

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-2-82-98

## ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННАЯ СТРОМА ПУПОВИНЫ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ: СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

Ю.Б. Басок<sup>1</sup>, А.А. Кондратенко<sup>2</sup>, Л.И. Калюжная<sup>2</sup>, Е.А. Волкова<sup>1</sup>, К.А. Воробьев<sup>2</sup>,  
В.И. Севастьянов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Несмотря на большой прогресс в области создания биоматериалов для тканевой инженерии и регенеративной медицины, высокие требования, предъявляемые к искусственным матрицам (матрицам, носителям, скаффолдам), являются причиной продолжающегося поиска природных или синтетических миметиков внеклеточного матрикса. Среди таких материалов многообещающим представляется децеллюляризованная строма пуповины благодаря высокому содержанию гиалуроновой кислоты, цитокинов и факторов роста, а также отсутствию этических ограничений для ее получения. Описано, что децеллюляризованная строма пуповины способствует восстановлению хряща, печеночной ткани, нервной ткани и заживлению ран. В обзоре дан критический анализ и обобщены опубликованные данные, касающиеся способности децеллюляризованной стромы пуповины поддерживать необходимые условия для адгезии, миграции, дифференцировки и функциональной активности адгезированных клеток, стимулируя, таким образом, внутренний (физиологический) регенеративный потенциал тканей. Поиск литературы проводился в электронных базах данных Medline/PubMed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)), Cochrane library (<https://www.cochrane.org>), eLIBRARY / Российский индекс научного цитирования (<https://www.elibrary.ru>). Критериями включения было присутствие биоматериалов, полученных из децеллюляризованной стромы пуповины. Критериями исключения статей были такие объекты исследования, как децеллюляризованные сосуды (вены и артерии) пуповины, а также культуры клеток пуповины. Для анализа получаемых продуктов, областей их применения, методов децеллюляризации и результатов исследований были выбраны 25 оригинальных статей на английском и русском языках. Также в обзоре обсуждаются перспективы использования децеллюляризованной пуповины в медицине.

*Ключевые слова:* строма пуповины, децеллюляризация, внеклеточный матрикс, регенеративная медицина, тканевая инженерия.

## DECELLULARIZED UMBILICAL CORD STROMA IN TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE: A SYSTEMATIC REVIEW

Yu.B. Basok<sup>1</sup>, A.A. Kondratenko<sup>2</sup>, L.I. Kalyuzhnaya<sup>2</sup>, E.A. Volkova<sup>1</sup>, K.A. Vorobyov<sup>2</sup>,  
V.I. Sevastianov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Despite great progress in the field of biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine, the high requirements placed on artificial matrices (matrices, carriers, scaffolds) are the reason for the ongoing search for

**Для корреспонденции:** Басок Юлия Борисовна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.  
Тел. (499) 190-45-90. E-mail: [bjb2005@mail.ru](mailto:bjb2005@mail.ru)

**Corresponding author:** Yulia Basok. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.  
Phone: (499) 190-45-90. E-mail: [bjb2005@mail.ru](mailto:bjb2005@mail.ru)

natural or synthetic extracellular matrix mimetics. Among such materials, decellularized umbilical cord (UC) stroma appears to be very attractive – it has a high content of hyaluronic acid, cytokines, and growth factors, and there are no ethical restrictions for its production. Decellularized UC stroma has been found to promote cartilage, liver tissue and nerve tissue repair, as well as wound healing. The review critically analyzes and summarizes published data on the ability of decellularized UC stroma to maintain the necessary conditions for adhesion, migration, differentiation and functional activity of adherent cells, thus stimulating the internal (physiological) regenerative potential of tissues. Literature was searched for in the following electronic databases: Medline/PubMed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)), Cochrane library (<https://www.cochrane.org>), and eLIBRARY/Russian Science Citation Index (<https://www.elibrary.ru>). Inclusion criteria were the presence of biomaterials obtained from decellularized human UC stroma. Exclusion criteria for papers included research objects as decellularized umbilical cord vessels (veins and arteries) and umbilical cord cell cultures. Twenty-five original articles in English and Russian were selected for analysis of the products obtained, their applications, decellularization methods and research results. The review also discusses the prospects for decellularized umbilical cord in medicine.

*Keywords: umbilical cord stroma, decellularization, extracellular matrix, regenerative medicine, tissue engineering.*

Концепция тканевой инженерии заключается в создании функционально активных клеточно-инженерных конструкций (КИК) для стимулирования физиологической регенерации поврежденных тканей или сформированных *in vitro* или *in vivo*, тканеинженерных конструкций (ТИК) / тканевых эквивалентов, предназначенных для временной/постоянной замены необратимо поврежденных органов и тканей [1–3].

Основными компонентами КИК/ТИК являются клетки и клеточный носитель (*синонимы*: каркас, скаффолд, матрица или искусственный матрикс), функцией которого является доставка и удержание клеток в месте имплантации [4]. Наибольший интерес представляют миметики внеклеточного матрикса (ВКМ), имитирующие по составу естественный ВКМ и способные длительное время поддерживать жизнеспособность и функциональную активность клеток, создавая для них необходимое микроокружение [1, 5, 6].

При создании КИК/ТИК *in vitro* важным условием для достижения высокой степени их сходства с естественной тканью является воспроизведение не только биохимических, но и биомеханических стимулов, обеспечивающих жизнедеятельность клеток в организме [7]. Для имитации *in vitro* биомеханических сил, таких как сжатие, растяжение, сила сдвига, гидростатическое давление, используют специальные устройства – биореакторы, причем для каждого органа комплекс таких воздействий индивидуален [6–8].

Альтернативным путем является формирование КИК/ТИК в организме при имплантации в организм бесклеточного искусственного матрикса, задачей которого является обеспечить миграцию к нему собственных клеток реципиента и стимуляцию их пролиферации с последующим замещением повреждения функционально активной тканью [9]. Бесклеточные продукты, созданные методами децеллюляризации из биоматериала органов и тканей животных или человека, показали высокую биологическую активность. К тому же такой продукт может быть изготовлен заранее и применен без предварительной подго-

товки, что потенциально ускоряет его внедрение в клиническую практику и имеет особое значение для военной медицины [10–11].

Среди них многообещающей представляется децеллюляризованная строма пуповины (Вартонов студень – ВС) [12]. ВС представляет собой соединительную ткань, которая образует основную массу пупочного канатика у человека и других млекопитающих. ВКМ ВС содержит структурные компоненты (коллагены I, II, III, IV, V, VI, XII, XIV типов, фибронектин, фибриллин и гиалурионовую кислоту высокого молекулярного веса и сульфатированные гликозаминогликаны (ГАГ), такие как хондроитинсульфаты, гепарансульфат, дерматансульфат) и многочисленные факторы роста: инсулиноподобный фактор роста (IGF-1) и белки, связывающие инсулиноподобный фактор роста (IGFBP) 1, 2, 3, 4 и 6, трансформирующий фактор роста альфа (TGF- $\alpha$ ) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF), факторы роста фибробластов ( $\alpha$ FGF,  $\beta$ FGF), эпидермальные факторы роста (EGFs), различные изоформы трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta$ 1, 2, 3), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), цитокины (с преобладанием противовоспалительных), матриксные металлопротеиназы (MMPs) и ингибиторы матриксных металлопротеиназ (TIMPs). Также была обнаружена экспрессия нескольких иммуномодулирующих цитокинов, таких как RANTES (регулирует активацию, экспрессию нормальных Т-клеток и секрецию), рецептор интерлейкина 6 (IL-6R), интерлейкин 16 (IL-16) и интерферон гамма (IFN- $\gamma$ ), а также провоспалительных цитокинов, таких как макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), макрофагостимулирующий белок 1-альфа (MIP1 $\alpha$ ), суперсемейство рецепторов фактора некроза опухоли 1 $\alpha$  и 1 $\beta$  (TNF-RI и TNF-RII), антагониста рецепторов интерлейкина 1 (IL1RA) и цитокины, связанные с заживлением ран, включая молекулу межклеточной адгезии 1 (ICAM-1), гранулоцитарный стимулирующий фактор (G-CSF) [13–17]. Кроме того, ВКМ ВС предположительно обладает иммуномодулиру-

ющим и некоторым бактериостатическим эффектами [16, 17]. Описано, что децеллюляризованная строма ВС способствует восстановлению хряща [17], печеночной ткани [19], нервной ткани [20] и заживлению ран [21–23].

Тем не менее, насколько известно авторам, до сих пор ни в одном обзоре не предпринималась попытка критически оценить и обобщить фактические данные, касающиеся регенеративного потенциала децеллюляризованной стромы пуповины.

### РАССМОТРЕННЫЕ БАЗЫ ДАННЫХ И РЕЗУЛЬТАТЫ ПОИСКА

Поиск литературы проводился в электронных базах данных Medline/PubMed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)), Cochrane library (<https://www.cochrane.org>), eLIBRARY / Российский индекс научного цитирования (<https://www.elibrary.ru>).

