на матрикс прикрепляются. Продолжительность их культивирования в биореакторе составляет 96 ч. Несмотря на структурную обособленность двух камер биореактора, в образцах биоинженерной конструкции на обеих поверхностях были обнаружены жизнеспособные эпителиальные клетки и хондроциты, способные к быстрой миграции через всю толщу трансплантата.

Трансплантированная БИТ, казалось, непременно погибнет из-за отсутствия васкуляризации. Однако каркас способен поддерживать васкуляризацию. Ортогипическая реваскуляризация БИТ происходит за несколько недель благодаря не только относительно низкой потребности хондроцитов в кислороде и продолжающемуся контакту эпителия с воздухом [6, 10, 20, 22], но и вследствие наличия в структурах матрикса молекул bFGF, обеспечивающих ангиогенный потенциал каркасу. Исследование хемоаттрактантных свойств матрикса путём посева эндотелиальных клеток пуповинной вены человека в камеру биореактора, отделенную пористой мембраной от камеры с децеллюляризованным матриксом, показало, что матрикс значительно увеличивает миграцию через мембрану биореактора, по сравнению с негативным контролем. Фрагменты матрикса, помещенные на хориоаллантоиновую мембрану куриного яйца, на 2-й день инкубации были окружены радиально направленными сосудами, на 4-й день — полностью окутаны сосудами, что свидетельствует о влиянии бесклеточного каркаса на рост и организацию сосудистой сети [4]. Протеогликаны, по мнению авторов, защищают ангиогенные факторы от удаления с матрикса при децеллюляризации.

Клинические исследования. Трансплантация ксеногенной БИТ в клинику была выполнена в 2004 г. Децеллюляризованный детергентно-ферментативным методом и засеянный *in vitro* аутологичными мышечными клетками и фибробластами реципиента сегмент тощей кишки свиньи был успешно использован для реконструкции дефекта трахеи у 58-летнего пациента. Трансплантат функционально и морфологически интегрировался в дыхательные пути без признаков хронического воспаления, инфекции, грануляционной ткани или эрозии [21]. В 2008 г. P. Macchiarelli и соавт. [20] первыми описали клеточную репопуляцию аллогенной децеллюляризованной трахеи для реконструкции стенозированного сегмента левого главного бронха и трахеи у 30-летней женщины с вторичной посттуберкулезной тяжелой бронхомаляцией. Они трансплантировали БИТ из бесклеточного

каркаса (25 циклов децеллюляризации дезоксихолатом натрия и ДНКазой), засеянного хондроцитами и клетками реснитчатого эпителия, полученными из аутологических МСК КМ. Через 4 дня в трансплантате сформировалась густая сеть микрососудов. Эпителизацию наблюдали через 1 мес, мукоцилиарный клиренс — через 6 мес. Окрасивание на ламинин и трансмиссионная электронная микроскопия подтвердили наличие сплошной базальной мембраны и мелких кровеносных сосудов. Вызванное биопсией слизистой оболочки кровотечение спустя 1 мес после имплантации БИТ стало признаком успешной ревазуляризации [20]. Результаты 5-летнего наблюдения за состоянием пациентки были опубликованы в 2014 г. Прогрессирующий рубцовый стеноз вблизи анастомоза нативной трахеи с БИТ потребовал повторного эндолуминального стентирования спустя 1 год после трансплантации. При этом БИТ оставалась хорошо васкуляризованной, полностью рецеллюляризованной с нормальной мукоцилиарной функцией ресничек. Показатели функции внешнего дыхания оставались в пределах нормы через 44 мес после трансплантации БИТ. Обструкция верхних дыхательных путей и стеноз в местах анастомозов потребовали повторных эндолуминальных дилатаций без стентирования. Не считая бронхоскопических вмешательств, пациентка ведёт нормальную социальную и трудовую жизнь и не имеет инвалидности. Тератомы, связанные со стволовыми клетками, и признаки отторжения отсутствуют. Улучшение функции лёгких, нормальный кашлевой рефлекс и сила выталкивания свидетельствуют об отсутствии нарушения иннервации дыхательных путей через 5 лет после трансплантации [11].

