

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ ТРАНСПЛАНТАТОВ АРТЕРИЙ

БЫЗОВ Д. В., СЫНЧИКОВА О. П.,  
ПУШКОВА Е. Н., МИХАЙЛОВА И. П., САНДОМИРСКИЙ Б. П.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

E-mail: cryo@online.kharkov.ua

Существует постоянно растущая необходимость в сосудистых трансплантатах. Аутогенные и синтетические протезы не удовлетворяют потребностям современной сосудистой хирургии. Перспективным направлением является создание биоинженерных сосудистых графтов на основе девитализированных ксеноскаффолдов. В обзоре представлены основные направления создания биоинженерных сосудистых протезов, их преимущества и недостатки. Рассмотрена проблема разработки адекватного метода девитализации ксенососудов.

**Ключевые слова:** биоинженерия, сосудистые протезы, скаффолды, девитализация.

Заболевания артерий мелкого и среднего диаметра лидируют среди причин смертности и инвалидизации трудоспособного населения во всем мире [1]. По данным ВОЗ, продолжительность жизни на 50% определяется наличием заболеваний органов кровообращения. Так, в 2006 г. в мире от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) умерло более 17,5 млн. человек [2]. Большие человеческие и экономические потери заставляют обращать пристальное внимание на эту проблему не только медицинское сообщество, но и правительства всех развитых стран мира [3]. Украина занимает одно из ведущих мест в мире по количеству людей с сердечно-сосудистыми заболеваниями. В 2008 г. в Украине зарегистрировано 25,3 млн. пациентов с ССЗ. Начиная с 1995 г. в Украине отмечается прогрессирующий рост смертности от ССЗ, достигшей в 2008 г. одного из наивысших уровней в Европе — 63,6% (рис. 1), причем в структуре смертности первое место (66,8%) занимают заболевания коронарных артерий сердца (coronary artery diseases) [4], что в 3,6 раза превышает смертность от всех видов онкологических заболеваний (рис. 2) [5].

На кардиальные проявления атеросклероза приходится примерно половина всех атеросклеротических поражений, включающих также атеросклероз церебральных сосудов и периферический атеросклероз. Стенокардия, инфаркт миокарда (ИМ), синдром

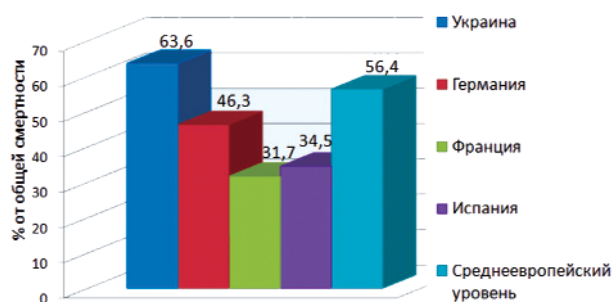


Рис. 1. Уровень смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в Европе за 2008 г. [6]

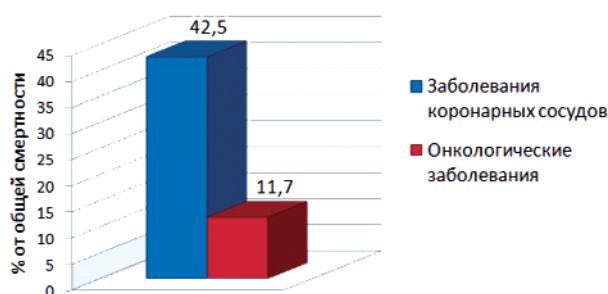


Рис. 2. Сравнение уровней смертности от ИБС и онкологических заболеваний в Украине за 2008 г. [5]

внезапной смерти — это лишь разные формы ишемической болезни сердца (ИБС). Ежегодно в Украине регистрируется около 50 000 случаев ИМ (в 2008 г. — 50 368). В свою очередь госпитальная летальность при ИМ в Украине превышает европейские показатели (12,9% по сравнению с 8–8,4%) [4, 7].

Радикальным методом лечения ИБС является хирургический. Лечение коронарных заболеваний сердца и атеросклеротического или травматического поражения периферических сосудов заключается в восстановлении кровотока в суженной артерии и, тем самым, улучшении кровоснабжения ишемизированного участка миокарда или других тканей. В настоящее время общепризнанной и самой эффективной методикой оперативного восстановления кровотока в суженной или закупоренной артерии является операция артериального шунтирования или протезирования с использованием сосудистых протезов. Суть ее заключается в создании обходного кровотока непроходимого участка артерии. В нашей стране эта операция была впервые проведена в 1970 г. (рис. 3, 4).