В качестве поискового запроса в Medline/PubMed были использованы термины: (umbil\*[title] AND decell\*[title]) OR (whart\*[title] AND decell\*[title]) OR (umbil\*[title] AND acell\*[title]) OR (whart\*[title] AND acell\*[title]) OR (umbil\*[title] AND extracel\*[title] AND matr\*[title]) OR (whart\*[title] AND extracel\*[title] AND matr\*[title]). Дата последнего поиска 19.03.2023.

В качестве поискового запроса в Cochrane library были использованы термины (extracell\* AND umbil\*) OR (decell\* AND umbil\*). Дата последнего поиска 25.03.2023.

В качестве поисковых запросов в eLIBRARY были использованы термины decell\* umbil\* (поисковый запрос 1), extracell\* matrix\* umbil\* (поисковый запрос 2), децеллюляризация и пуповина (поисковый запрос 3), «внеклеточный матрикс» и пуповина (поисковый запрос 4). Дата последнего поиска 25.03.2023.

Критериями включения было присутствие в исследовании материалов, полученных из децеллюляризованной стромы пуповины человека. В анализе литературы были использованы полнотекстовые оригинальные статьи на английском и русском языках. Критериями исключения статей было использование децеллюляризованных сосудов (вен и артерий) пуповины, а также изучение культур клеток пуповины без использования ее ВКМ. Кроме того, в исследование не были включены материалы конференций, обзоры и препринты статей.

Процесс поиска литературы представлен на рис. 1. Первоначальный поиск привел к обнаружению 425 публикаций. Прежде всего в результатах поиска публикаций в каждой из выбранных баз данных вручную были исключены статьи, посвященные децеллюляризации сосудов пуповины, использованию мезенхимальных клеток пуповины и их везикул. Далее были исключены обзоры литературы и 2 клинических исследования, в которых не было описания продукта, полученного из пуповины (не был подтвержден факт децеллюляризации). На последнем этапе были исключены 4 повтора: 3 публикации дуб-

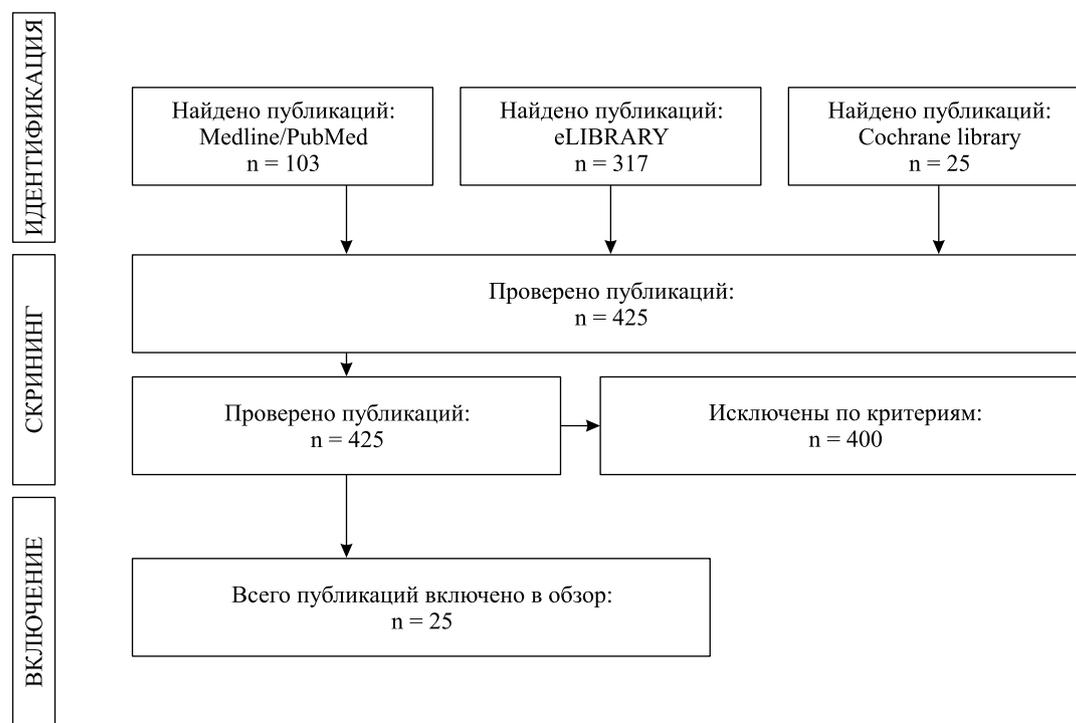


Рис. 1. Блок-схема поиска литературы, использованная для обзора

Fig 1. Flow diagram of the literature search employed for this review

лировались в базах данных PubMed и eLIBRARY [17, 24, 25], одна публикация была дважды отражена в результате поискового запроса в PubMed (публикация [26] и ее корректировка [27]). В 3 публикациях авторы использовали в качестве обработки ВС лишь центрифугирование. При этом количественного контроля содержания генетического материала представлено не было. Это послужило поводом для их исключения из рассмотрения в обзоре [10, 28, 29]. Результаты еще одного исследования также было решено не рассматривать, так как продукт, полученный исследователями, представлял собой фракцию супернатанта, полученную после воздействия трипсина на ВС [30]. Таким образом, в исследование было включено 25 статей [11, 12, 16–21, 24–26, 31–44]. В 8 публикациях были описаны только исследования *in vitro* [18, 19, 24, 25, 31–33, 37], в 4 – только исследование *in vivo* (на животных) [34, 41, 43, 44], и в 10 исследованиях были проведены оба типа доклинических испытаний [11, 16, 17, 20, 21, 26, 35, 36, 38, 42]. Клинических исследований, отвечающих критериям включения, найдено не было.

## ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ВКЛЮЧЕННЫХ ПУБЛИКАЦИЙ

Результаты опубликованных работ демонстрируют, что децеллюляризованный ВС (ДВС) относится к биосовместимому материалу, способному стимулировать пролиферацию клеточных культур и положительно влиять на процессы регенерации поврежденных органов и тканей (табл.).

P. Gupta et al. при создании матрикса для тканевой инженерии сосудов из фиброина шелка для улучшения свойств ремоделирования и иммуномодуляции ответа реципиента на внедрение полимерного материала функционализировали его ДВС. Порошок лиофилизованного ДВС смешивали с фиброином шелка (5 мг ДВС на 1 мл раствора шелка) перед формованием матрицы. После лиофилизации пористый протез сосуда был покрыт нановолокнистым слоем. Раствор для получения материала методом электроспиннинга состоял из фиброина шелка и поликапролактона в гексафтор-2-пропанол. После сшивания с использованием этил(диметиламинопропил)карбодиимид/N-гидроксисукцинимид в 80% этаноле в течение 12 ч каркасы промывали в стерильной воде на шейкере 12 ч и хранили при 4 °C до дальнейшего использования [11]. A. Basiri et al. добавляли ДВС, полученный по схожей технологии, в гидрогель из фиброина шелка перед гелеобразованием. Полученный таким образом биоматериал проявлял механические свойства, подобные свойствам хряща [31].

Исследователи (D. Li et al.) использовали ДВС в качестве клеточного носителя, поддерживающего фенотипы и дифференцировочный потенциал гемопоэтических клеток-предшественников [24].

M. Kehtari et al. продемонстрировали способность такого матрикса обеспечивать микроокружение, которое способствует гепатоцитарной дифференцировке плюрипотентных клеток, путем активации факторов транскрипции [19]. N. Azarbarz et al. представили результаты применения ДВС, конъюгированного с желатином, для 3D-системы культивирования клеток. При этом была показана дифференцировка мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в инсулин-продуцирующие клетки, подтвержденная усилением экспрессии инсулин-специфических генов и увеличением высвобождения инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой [32].

ВС богат пептидными факторами роста, участвующими в хондрогенезе. T. Xiao et al. показали, что ДВС человека может быть хорошим альтернативным биоматериалом для тканевой инженерии хряща [33]. Биомеханические свойства ДВС и его однородная пористая структура были достаточными для поддержки культивируемых на них хондроцитов кролика. Была продемонстрирована продукция клетками ГАГ, коллагена I и II типов и агрекана [33]. В то же время в исследовании K. Foltz et al. при замещении дефекта трахеи не было обнаружено рекрутирования хондроцитов в биосовместимый ДВС и индукции выработки ими коллагена. При этом структура и физические характеристики биоматериала обеспечили необходимое поддержание проходимости трахеи [34]. Исследование, проведенное L. Penolazzi et al., показало терапевтический потенциал ДВС и его влияние на функционирование клеток дегенерирующего межпозвонкового диска. Авторами было выдвинуто предположение, что имплантация ДВС может быть достаточной для функционального восстановления дегенерирующих межпозвонковых дисков [25].