В дальнейшем группа исследователей [15] под руководством Р.Масchiaгипи трансплантировали биоинженерную трахею 9 пациентам по жизненным показаниям. На протяжении 1 года у 3 пациентов выявлены непредвиденные стенозы трансплантата, потребовавшие повторного стентирования вследствие клинически наблюдаемой нестабильной биомеханики.

Некоторые стороны технологии БИТ, в частности длительность децеллюляризации и последующей рецеллюляризации (2–3 нед), удалось оптимизировать за счёт их укорочения, используя организм реципиента как биореактор. Каркасы человека без клеток интраоперационно засеивали аутологичными клетками дыхательного эпителия и мононуклеарами костного мозга [8, 19], МСК КМ с ростовыми факторами [5]. Рецеллюляризацию *in vivo* использовали у взрослых больных и детей с опухолевыми заболеваниями дыхательных путей. Наблюдения в течение 3½ лет не выявили случаев смерти, связанных с трансплантатом. Бронхоскопические наблюдения показали, что все трансплантаты имели сосудистую сеть и здоровую слизистую оболочку дыхательных путей. Осложнения у 30% пациентов состояли в частичном стенозировании проксимального отдела трансплантата [5].

М. J. Elliott и соавт. [8] после 3-дневного курса применения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) для мобилизации и индукции пролиферации СККМ и эндотелиальных предшественников у мальчика 10 лет с врожденным стенозом трахеи, заселили полученными мононуклеарами децеллюляризованный каркас трупной трахеи. Лоскуты слизистой оболочки иссеченного сегмента трахеи длиной 7 см были помещены на люминальную поверхность каркаса. Трансплантат обработали человеческим рекомбинантным эритропоэтином и Г-КСФ, стимулиру-

ющими ангиогенез. В кольца трахеи ввели фактор TGF-β (Transforming growth factor β), цитокин-иницирующий хоминг МСК реципиента и их хондрогенную дифференцировку. В послеоперационном периоде было продолжено внутривенное введение эритропоэтина. Механические свойства трансплантата поддерживались нитиновым стентом. Спустя 1 нед после операции были обнаружены сосуды на слизистой оболочке трансплантата, через 8 нед — выраженная местная нейтрофильная инфильтрация. Через 15 мес эндоскопически выявлена полная эпителизация, а цитологически — функционирующие клетки реснитчатого эпителия. Через 18 мес после операции компьютерная томография и вентилиционно-перфузионная скintiграфия показали нормальное функционирование аппарата внешнего дыхания. Признаки отторжения и анти-HLA-антитела отсутствовали. Пациент вырос на 11 см, а спустя 2 года смог посещать школу [8]. Подобно клиническому наблюдению у взрослого пациента [20], у ребенка при бронхоскопии через 1 нед после трансплантации было незначительное кровотечение как свидетельство наличия кровеносных сосудов [8]. Обоим реципиентам требовались стенты для поддержания просвета дыхательных путей.

Итоги пре- и клинических испытаний позволили конкретизировать требования, предъявляемые к биоинженерной трахее. Общими свойствами являются неиммуногенность, нетоксичность, неонкогенность, способность обеспечить клеточную адгезию, пролиферацию и дифференцировку клеток, репопуляцию, ремоделирование, регенерацию, рост, синхронизированный с ростом пациента. Специфические для биоинженерной трахеи свойства — герметичность и непроницаемость для жидкости, достаточная механическая прочность (способность адекватно реагировать на продольные и поперечные силы), поддержание формы и контура просвета для проходимости дыхательных путей и функции дыхания.

Выводы. 1. Тканеинженерная конструкция, способная быть жизнеспособной и функциональной (подобно нативной трахее) при трансплантации реципиенту, может быть получена при выполнении следующих условий: бесклеточный каркас БИТ должен быть способным инициировать ангиогенез, репопуляцию предшественниками органоспецифичных клеток и пролиферацию засеянных клеток [1]. Получение органоспецифичных для трахеи клеток должно быть минимально инвазивным, коротким и простым.

2. Иммунологически инертная биоинженерная трахея должна обладать герметичностью, гибкостью и одновременно жесткостью, способностью к росту в организме ребенка.

3. В тканевой инженерии трахеи остаётся много нерешенных проблем, например, как долговременно сохранить биомеханические свойства БИТ, сводя к минимуму необходимость стентирования, реакции отторжения; как оптимизировать децеллюляризацию, рецеллюляризацию, дизайн биореактора, обеспечить адгезионные и пролиферативные функции засеянных клеток, реэпителизацию и ревазуляризацию [5]. Как показал опыт трансплантации БИТ человека, процесс исцеления может сопровождаться серьезными осложнениями [20].