В исследовании S. Jadalannagari et al. отметили на 2-е сутки миграцию МСК ВС в толщу ДВС. При этом авторы наблюдали пролиферацию клеток при культивировании на ДВС, которая, однако, была ниже, чем при культивировании на культуральном пластике. На модели дефекта плоской кости было показано, что ДВС человека способствовал адгезии и проникновению в биоматериал жизнеспособных остеоцитов [26]. Z. Yuan et al. использовали децеллюляризованную строму пуповины для заживления сухожилий. После удаления клеток ДВС сохранял значительное количество ГАГ и коллагена, сохранял микроструктуру и прочность на разрыв. Трехмерная пористая структура ДВС способствовала миграции, прикреплению и пролиферации теноцитов. В исследовании *in vivo* децеллюляризованный продукт способствовал регенерации сухожилий [35].

Интересно исследование L. Mann et al., в котором было установлено стимулирующее действие криоконсервированного ДВС человека на восстановление целостности позвоночника крысы после внутриутробной коррекции его расщепления.

Таблица

**Основные параметры и результаты исследований включенных публикаций  
General characteristics and results of studies included in this review**

Исследование (фамилия, год)	Область применения	Описание продукта	Методы децеллюляризации	Исследования <i>in vitro</i>		Исследования <i>in vivo</i>		Результаты
				Объект	Методы	Объект	Методы	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Basigi, 2019 [31]	Восстановление хрящевой ткани	Гидрогель на основе ДВС и фибрина шелка	ВС смешивали с деионизированной водой 16 ч, центрифугировали при 4 °С, надосадочную жидкость хранили при –80 °С	Клетки эндометрия человека	Жизнеспособность клеток	–	–	Продукт улучшал жизнеспособность изученных клеток
Gupta, 2021 [11]	Тканевая инженерия сосудов	Трубчатый двухслойный каркас, включающий фиброин и лиофилизированный ДВС	ВС 1–2 см в деионизированной воде 4 °С 16 ч, удаляли фрагменты крупнее 70 мкм, центрифугировали 5000 об./мин, 10 мин, 4 °С, лиофилизовали	Эндотелиоциты, макрофаги человека	Цитотоксичность продукта	Подкожная имплантация кролику (n = 6), имплантаты яремной вены кролика (n = 3)	Гистологические исследования, анализ экспрессии генов, доплеровская визуализация	Биосовместимый продукт вызывал рекрутирование клеток спустя месяц подложной имплантации с экспрессией прогеновоспалительных генов. Проходимость сосудов имплантатов через 3 месяца
Li, 2019 [24]	Трансплантация гемопоэтических клеток	Фрагменты толщиной 3 мм	Удаляли сосуды пуповины, строму пуповины децеллюляризовали растворами ПАВ, криоконсервировали	Клетки CD34+	Прочная цитофлуориметрия, анализ экспрессии генов	–	–	Присутствие продукта способствует мегакариоцитарной дифференцировке и поддерживает примитивные фенотипы гемопоэтических клеток
Kehtari, 2018 [19]	Тканевая инженерия печени	Пористый матрикс	Пуповина в трис-буфере/ЭДТА при 4 °С 16 ч, децеллюляризовали 0,03% SDS 24 ч при встряхивании, промывали, помещали в гипертонический раствор при 37 °С 3 ч, промывали, шшивали уксусной кислотой, лиофилизовали	Плурипотентные стволовые клетки человека	Жизнеспособность, дифференцировка в гепатоциты	–	–	Способность бесклеточного продукта поддерживать дифференциацию в гепатоциты

Продолжение табл.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Azarbagz, 2022 [32]	Дифференцировка МСК в ИПК	Лиофилизованный ДВС, конъюгированный с желатином	Пуповину инкубировали в NaCl (1 М) 1 неделю, децеллюляризировали 0,25% трипсин/ЭДТА 24 ч, 1% Triton X-100 5 суток. 24 ч, промывали PBS, лиофилизовали. ДВС конъюгировали с желатином в течение 1 ч 37 °С	МСК ВС	МСК ВС дифференцировали в ИПК. ИПК окрасивали дитизоном. Исследовали секрецию С-пептида и экспрессию генов, связанных с инсулином	–	–	Секреция клетками инсулина выше, чем в контроле. Присутствие продукта ассоциировано с увеличением дитизон-позитивных клеток и усилением экспрессии генов PDX-1, GLUT-2 и INS в ИСК
Xiao, 2017 [33]	Тканевая инженерия хряща	Цилиндры диаметром 8 мм, толщиной 2 мм	Гомогенизированный ВС замораживали в воде (4–5 раз), центрифугировали при 3000 об./мин. 30 мин, 5000 об./мин 30 мин, 7000 об./мин 30 мин, отбирали надосадочную жидкость, центрифугировали 10 000 об./мин 30 мин, осадок лиофилизовали	Хондроциты кролика	Жизнеспособность клеток, анализ экспрессии генов, продукция гликозаминогликанов и коллагена	–	–	Биосовместимый, биоактивный бесклеточный продукт способствовал активности хондроцитов <i>in vitro</i>
Foltz, 2022 [34]	Регенерация хрящевой ткани трахеи	ДВС	Удаляли амниотическую оболочку, промывали PBS, децеллюляризировали 0,01% SDS и дезоксихололом натрия, центрифугировали при 100 об./мин, промывали PBS 37 °С 24 ч, хранили при 4 °С	–	–	Дефект трахеи кролика размером 10 × 20 мм, (n = 10)	Гистологические исследования, определение относительного содержания коллагенов I и III типов, агрекана	Реакций отторжения продукта обнаружено не было. Индукция выработки коллагена и рекрутирования хондроцитов не было обнаружено. На 30-е сутки не наблюдали значимых различий в содержании коллагенов I и III типов и агрекана
Penolazzi, 2020 [25]	Восстановление межпозвонковых дисков	ДВС	Пуповину помещали в деионизированную воду 4 °С 24 ч, децеллюляризировали 4% дезоксихололом натрия 4 ч, обрабатывали ДНКазой 3 ч (трижды)	МСК, клетки дегенерированного межпозвонкового диска человека	Жизнеспособность и пролиферация клеток, анализ экспрессии генов	–	–	Поддержка жизнеспособности клеток дегенерированного межпозвонкового диска и экспрессии критических регуляторов гомеостаза

Продолжение табл.

1	Jadavannagari, 2017 [26]	Тканевая инженерия	2	ДВС	3	4	5	6	7	8	9
	Yuan, 2022 [35]	Восстановление сухожилий	2	Лиофилизованный ДВС, 20 × 10 × 2 мм	3	4	5	6	7	8	9
	Mann, 2020 [36]	Восстановление после коррекции расщепления позвоночника	2	Пластырь из ДВС	3	4	5	6	7	8	9
	Lu, 2023 [21]	Заживление ран	2	ДВС, фрагмент 3 × 5–8 см	3	4	5	6	7	8	9
	Dubus, 2022 [16, 17]	Регенеративная медицина	2	Лиофилизованный ДВС	3	4	5	6	7	8	9

Продолжение табл.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Converse, 2017 [37]	Тканевая инженерия	Фрагменты ДВС	Пуповину помещали в гипертонический раствор 1 ч, децеллюляризировали Triton X-100 1 ч, помещали в гипертонический раствор 1 ч, деионизированную воду 1 ч, обрабатывали ферментом 12–16 ч, обрабатывали N-лауроилсаркозином 2 ч, этанолом 10 мин, удаляли остатки детергентов, криоконсервировали	МСК костного мозга, гемопозитические и прогениторные клетки пуповины, линии клеток лейкоми человека HL-60, Kasumi 1, MV 411	Заселение фрагментов ДВС клетками	–	–	Рецеллюляризованный продукт
Косі, 2017 [20]	Восстановление нервной ткани	Гидрогель на основе ДВС	Обрабатывали 0,02% трипсином/0,05% ЭДТА, 0,1% надуксусной кислотой, 4% этанолом, лиофилизовали, солиобилизировали пепсином и нейтрализовывали	МСК костного мозга человека	Пролиферация и миграция клеток	Фокальная церебральная ишемия крыс (n = 4)	Гистологические исследования	Цитосовместимость <i>in vitro</i> , наблюдали активное заселение гидрогеля клетками реципиента <i>in vivo</i> (преобладающей клеточной популяцией были противовоспалительные макрофаги)
Ramzan, 2022 [18]	Тканевая инженерия хряща	Гидрогель на основе ДВС	Пуповину подвергали осмотическому шоку, обрабатывали 0,05% трипсином 2 ч при 37 °С, 1% Triton X-100 24 ч при перемешивании, промывали, лиофилизовали, измельчали, солиобилизировали пепсином 48 ч при перемешивании, нейтрализовали, подвергали гелеобразованию	МСК ВС	Пролиферация и жизнеспособность клеток, анализ экспрессии генов	–	–	На 7-е сутки гидрогель на основе ДВС обеспечивал каркасную поддержку для пролиферации клеток и их дифференцировки в хондрогенном направлении на 28-е сутки культивирования

Окончание табл.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Убуогу, 2019 [38]	Восстановление нерва	Гидрогель на основе ДВС, шитый с использованием генипина	Пуповину обрабатывали 0,02% трипсином/0,05% ЭДТА, 0,1% надуксусной кислотой, 4% этанолом, лиофилизовали, солибилизировали пепсином, нейтризовали, сшивали генипином	МСК ВС, фетальные нейрональные клетки человека	Жизнеспособность, пролиферация и дифференцировка клеток	Фотохимическое поражение коры	Гистологические исследования	Гидрогель на основе ДВС, шитый с использованием генипина, удерживался <i>in situ</i> до 2 недель без неблагоприятного тканевого ответа и воспаления
Каложная, 2019; Болгарчук 2020; Чеботарев 2020; Кондратенко 2021 [12, 39–44]	Регенеративная медицина	Лиофилизаты ДВС и гидрогеля из ДВС, влажная форма гидрогеля	Удаление сосудов, гомогенаты децеллоляризовали SDS, промывали, лиофилизовали, солибилизировали пепсином и получали жидкую форму. Лиофилизовали жидкую форму	Фибробласты человека, крыс, мышей, свиной, морской свиной	Жизнеспособность	Полнослойные раны кожи мышей и свиной, дефект хряща кролика	Гистологические исследования	Биосовместимые продукты способствуют формированию грануляционной ткани и эпителизации, заживлению гиалинового хряща

*Примечание.* SDS – додецилсульфат натрия; PBS – фосфатно-солевой буфер; HUVEC – эндотелиальные клетки пупочной вены; ВС – Вартонов студень; ДВС – децеллюляризованный Вартонов студень; ИПК – инсулин-продуцирующие клетки; МСК – мезенхимальные стромальные клетки; ПАВ – поверхностно-активные вещества; ЭТС – эмбриональная телячья сыворотка; ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота.

*Note.* SDS – sodium dodecyl sulfate; PBS – phosphate-buffered saline; HUVEC – human umbilical vein endothelial cells; BC – Wharton’s Jelly; DVC – decellularized Wharton’s jelly; ИПК – insulin-producing cells; МСК – mesenchymal stem cells; ПАВ – surface active agents; ЭТС – fetal bovine serum; ЭДТА – ethylenediaminetetraacetic acid.

Полученный биомиметик ВКМ улучшал организованный рост клеток и уменьшал острое воспаление [36]. В другом исследовании тканеинженерное покрытие, состоящее из МСК жировой ткани крысы и ДВС человека, ускоряло заживление раны хвоста крысы. Регистрировали уменьшение объема хвоста, улучшение ангиогенеза и лимфангиогенеза [21].

Некоторые исследователи подчеркивают применимость продуктов из пуповины человека для стимулирования регенерации разных тканей. M. Dubus et al. методом масс-спектрометрии в изготовленном лиофилизированном ДВС показали присутствие структурных и адгезивных белков, участвующих в процессе заживления ран, таких как коллаген, фибронектин, тенасцин, люмикан, периостин, кератин типа I и II, фибулин и бета-цепь фибриногена [16, 17]. В культуральной среде после инкубации в ней ДВС были выявлены высокие уровни факторов роста. Подобный эффект для нативной пуповины обнаружен не был. При этом высвобождение биоактивных молекул из бесклеточного продукта не приводило к активации фагоцитов и накопления ими активных форм кислорода. Стромальные клетки ВС и фибробласты человека, культивированные в присутствии ДВС, сохраняли высокую жизнеспособность. При подкожной имплантации крысам не было обнаружено воспалительной реакции и образования соединительно-тканной капсулы или реакции на «инородное тело» с присутствием многоядерных гигантских клеток. Имплантированный подкожно продукт, изготовленный из пуповины человека, полностью подвергался ремоделированию в течение трех недель. Макрофаги мыши после 72 ч контакта с ДВС продуцировали противовоспалительные медиаторы в значимо большем количестве по сравнению с контролем. Действие нативной пуповины человека на макрофаги мышей в аналогичных условиях приводило к доминирующей секреции ими провоспалительных медиаторов [16, 17]. В этих же работах установлена антибактериальная активность ДВС, проявляющаяся наличием зоны ингибирования роста микроорганизмов и снижением адгезии бактерий. A G. Converse et al. подробно описали процедуры изготовления ТИК из ДВС в виде пластин с последующей их рецеллюляризацией [37].

В 4 публикациях описано изготовление и свойства солиобилизованных форм ДВС. Z. Kosi et al. для приготовления гидрогеля бесклеточный порошокобразный ВС солиобилизовали соляно-кислым пепсином. Полученная форма продукта содержала большее количество сульфатированных ГАГ по сравнению с продуктом, приготовленным по аналогичной технологии из мочевого пузыря, спинного и головного мозга свиньи. Продукты из ДВС демонстрировали

короткое время гелеобразования, что свидетельствует о быстрой самосборке структурных молекул. Они поддерживали клеточный рост, пролиферацию и миграцию клеток *in vitro*. А спустя 24 часа после введения инъекционной формы ДВС в очаговое ишемическое поражение в двигательной зоне коры головного мозга крысы в пределах участка поражения формировалась компактная гелевая структура, заселенная плотным слоем эндогенных клеток. Макрофаги были преобладающим типом клеток, присутствующим внутри дефекта, при этом фенотип макрофагов M2 (CD 206) составил  $77,1 \pm 6,5\%$  от всех макрофагов, содержащихся в геле [20].

F. Ramzan et al. получали гидрогелевую форму ферментативным перевариванием с использованием пепсина в соляной кислоте с последующим гелеобразованием. Полученный таким образом гель из ДВС функционировал как трехмерный матрикс, который обеспечивал необходимое микроокружение для адгезии, миграции, пролиферации и дифференцировки МСК в хондрогенную линию *in vitro* [18].

K. Vyborny et al. для восстановления поражения коры головного мозга крысы использовали солиобилизованную форму гидрогеля из химически сшитого ДВС. В экспериментах *in vitro* было показано отсутствие цитотоксических свойств полученного продукта, а в эксперименте *in vivo* было показано гелеобразование *in situ* без неблагоприятных воспалительных реакций [38].

Группой исследователей из ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» под руководством И.К. Калюжной были запатентованы изделия/продукты из ДВС в лиофилизированной и солиобилизованной гидрогелевой (которая может быть лиофилизована) формах (рис. 2). Процедура децеллюляризации при этом может быть проведена с использованием додецилсульфата натрия или 0,1 N гидроксидом натрия [12, 39–44]. Биосовместимые продукты показали биоактивность относительно заживления дефектов суставного хряща и кожи [41–44].

Таким образом, в проанализированных публикациях показана возможность использования биосовместимых и биоактивных продуктов на основе ДВС в различных областях регенеративной медицины и клеточных технологий: источник биоактивных молекул при культивировании клеток человека, клеточная иммунотерапия, заживление ран, трансплантация гемопоэтических клеток, дифференцировка МСК в ИПК, восстановление хрящевой ткани, межпозвоночных дисков, сухожилий и нервной ткани, тканевая инженерия сосудов, печени и хряща, а также восстановление после коррекции расщепления позвоночника.

## ПЕРСПЕКТИВЫ И ВОЗМОЖНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННОЙ СТРОМЫ ПУПОВИНЫ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Поиск биоматериалов для тканевой инженерии и регенеративной медицины сосредоточен в основном на разработке биомиметиков, способных индуцировать специфические клеточные реакции и формирование тканевых эквивалентов. Для оптимального воссоздания естественной клеточной ниши идеальный биомиметик должен быть биосовместимым, т. е. он должен легко интегрироваться в окружающую ткань и образовывать с ней единое целое, при этом продукты его деградации также должны иметь высокую биосовместимость. Биомиметик должен поддерживать клеточную адгезию, пролиферацию, дифференцировку и секрецию собственного ВКМ. Скорость деградации матрикса должна соответствовать скорости регенерации ткани реципиента. Для интеграции в организм биоматериал должен обладать способностью к неоваскуляризации и иннервации [46]. В некоторых случаях биоматериал должен выдерживать механическую нагрузку, характерную для области его имплантации, т. е. необходима специфическая механическая прочность и пластичность [47]. Кроме того, стерилизация и хранение не должны изменять свойства матриксов, а применение биоматериала должно быть максимально удобным. Наиболее точным воспроизведением клеточной ниши за счет сохранения специфического состава и морфологии обладают децеллюляризованные ткани. Благодаря этому децеллюляризацию рассматривают как один из наиболее перспективных методов создания миметиков ВКМ [1].

Неиммуногенность децеллюляризованного продукта, как один из основных параметров биосовмес-

тимости, обусловлена главным образом отсутствием генетического материала исходной ткани [48]. Применение различных методов и протоколов децеллюляризации обеспечивает надежное очищение от генетического материала донора, но в то же время может приводить к потере биоактивных компонентов и изменению структуры белков ВКМ. Эффективное удаление клеток при сохранности микроструктуры и состава ВКМ обеспечивает способность готового бесклеточного продукта стимулировать регенерацию, а также поддерживать активность клеток [48]. Заметим, что в изученных публикациях нет сравнения эффективности различных протоколов децеллюляризации стромы пуповины. Так, например, оптимизация протокола децеллюляризации позволила повысить функциональные свойства бесклеточных кровеносных сосудов и суставного хряща и печени [49–51].