4. На сегодня ни одно из исследований в области тканевой инженерии трахеи не было полностью клинически успешным [18]. По этой причине в качестве ведущей цели при создании длинных сегментов трахеи следует рассматривать БИТ с полностью функциональным её клеточным ансамблем.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCE]

1. Александров В.Н., Хубулава Г.Г., Леванович В.В. Тканеинженерные сосудистые трансплантаты // Педиатрия. 2015. № 1. С. 87–96 [Aleksandrov V.N., Khubulava G.G., Levanovich V.V. Tkaneinzhenernyye sosudistyie transplantaty // Pediatriya. 2015. № 1. P. 87–96].
2. Badylak S.F. The extracellular matrix as a biologic scaffold material // Biomaterials. 2007. Vol. 28, № 25. P. 3587–3593.
3. Badylak S.F., Weiss D.J., Caplan A., Macchiarini P. Engineered whole organs and complex tissues // Lancet. 2012. Vol. 379, № 9819. P. 943–952.
4. Baiguera S. Tissue engineered human tracheas for in vivo implantation // Biomaterials. 2010. Vol. 31, № 34. P. 8931–8938.
5. Baiguera S., Macchiarini P. Upper airways regeneration and bioengineering // Regenerative medicine applications in organ transplantation. Part VIII. Composite tissues allotransplantation. 2014. P. 747–759.
6. Curcio E., Macchiarini P., De Bartolo L. Oxygen mass transfer in a human tissue-engineered trachea // Biomaterials. 2010. Vol. 31, № 19. P. 5131–5136.
7. Elder B.D., Eleswarapu S.V., Athanasiou K.A. Extraction techniques for the decellularization of tissue engineered articular cartilage constructs // Biomaterials. 2009. Vol. 30, № 22. P. 3749–3756.
8. Elliott M.J., De Coppi P., Speggorin S. et al. Stem cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child : a 2-year follow-up study // Lancet. 2012. Vol. 380, № 9846. P. 994–1000.
9. Gilbert T.W., Freund J.M., Badylak S.F. Quantification of DNA in biologic scaffold materials // J. Surg. Res. 2009. Vol. 152, № 1. P. 135–139.
10. Go T., Jungebluth P., Baiguero S. et al. Both epithelial cells and mesenchymal stem cell-derived chondrocytes contribute to the survival of tissue-engineered airway transplants in pigs // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2010. Vol. 139, № 2. P. 437–443.
11. Gonfiotti A., Jaus M.O., Barale D. et al. The first tissue-engineered airway transplantation : 5-year follow-up results // Lancet. 2014. Vol. 383, № 9913. P. 238–244.
12. Hamilton N., Bullock A.J., Macneil S. et al. Tissue engineering airway mucosa : a systematic review // Laryngoscope. 2014. Vol. 124, № 4. P. 961–968.
13. Haykal S., Jonn P., Salna M. et al. Evaluation of the structural integrity and extracellular matrix components of tracheal allografts following cyclical decellularization techniques : comparison of three protocols // Tissue Eng. 2012. Vol. 18, № 8. P. 614–623.
14. Heikal Mohd M.Y., Aminuddin B.S., Jeevanan J. et al. Autologous implantation of bilayered tissue-engineered respiratory epithelium for tracheal mucosal regeneration in a sheep model // Cells tissues organs. 2010. Vol. 192, № 5. P. 292–302.
15. Jungebluth P., Macchiarini P. Airway transplantation // Thorac. Surg. Clin. 2014. Vol. 24, № 1. P. 97–106.
16. Keane T.J., Londono R., Turner N.J., Badylak S.F. et al. Consequences of ineffective decellularization of biologic scaffolds on the host response // Biomaterials. 2012. Vol. 33, № 6. P. 1771–1781.
17. Kobayashi K., Nomoto Y., Suzuki T. et al. Effect of fibroblasts on tracheal epithelial regeneration in vitro // Tissue eng. 2006. Vol. 12, № 9. P. 2619–2628.
18. Kojima K., Vacanti C.A. Tissue engineering in the trachea // Anat. Rec. 2014. Vol. 297, № 1. P. 44–50.