Аллогенный биоматериал для изготовления из него бесклеточных продуктов часто ограниченно доступен и не является оптимальным по нескольким причинам. Состав, структура тканей взрослого донора подвергаются влияниям внешних и внутренних факторов в течение жизни донора. Пороки развития, перенесенные болезни, возрастные изменения, последствия стрессов, приема лекарств, влияния вредных условий труда или среды обитания существенно изменяют компоненты и архитектуру соединительной ткани. Потеря компонентов ВКМ вместе с увеличением поперечных шивок коллагена приводит к ухудшению биомеханических свойств тканей. Уровни фибронектина изменяются с возрастом, ухудшая связывание клеток через интегриновые рецепторы с ВКМ [52]. Возрастные изменения донорских тканей неизбежно ухудшают свойства изготовленных из них бесклеточных миметиков и снижают их регенеративный потенциал.

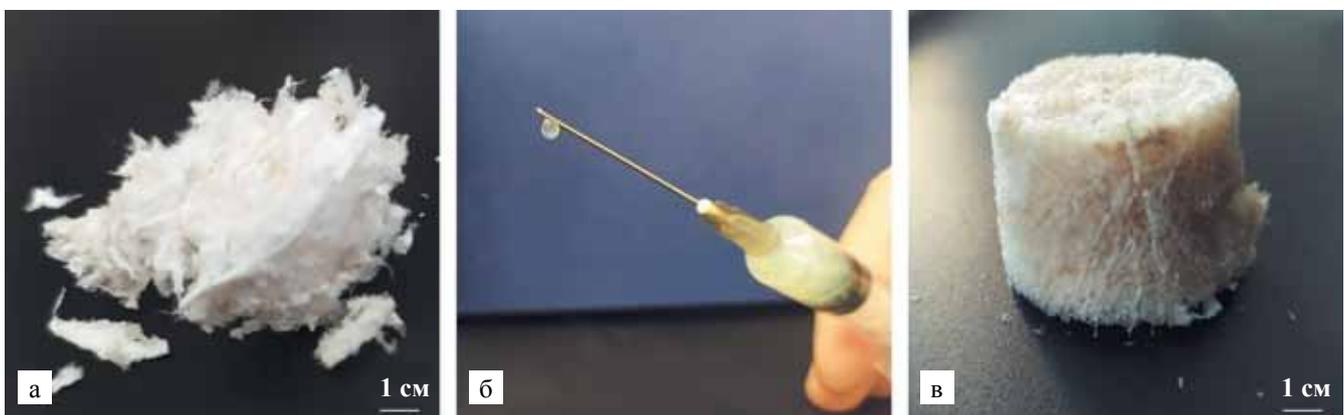


Рис. 2. Внешний вид различных форм децеллюляризованного Вартонова студня (ДВС) человека: а – лиофилизат ДВС [42]; б – солюбилизированная форма ДВС; в – лиофилизат солюбилизированной формы ДВС [45]

Fig. 2. View of various forms of decellularized human Wharton's jelly (DWJ): а – lyophilized DWJ [42]; б – solubilized form of DWJ; в – lyophilized solubilized form of DWJ [45]

С возрастом неизбежно ухудшаются свойства ВКМ, что побудило многих исследователей пренебречь рисками применения для тканевой инженерии ксеногенных биологических материалов. В мире ведутся исследования по созданию бесклеточных продуктов из органов и тканей животного происхождения при условии разработки протоколов, обеспечивающих полное удаление клеток, включая генетический материал [49–51, 53].

Для нужд тканевой инженерии и регенеративной медицины на сегодняшний день существуют предложения коммерческих продуктов на основе децеллюляризованного ВКМ аллогенного и ксеногенного происхождения [54, 55]. Тем не менее биоматериал человека для создания таких продуктов предпочтительнее доступных ксеногенных материалов из-за наличия потенциальной опасности возникновения нежелательных иммунных реакций при их имплантации реципиенту. Углеводный остаток  $\alpha$ -1,3-галактозы (эпитоп  $\alpha$ -Gal), называемый еще главным ксеноантигеном, является составной частью мембранных гликопротеинов и гликолипидов клеток многих млекопитающих, кроме человека и некоторых видов обезьян. В крови человека содержится высокий титр анти- $\alpha$ -Gal антител. Есть предположение, что стенка бактерий *Enterobacteriaceae* нормальной кишечной микрофлоры, содержащая галактозные остатки, стимулирует иммунную систему человека на выработку этих антител [56].

Избежать полностью реакции иммунной системы реципиента на имплантацию децеллюляризованной ткани невозможно. Однако вид возникающего иммунного ответа при ее имплантации определяет возможность благоприятного результата заживления [57]. A. B. M. Sikari et al. и L. Huleichel et al. показали связь между продуктами деградации биоматериалов и фенотипом тканевых макрофагов, экспрессией ими противовоспалительных генов и производством белков [58, 59].

Технологии сшивания коллагена способствуют устойчивости продукта к ферментативному расщеплению, но снижают влагопоглощающие свойства материала [60]. К тому же химические сшивающие агенты изменяют ультраструктуру, состав и топологию поверхности продукта [60]. Однако в случае необходимости длительного функционирования искусственного матрикса в организме использование сшивающих агентов представляется необходимым. Это указывает на возможность их применения для децеллюляризованной стромы пуповины, учитывая выявленную в исследовании [16, 17] быструю деградацию (около 3 недель).

Интерес к использованию экстраэмбриональных тканей (включая плаценту, амниотическую оболочку и пуповину) в качестве сырья для применения в регенеративной медицине объясняется их уникальным

составом и свойствами [61]. Состав эмбриональных и неонатальных тканей заметно отличается от тканей взрослых особей, имеет больший регенеративный потенциал, поскольку играет важную роль в морфогенезе тканей [62]. В отличие от ран взрослых покровные раны плода у человека и других млекопитающих спонтанно заживают за счет регенерации без сопутствующего рубцевания, при условии что травма была нанесена в период до третьего триместра беременности, после чего происходит переход к постнатальному типу заживления ран с образованием нежного эластичного рубца [63]. Уникальная особенность тканей фетального фенотипа к ранозаживлению без рубцевания может быть ассоциирована с более высоким содержанием в них противифибротической изоформы TGF- $\beta$ 3 относительно изоформ TGF- $\beta$ 1 и TGF- $\beta$ 2, присущих постнатальным тканям [62].

В то время как клиническое применение плодных оболочек хорошо описано, использование ткани пуповины является относительно новым. Пуповина человека широко используется для получения МСК и эндотелиальных клеток, а также может служить источником гиалуроновой кислоты. В то же время ВС состоит в основном из коллагена (более 500 мг/г ткани), протеогликанов и ГАГ, таких как гиалуроновая кислота и гепарансульфат, иммобилизованных и встроенных в коллагеновую сеть. Пропорциональное соотношение коллагенов в составе ВС составляет: I тип – 47%, III – 40%, V – 12%. До 70% содержания ГАГ в пуповине составляет гиалуроновая кислота (приблизительно 4 мг/мл), что придает ткани особую гидрофильность [61, 64, 65]. Уникальные структурные характеристики и присутствие факторов роста делают пуповину привлекательным источником биоматериала для нужд регенеративной медицины и тканевой инженерии.

Отметим, что среди найденных публикаций, к удивлению авторов, не было ни одного исследования с использованием ксеногенной пуповины. Учитывая свойство низкой иммуногенности провизорных органов и допустимые трудности в обеспечении постоянного поступления биоматериала при трансфере технологии в производство, использование данного вида биоматериала может быть оправдано.

Как показал анализ публикаций, децеллюляризованная строма пуповины человека может быть успешно применена для стимулирования регенеративных процессов разных органов и тканей. Бесклеточная строма пуповины может быть применена как самостоятельный продукт, также она может быть использована для улучшения биологических свойств других материалов. Для простоты транспортировки и хранения децеллюляризованную строму пуповины подвергают лиофилизации. Из ВКМ ВС могут быть изготовлены различные формы продуктов, включая пористые матриксы, гидрогелевые композиции,

трубчатые каркасы и т. д. Возможно дополнение композиции амниотическим материалом или ВКМ минерализованной или деминерализованной кости. Могут быть созданы комбинации биоматериала пуповины с фармацевтическими носителями. В некоторых случаях инъекционные формы гидрогелей ВКМ ВС, обладающие способностью к *in situ* полимеризации, считаются более целесообразными, так как эти материалы могут легко подстраиваться под рельеф поверхности и объем поврежденного участка, а осмотические силы способствуют растяжению полимерной сетки гидрогеля при его набухании. Для этого децеллюляризованную строму пуповины ферментативно солубилизируют.

В целом работы в области получения биоматериала из децеллюляризованной пуповины начались сравнительно недавно: первая публикации в англоязычной литературе появилась в 2016 году. В России исследования, посвященные описываемой теме, проводятся лишь одной группой ученых ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург [12, 39–44, 66]. Вероятно, это служит причиной отсутствия клинических работ, отвечающих критериям включения в обзор. При этом в 2022 году в Иране инициированы 2 клинических исследования, посвященных лечению морщин с использованием пуповины [67, 68]. Однако информации о том, является ли применяемая в этих исследованиях пуповина децеллюляризованной, нет.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате анализа работ, опубликованных в электронных базах данных, можно заключить, что научные исследования возможностей применения ДВС являются весьма перспективным направлением регенеративной медицины и тканевой инженерии. Исследователи применяют разные методы удаления клеток и создания удобных форм для применения бесклеточных продуктов из стромы пуповины. Однако для окончательного определения прогноза использования технологии в медицине необходимо получение более убедительных доказательств, а именно дополнительных исследований, клинических и доклинических.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-15-00251, <https://rscf.ru/project/21-15-00251/>.*

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

*The authors declare no conflict of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Севастьянов ВИ. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2014; 16 (3): 93–108. *Sevast'yanov VI. Tekhnologii tkanevoy inzhenerii i regenerativnoy meditsiny. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2014; 16 (3): 93–108. doi: 10.15825/1995-1191-2014-3-93-108.

2. Мелешина АВ, Быстрова АС, Роговая ОС, Воротеляк ЕА, Васильев АВ, Загайнова ЕВ. Тканеинженерные конструкты кожи и использование стволовых клеток для создания кожных эквивалентов. *Современные технологии в медицине*. 2017; 9 (1): 198–220. *Meleshina AV, Bystrova AS, Rogovaya OS, Vorotelyak YeA, Vasil'yev AV, Zagaynova YeV. Tkaneinzhenernyye konstrukty kozhi i ispol'zovaniye stvolovykh kletok dlya sozdaniya kozhnykh ekvivalentov. Sovremennyye tekhnologii v meditsine*. 2017; 9 (1): 198–220. doi: 10.17691/stm2017.9.1.24.
3. Фоминых ЕМ, Митрофанов НВ, Живцов ОП, Стручков АА, Зубрицкий ВФ, Лебедева ЮН и др. Трансплантация тканевых эквивалентов в лечении некоторых повреждений кожи. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (1): 165–173. *Fominykh YeM, Mitrofanov NV, Zhivtsov OP, Struchkov AA, Zubritskiy VF, Lebedeva YuN i dr. Transplantatsiya tkanevykh ekvivalentov v lechenii nekotorykh povrezhdeniy kozhi. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2020; 22 (1): 165–173. doi: 10.15825/1995-2020-1-165-173.
4. Севастьянов ВИ, Григорьев АМ, Басок ЮБ, Кирсанова ЛА, Василец НВ, Малкова АП и др. Биосовместимые и матриксные свойства полилактидных губок. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (2): 82–90. *Sevast'yanov VI, Grigor'yev AM, Basok YuB, Kirsanova LA, Vasilets NV, Malkova AP i dr. Biosovmestimyye i matriksnyye svoystva polilaktidnykh gubok. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2018; 20 (2): 82–90. doi: 10.15825/1995-1191-2018-2-82-90.
5. Liu H, Gong Y, Zhang K, Ke S, Wang Y, Wang J, Wang H. Recent Advances in Decellularized Matrix-Derived Materials for Bioink and 3D Bioprinting. *Gels*. 2023; 9 (3): 195. doi: 10.3390/gels9030195.
6. Басок ЮБ, Севастьянов ВИ. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины в лечении дефектов хрящевой ткани суставов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (4): 102–122. *Basok YuB, Sevast'yanov VI. Tekhnologii tkanevoy inzhenerii i regenerativnoy meditsiny v lechenii defektov khryashchevoy tkani sustavov. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2016; 18 (4): 102–122. doi: 10.15825/1995-1191-2016-4-102-122.
7. Sevastianov VI, Basok YB, Grigor'ev AM, Kirsanova LA, Vasilets VN. Formation of tissue-engineered construct of human cartilage tissue in a flow-through bioreactor. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017; 164: 269–273. doi: 10.1007/s10517-017-3971-z.
8. Севастьянов ВИ, Басок ЮБ, Григорьев АМ, Кирсанова ЛА, Василец НВ. Перфузионный биореактор для создания тканеинженерных конструкций. *Меди-*

- цинская техника. 2017; 303 (3): 9–11. *Sevast'yanov VI, Basok YuB, Grigor'yev AM, Kirsanova LA, Vasilets NV*. Perfusionnyy bioreaktor dlya sozdaniya tkaneinzhenernykh konstruksiy. *Meditsinskaya tekhnika*. 2017; 303 (3): 9–11.
9. *Badylak SF*. Decellularized allogeneic and xenogeneic tissue as a bioscaffold for regenerative medicine: factors that influence the host response. *Annals of Biomedical Engineering*. 2014; 42 (7): 1517–1527. doi: 10.1007/s10439-013-0963-7. PMID: 24402648.
  10. *Bakhtyar N, Jeschke MG, Mainville L, Herer E, Amini-Nik S*. Acellular gelatinous material of human umbilical cord enhances wound healing: a candidate remedy for deficient wound healing. *Frontiers in Physiology*. 2017; 8: 200. doi: 10.3389/fphys.2017.00200. PMID: 28421003.
  11. *Gupta P, Chaudhuri GR, Janani G, Agarwala M, Ghosh D, Nandi SK, Mandal BB*. Functionalized silk vascular grafts with decellularized human Wharton's jelly improves remodeling via immunomodulation in rabbit jugular vein. *Advanced Healthcare Materials*. 2021; 10 (19): e2100750. doi: 10.1002/adhm.202100750. PMID: 34378360.
  12. *Калюжная ЛИ, Чернов ВЕ, Фрумкина АС, Чеботарев СВ, Земляной ДА, Товпеко ДВ, Косулин АВ*. Изготовление тканеинженерного бесклеточного матрикса пуповины человека. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2020; 69 (1): 124–130. *Kalyuzhnaya LI, Chernov VE, Frumkina AS, Chebotarev SV, Zemlyanoy DA, Tovpeko DV, Kosulin AV*. Izgotovleniye tkaneinzhenernogo besketochnogo matriksa pupoviny cheloveka. *Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii*. 2020; 69 (1): 124–130. doi: 10.17816/brmma25980.
  13. *Sobolewski K, Malkowski A, Bańkowski E, Jaworski S*. Wharton's jelly as a reservoir of peptide growth factors. *Placenta*. 2005; 26 (10): 747–752. doi: 10.1016/j.placenta.2004.10.008. PMID: 16226124.
  14. *Gupta A, El-Amin SF, Levy HJ, Sze-Tu R, Ibim SE, Maffulli N*. Umbilical cord-derived Wharton's jelly for regenerative medicine applications. *Journal of Orthopaedic Surgery*. 2020; 15. doi: 10.1186/s13018-020-1553-7. PMID: 32054483.
  15. *Fayon A, Helle D, Francius G*. Characterization of an innovative biomaterial derived from human Wharton's jelly as a new promising coating for tissue engineering applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022; 10: 884069. doi: 10.3389/fbioe.2022.884069. PMID: 35769101.
  16. *Dubus M, Scomazzon L, Chevrier J, Ledouble C, Baldit A, Braux J et al*. Antibacterial and immunomodulatory properties of acellular Wharton's jelly matrix. *Biomedicine*. 2022; 10 (2): 227. doi: 10.3390/biomedicine10020227. PMID: 35203437.
  17. *Dubus M, Scomazzon L, Chevrier J, Montanede A, Baldit A, Terryn C et al*. Decellularization of Wharton's jelly increases its bioactivity and antibacterial properties. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022; 10: 828424. doi: 10.3389/fbioe.2022.828424. PMID: 35360386.
  18. *Ramzan F, Ekram S, Frazier T, Salim A, Mohiuddin OA, Khan I*. Decellularized human umbilical tissue derived hydrogels promote proliferation and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Bioengineering*. 2022; 9: 239. doi: 10.3390/bioengineering9060239.
  19. *Kehtari M, Beiki B, Zeynali B*. Decellularized Wharton's jelly extracellular matrix as a promising scaffold for promoting hepatic differentiation of human induced pluripotent stem cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2019; 120 (4): 6683–6697. doi: 10.1002/jcb.27965. PMID: 30417406.
  20. *Kočí Z, Výborný K, Dubišová J*. Extracellular matrix hydrogel derived from human umbilical cord as a scaffold for neural tissue repair and its comparison with extracellular matrix from porcine tissues. *Tissue Engineering Part C Methods*. 2017; 23 (6): 333–345. doi: 10.1089/ten.TEC.2017.0089. PMID: 28471271.
  21. *Lu J-H, Hsia K, Su CK, Pan YH, Ma H, Chiou SH, Lin CH*. A novel dressing composed of adipose stem cells and decellularized Wharton's jelly facilitated wound healing and relieved lymphedema by enhancing angiogenesis and lymphangiogenesis in a rat model. *Journal of functional biomaterials*. 2023; 14 (2): 104. doi: 10.3390/jfb14020104. PMID: 36826903.
  22. *Beiki B, Zeynali B, Seyedjafari E*. Fabrication of a three dimensional spongy scaffold using human Wharton's jelly derived extra cellular matrix for wound healing. *Materials Science and Engineering C-Materials for Biological Applications*. 2017; 78: 627–638. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.074. PMID: 28576031.
  23. *Bullard JD, Lei J, Lim JJ, Massee M, Fallon AM, Koob TJ*. Evaluation of dehydrated human umbilical cord biological properties for wound care and soft tissue healing. *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials*. 2019; 107 (4): 1035–1046. doi: 10.1002/jbm.b.34196. PMID: 30199609.
  24. *Li D, Chiu G, Lipe B, Hopkins RA, Lillis J, Ashton JM et al*. Decellularized Wharton jelly matrix: a biomimetic scaffold for *ex vivo* hematopoietic stem cell culture. *Blood Advances*. 2019; 3 (7): 1011–1026. doi: 10.1182/bloodadvances.2018019315. PMID: 30940636.
  25. *Penolazzi L, Pozzobon M, Bergamin LS, D'Agostino S, Francescato R, Bonaccorsi G et al*. Extracellular matrix from decellularized Wharton's jelly improves the behavior of cells from degenerated intervertebral disc. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020; 8: 262. doi: 10.3389/fbioe.2020.00262. PMID: 32292779.
  26. *Jadalannagari S, Converse G, McFall C, Buse E, Filla M, Villar MT et al*. Decellularized Wharton's jelly from human umbilical cord as a novel 3d scaffolding material for tissue engineering applications. *PLoS One*. 2017; 12 (2): e0172098. doi: 10.1371/journal.pone.0172098. PMID: 28222169.
  27. *PLOS ONE Staff*. Correction: Decellularized Wharton's Jelly from human umbilical cord as a novel 3D scaffolding material for tissue engineering applications. *PLoS*