19. Laurence J. British boy receives tracheal transplant with his own cells // BMJ. 2010. Vol. 340. P. 1633.
20. Macchiarini P., Jungebluth P., Go T. et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway // Lancet. 2008. Vol. 372, № 9655. P. 2023–2030.
21. Macchiarini P., Walles T., Biancosino C., Mertsching H. First human transplantation of a bioengineered airway tissue // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2004. Vol. 128, № 4. P. 638–641.
22. Partington L., Mordan N.J., Mason C. et al. Biochemical changes caused by decellularization may compromise mechanical integrity of tracheal scaffolds // Acta Biomater. 2013. Vol. 9, № 2. P. 5251–5261.
23. Remlinger N.T., Czajka C.A., Juhas M.E. et al. Hydrated xenogeneic decellularized tracheal matrix as a scaffold for tracheal reconstruction // Biomaterials. 2010. Vol. 31, № 13. P. 3520–3526.
24. Schwarz S., Koerber L., Elsaesser A.F. et al. Decellularized cartilage matrix as a novel biomatrix for cartilage tissue engineering applications // Tissue eng. Part A. 2012. Vol. 18, № 21/22. P. 2195–2209.
25. Shin Y.S., Lee B.H., Choi J.W. et al. Tissue-engineered tracheal reconstruction using chondrocyte seeded on a porcine cartilage-derived substance scaffold // Int. J. Ped. Otorhinolaryngol. 2014. Vol. 78, № 1. P. 32–38.
26. Simon-Assmann P., Orend G., Mammadova-Bach E. et al. Role of laminins in physiological and pathological angiogenesis // Int. J. Dev. Biol. 2011. Vol. 55, № 4–5. P. 455–465.
27. Zang M., Zhang Q., Chang E.I. et al. Decellularized tracheal matrix scaffold for tissue engineering // Plast. Reconstr. Surg. 2012. Vol. 130, № 3. P. 532–540.
28. Zang M., Zhang Q., Chang E.I. et al. Decellularized tracheal matrix scaffold for tracheal tissue engineering : in vivo host response // Plast. Reconstr. Surg. 2013. Vol. 132, № 4. P. 549e–559e.
29. Zani B.G., Kojima K., Vacanti C.A., Edelman E.R. Tissue-engineered endothelial and epithelial implants differentially and synergistically regulate airway repair // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105, № 19. P. 7046–7051.
30. 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, № 7. P. 1636–1645.
31. Zhao Y., Feric N.T., Thavandiran N. et al. The role of tissue engineering and biomaterials in cardiac regenerative medicine // Can. J. Cardiol. 2014. Vol. 30, № 11. P. 1307–1322.
32. Zhao Y., Zhang S., Zhou J. et al. The development of a tissue-engineered artery using decellularized scaffold and autologous ovine mesenchymal stem cells // Biomaterials. 2010. Vol. 31, № 2. P. 296–307.
33. Zheng M.H., Ye C., Braddock M., Chen Y.P. Liver tissue engineering : promises and prospects of new // Cytotherapy. 2010. Vol. 12, № 3. P. 349–360.
34. Zou Y., Zhang Y. Mechanical evaluation of decellularized porcine thoracic aorta // J. Surg. Res. 2012. Vol. 175, № 2. P. 359–368.

Поступила в редакцию 20.07.2016 г.

Сведения об авторах:

Александров Виктор Николаевич (e-mail: vnaleks9@yandex.ru), нач. лаб. тканевой инженерии НИО (мед.-биол. исслед.);
Калюжная Лидия Ивановна (e-mail: terrestra@mail.ru), ст. научн. сотр. той же лаб.; *Фирсанов Денис Владимирович*
 (e-mail: dfirsanov@gmail.com), ст. научн. сотр. той же лаб.; *Кривенцов Александр Викторович* (e-mail: sascha_jiembet@mail.ru),
 ст. научн. сотр. той же лаб.; *Кондратенко Альбина Александровна* (e-mail: Akondratenko@mail.ru), мл. научн. сотр. той же лаб.;
 Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6, литера Ж;

Фигуркина Мария Александровна (e-mail: mariya.figurkina@mail.ru), лаборант-исслед. лаборатории экспериментальн. мед.;
 Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2.