- One*. 2017 Mar 7; 12 (3): e0173827. doi: 10.1371/journal.pone.0173827. Erratum for: *PLoS One*. 2017 Feb 21; 12 (2): e0172098. PMID: 28267774.
28. Jalili Z, Emamgolizadeh B, Abbaszadeh H, Jalili S, Derakhshani M, Yousefi M et al. Effect of replacement of Wharton acellular jelly with fbs on the expression of megakaryocyte linear markers in hematopoietic stem cells CD34. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2022; 23 (10): 3281–3286. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.10.3281. PMID: 36308350.
  29. Talebi M, Nozad Charoudeh H, Movassaghpour Akbari AA, Baradaran B, Kazemi T. Acellular Wharton's jelly, potentials in t-cell subtypes differentiation, activation and proliferation. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2020; 10 (4): 617–622. doi: 10.34172/apb.2020.074. PMID: 33072540.
  30. Dan P, Velot É, Francius G, Menu P, Decot V. Human-derived extracellular matrix from Wharton's jelly: An untapped substrate to build up a standardized and homogeneous coating for vascular engineering. *Acta Biomaterialia*. 2017; 48: 227–237. doi: 10.1016/j.actbio.2016.10.018. PMID: 27769940.
  31. Basiri A, Farokhi M, Azami M, Ebrahimi-Barough S, Mohamadnia A, Rashtbar M et al. A silk fibroin/decellularized extract of Wharton's jelly hydrogel intended for cartilage tissue engineering. *Progress in Biomaterials*. 2019; 8 (1): 31–42. doi: 10.1007/s40204-019-0108-7. PMID: 30706299.
  32. Azarbarz N, Khorsandi L, Nejaddehbashi F, Neisi N, Nejad DB. Decellularized Wharton's jelly scaffold enhances differentiation of mesenchymal stem cells to insulin-secreting cells. *Tissue Cell*. 2022; 79: 101938. doi: 10.1016/j.tice.2022.101938. PMID: 36152380.
  33. Xiao T, Guo W, Chen M, Hao C, Gao S, Huang J et al. Fabrication and In Vitro study of tissue-engineered cartilage scaffold derived from Wharton's jelly extracellular matrix. *BioMed Research International*. 2017; 2017: 5839071. doi: 10.1155/2017/5839071. PMID: 29214173.
  34. Foltz KM, Neto AE, Francisco JC, Simeoni RB, Miglioraro AFRDS, do Nascimento TG et al. Decellularized Wharton jelly implants do not trigger collagen and cartilaginous tissue production in tracheal injury in rabbits. *Life (Basel)*. 2022; 12 (7): 942. doi: 10.3390/life12070942. PMID: 35888031.
  35. Yuan Z, Cao F, Gao C, Yang Z, Guo Q, Wang Y. Decellularized human umbilical cord Wharton jelly scaffold improves tendon regeneration in a rabbit rotator cuff tendon defect model. *The American Journal of Sports Medicine*. 2022; 50 (2): 371–383. doi: 10.1177/03635465211055722. PMID: 34739346.
  36. Mann LK, Won JH, Trenton NJ, Garnett J, Snowise S, Fletcher SA et al. Cryopreserved human umbilical cord versus acellular dermal matrix patches for in utero fetal spina bifida repair in a pregnant rat model. *Journal of neurosurgery. Spine*. 2019; 32 (2): 321–331. doi: 10.3171/2019.7.SPINE19468. PMID: 31675701.
  37. Converse GL, Li D, Buse EE, Hopkins RA, Aljittawi OS. Wharton's jelly matrix decellularization for tissue engineering applications. *Methods in Molecular Biology*. 2018; 1577: 25–33. doi: 10.1007/7651\_2017\_61. PMID: 28786033.
  38. Výborný K, Vallová J, Kočí Z, Kekulová K, Jiráková K, Jendelová P et al. Genipin and EDC crosslinking of extracellular matrix hydrogel derived from human umbilical cord for neural tissue repair. *Scientific Reports*. 2019; 9 (1): 10674. doi: 10.1038/s41598-019-47059-x. PMID: 31337821.
  39. Болгарчук ОО, Калюжная ЛИ, Чернов ВЕ, Чеботарев СВ, Симанов АГ, Чернуцкий АМ. Оптимизация процедуры децеллюляризации соединительной ткани пуповины человека для создания тканеинженерного раневого покрытия. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020; 39 (S3-1): 13–18. Bolgarchuk OO, Kalyuzhnaya LI, Chernov VE, Chebotarev SV, Simanov AG, Chernutskiy AM. Optimizatsiya protsedury detsellyulyarizatsii soyedinitel'noy tkani pupoviny cheloveka dlya sozdaniya tkaneinzhenernogo ranevogo pokrytiya. *Izvestiya Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii*. 2020; 39 (S3-1): 13–18.
  40. Кондратенко АА, Калюжная ЛИ, Соколова МО, Чернов ВЕ. Сохранность важнейших структурных компонентов пуповины человека после децеллюляризации как этапа изготовления высокорегенеративного раневого покрытия. *Биотехнология*. 2021; 37 (5): 61–65. Kondratenko AA, Kalyuzhnaya LI, Sokolova MO, Chernov VE. Sokhrannost' vazhneyshikh strukturnykh komponentov pupoviny cheloveka posle detsellyulyarizatsii kak etapa izgotovleniya vysokoregenerativnogo ranevogo pokrytiya. *Biotehnologiya*. 2021; 37 (5): 61–65. doi: 10.21519/0234-2758-2021-37-5-61-65.
  41. Чеботарев СВ, Калюжная ЛИ, Хоминец ВВ, Чернов ВЕ, Фрумкина АС, Земляной ДА и др. Регенеративные эффекты гидрогеля из биоматериала пуповины человека в восстановлении повреждений суставного хряща. *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского*. 2020; 8 (4): 119–125. Chebotarev SV, Kalyuzhnaya LI, Khomnits VV, Chernov VE, Frumkina AS, Zemlyanoy DA i dr. Regenerativnyye efekty gidrogelya iz biomateriala pupoviny cheloveka v vosstanovlenii povrezhdeniy sustavnogo khryashcha. *Klinicheskaya i eksperimental'naya khirurgiya. Zhurnal imeni akademika B.V. Petrovskogo*. 2020; 8 (4): 119–125. doi: 10.33029/2308-1198-2020-8-4-119-125.
  42. Кондратенко АА, Товпеко ДВ, Калюжная ЛИ. Биологические эффекты бесклеточного тканеинженерного продукта из пуповины человека. *Патогенез*. 2022; 20 (4): 53–62. Kondratenko AA, Tovpeko DV, Kalyuzhnaya LI. Biologicheskiye efekty beskletochnogo tkaneinzhenernogo produkta iz pupoviny cheloveka. *Patogenez*. 2022; 20 (4): 53–62. doi: 10.25557/2310-0435.2022.04.53-62.
  43. Калюжная ЛИ, Чеботарев СВ. Гидрогель из пуповины человека в лечении дефектов суставного

- хряща в эксперименте. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2020; 39 (S3-1): 37–40. Kalyuzhnaya LI, Chebotarev SV. Hidrogel' iz pupoviny cheloveka v lechenii defektov sustavnogo khryashcha v eksperimente. *Izvestiya Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii*. 2020; 39 (S3-1): 37–40.
44. Калюжная ЛИ, Хоминец ВВ, Чеботарев СВ, Харкевич ОН, Кудяшев АЛ, Чернов ВЕ и др. Применение биоматериала из пуповины человека для восстановления поврежденных суставного хряща. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2019; 4 (73): 45–52. Kalyuzhnaya LI, Khominets VV, Chebotarov SV, Kharkevich ON, Kudyashev AL, Chernov VE i dr. Primeneniye biomateriala iz pupoviny cheloveka dlya vosstanovleniya povrezhdeniy sustavnogo khryashcha. *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina*. 2019; 4 (73): 45–52.
  45. Кондратенко АА, Калюжная-Земляная ЛИ, Товпеко ДВ, Шевелева ВС, Глушаков РИ. Биологические и функциональные свойства лиофилизированных форм тканеинженерных матриц из пуповины человека. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (1): 113–122. Kondratenko AA, Kalyuzhnaya-Zemlyanaya LI, Tovpeko DV, Sheveleva VS, Glushakov RI. Biologicheskiye i funktsional'nyye svoystva liofilizirovannykh form tkaneinzhenernykh matriksov iz pupoviny cheloveka. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2023; 25 (1): 113–122. doi: 10.15825/1995-1191-2023-1-113-122.
  46. Shin H, Jo S, Mikos AG. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials*. 2003; 24 (24): 4353–4364. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00339-9. PMID: 12922148.
  47. Немец ЕА, Лажко АЭ, Григорьев АМ, Басок ЮБ, Кириллова АД, Севастьянов ВИ. Биосовместимые и функциональные свойства тканеспецифической мелкодисперсной 3D-матрицы из децеллюляризованного хряща свиньи. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (4): 73–84. Nemets YeA, Lazhko AE, Grigor'yev AM, Basok YuB, Kirillova AD, Sevast'yanov VI. Biosovmestimyye i funktsional'nyye svoystva tkanespetsificheskoy melkodispersnoy 3D-matritsy iz detsellyulyarizovannogo khryashcha svin'i. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2022; 24 (4): 73–84. doi: 10.15825/1995-1191-2022-4-73-84.
  48. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011; 32 (12): 3233–3243. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057. PMID: 21296410.
  49. Simsa R, Padma AM, Heher P, Hellström M, Teuschl A, Jenndahl L et al. Systematic *in vitro* comparison of decellularization protocols for blood vessels. *PLoS One*. 2018; 13 (12): e0209269. doi: 10.1371/journal.pone.0209269. PMID: 30557395.
  50. Sevastianov VI, Basok YuB, Grigoriev AM, Nemets EA, Kirillova AD, Kirsanova LA et al. Decellularization of cartilage microparticles: Effects of temperature, supercritical carbon dioxide and ultrasound on biochemical, mechanical, and biological properties. *Journal of Biomedical Materials Research A*. 2023; 111 (4): 543–555. doi: 10.1002/jbm.a.37474. PMID: 36478378.
  51. Kirillova AD, Basok YuB, Lazhko AE, Grigoryev AM, Kirsanova LA, Nemets EA, Sevastianov VI. Creating a tissue-specific microdispersed matrix from a decellularized porcine liver. *Inorganic Materials: Applied Research*. 2021; 12 (3): 812–819. doi: 10.1134/S2075113321030199.
  52. Целуйко СС, Малюк ЕА, Корнеева ЛС, Красавина НП. Морфофункциональная характеристика дермы кожи и ее изменения при старении (обзор литературы). *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; 60. Tseluyko SS, Malyuk YeA, Korneyeva LS, Krasavina NP. Morfofunktsional'naya kharakteristika dermy kozhi i yeye izmeneniya pri starenii (obzor literatury). *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2016; 60. doi: 10.12737/20130.
  53. Басок ЮБ, Кириллова АД, Григорьев АМ, Курсанова ЛА, Немец ЕА, Севастьянов ВИ. Получение микродисперсного тканеспецифического децеллюляризованного матрикса из суставного хряща свиньи. *Перспективные материалы*. 2020; 5: 51–60. Basok YuB, Kirillova AD, Grigoriev AM, Kirsanova LA, Nemets EA, Sevastianov VI. Fabrication of microdispersed tissue-specific decellularized matrix from porcine articular cartilage. *Perspektivnye materialy*. 2020; 5: 51–60. doi: 10.30791/1028-978x-2020-5-51-60.
  54. Потеев НН, Фриго НВ, Петерсен ЕВ. Искусственная кожа: виды, области применения. *Клиническая дерматология и венерология*. 2017; 6: 7–15. Potekayev NN, Frigo NV, Petersen YeV. Iskusstvennaya kozha: vidy, oblasti primeneniya. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*. 2017; 6: 7–15. doi: 10.17116/klinderma20171667-15.
  55. Cramer MC, Badylak SF. Extracellular Matrix-Based Biomaterials and Their Influence Upon Cell Behavior. *Annals of Biomedical Engineering*. 2020; 48 (7): 2132–2153. doi: 10.1007/s10439-019-02408-9. PMID: 31741227.
  56. Galili U. Acceleration of wound healing by  $\alpha$ -gal nanoparticles interacting with the natural anti-Gal antibody. *Journal of Immunology Research*. 2015; 2015: 589648. doi: 10.1155/2015/589648. PMID: 25922849.
  57. Dziki JL, Huleihel L, Scarritt ME, Badylak SF. Extracellular matrix bioscaffolds as immunomodulatory biomaterials. *Tissue Engineering Part A*. 2017; 23 (19–20): 1152–1159. doi: 10.1089/ten.TEA.2016.0538. PMID: 28457179.
  58. Sicari BM, Johnson SA, Siu BF, Crapo PM, Daly KA, Jiang H et al. The effect of source animal age upon the *in vivo* remodeling characteristics of an extracellular matrix scaffold. *Biomaterials*. 2012; 33 (22): 5524–5533. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.04.017. PMID: 22575834.
  59. Huleihel L, Hussey GS, Naranjo JD, Zhang L, Dziki JL, Turner NJ et al. Matrix-bound nanovesicles within ECM bioscaffolds. *Science Advances*. 2016; 2 (6): e1600502. doi: 10.1126/sciadv.1600502. PMID: 27386584.

60. Delgado LM, Bayon Y, Pandit A, Zeugolis DI. To cross-link or not to cross-link? Cross-linking associated foreign body response of collagen-based devices. *Tissue Engineering Part B Reviews*. 2015; 21 (3): 298–313. doi: 10.1089/ten.TEB.2014.0290. PMID: 25517923.
61. Roy A, Mantay M, Brannan C, Griffiths S. Placental Tissues as Biomaterials in Regenerative Medicine. *Bio-Med Research International*. 2022; 2022: 6751456. doi: 10.1155/2022/6751456. PMID: 35496035.
62. Lo DD, Zimmermann AS, Nauta A, Longaker MT, Lorenz HP. Scarless fetal skin wound healing update. *Birth Defects Research Part C Embryo Today Reviews*. 2012; 96 (3): 237–247. doi: 10.1002/bdrc.21018. PMID: 23109319.
63. Yannas IV. Similarities and differences between induced organ regeneration in adults and early foetal regeneration. *Journal of the Royal Society Interface*. 2005; 2 (5): 403–417. doi: 10.1098/rsif.2005.0062. PMID: 16849201.
64. Nanaev AK, Kohnen G, Milovanov AP, Domogatsky SP, Kaufmann P. Stromal differentiation and architecture of the human umbilical cord. *Placenta*. 1997; 18 (1): 53–64. doi: 10.1016/s0143-4004(97)90071-0. PMID: 9032810.
65. Franc S, Rousseau JC, Garrone R, van der Rest M, Moradi-Améli M. Microfibrillar composition of umbilical cord matrix: characterization of fibrillin, collagen VI and intact collagen V. *Placenta*. 1998; 19 (1): 95–104. doi: 10.1016/s0143-4004(98)90104-7. PMID: 9481791.
66. Калюжная ЛИ, Соколова МО, Чернов ВЕ, Земляной ДА, Чеботарев СВ, Чалисова НИ и др. Влияние бесклеточного матрикса пуповины человека на динамику роста и жизнеспособность культивируемых клеток человека и животных *ex vivo*. *Гены и клетки*. 2021; 3: 72–79. *Kalyuzhnaya LI, Sokolova MO, Chernov VE, Zemlyanoy DA, Chebotarev SV, Chaliso-va NI i dr. Vliyaniye beskletochnogo matriksa pupoviny cheloveka na dinamiku rosta i zhiznesposobnost' kul'tiviruyemykh kletok cheloveka i zhivotnykh ex vivo. Geny i kletki*. 2021; 3: 72–79. doi: 10.23868/202110010.
67. <https://trialssearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20210612051545N3> [Internet]. World Health Organization: International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP). [updated 2022 November 21; cited 2023 April 03]. Available from: <https://trialssearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20210612051545N3>.
68. <https://trialssearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20210612051545N2> [Internet]. World Health Organization: International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP). [updated 2022 November 21; cited 2023 April 03]. Available from: <https://trialssearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20210612051545N2>.

Статья поступила в редакцию 11.04.2023 г.  
The article was submitted to the journal on 11.04.2023