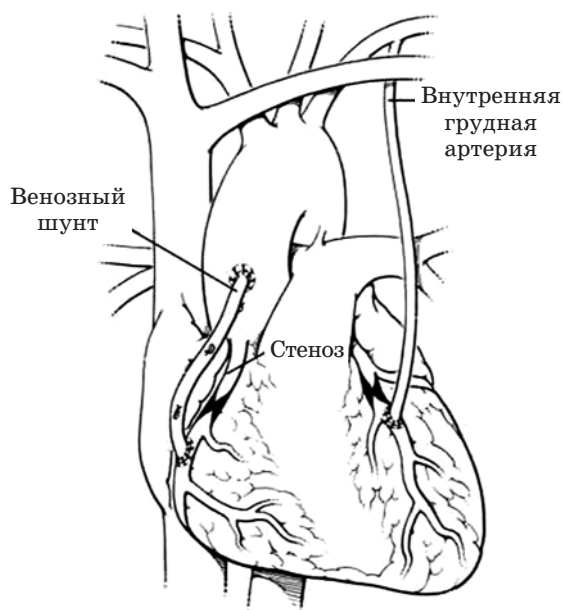


Рис. 3. Общая схема аортокоронарного шунтирования

Уровень минимальной потребности в операциях по коронарному шунтированию, по европейским данным, составляет 400–500 операций на 1 млн. населения в год. Количество шунтов может быть различным: от одного (чаще шунтируется передняя нисходящая ветвь левой коронарной артерии)

до пяти, шести и даже семи. Как правило, используются шунты длиной от 10 до 15 см. Таким образом, на одну операцию может потребоваться от 10–15 до 70–100 см сосудистых графтов (в зависимости от количества участков окклюзий коронарных артерий, что определяется во время предоперационной коронароангиографии).

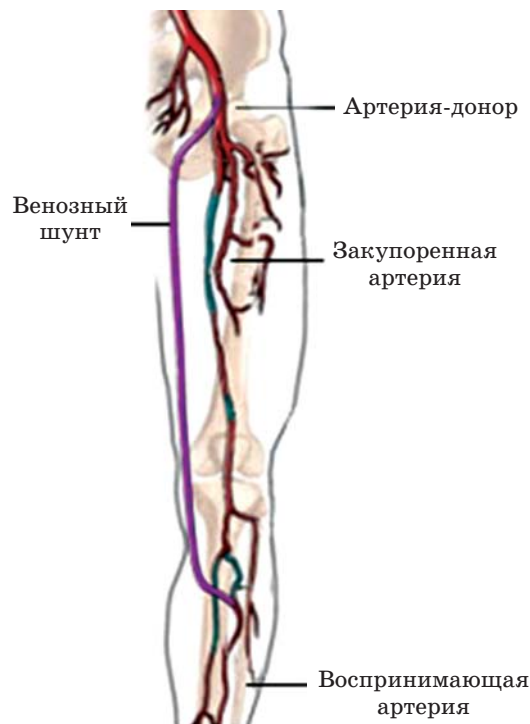


Рис. 4. Схема шунтирующей операции (бедренно-подколенное шунтирование)

Существует постоянно растущая необходимость в заменителях сосудов, поскольку количество случаев сердечно-сосудистых заболеваний постоянно увеличивается, а возраст больных неуклонно снижается.

Немаловажной проблемой является также необходимость обеспечения сосудистого доступа для проведения гемодиализа у больных с почечной недостаточностью. В настоящее время в мире жизнь более 1 млн. больных с хронической почечной недостаточностью продолжается благодаря заместительной терапии, и для 2/3 из них проводят хронический гемодиализ. В развитых странах число пациентов, находящихся на хроническом гемодиализе, составляет 600–1100 на 1 млн. населения, хотя сравнительно недавно считалось, что больных, нуждающихся в этом виде лечения, значительно меньше [8]. Приоритетное значение имеет качество сосудистого доступа для обеспечения адекватного и безопасного гемодиализа. Идеальным сосудистым доступом признается такой, кото-

рый обеспечивает адекватный кровоток для проведения диализа, функционирует длительно (многие годы) и не имеет осложнений. Стандартом считается наложение нативной артериовенозной фистулы или, при отсутствии адекватных поверхностных вен либо истощении их потенциала, формирование периферического артериовенозного шунта с использованием сосудистых трансплантатов (рис. 5) [9].

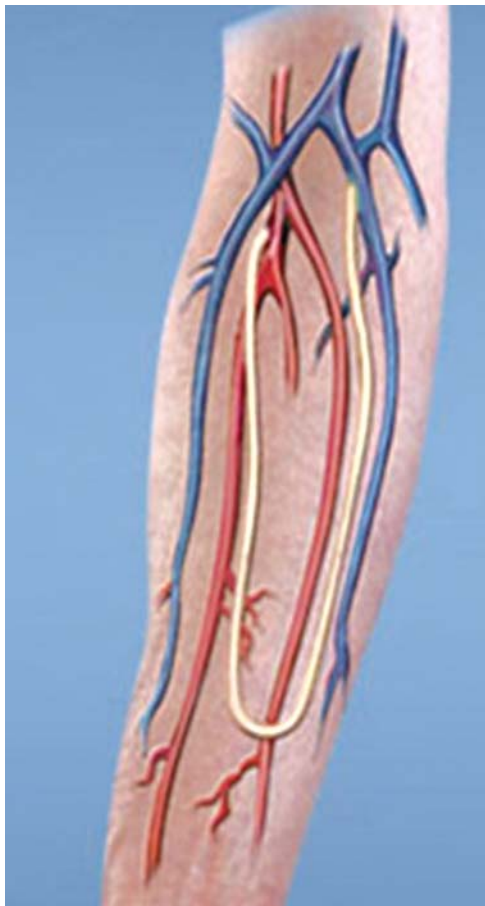


Рис. 5. Схема артериовенозного гемодиализного шунта

Наилучшими сосудистыми протезами артерий среднего ( $\leq 8$  мм) и малого ( $\leq 6$  мм) диаметров признаны различные аутологичные кондуиты: *v. saphena magna*, *a. thoracica interna*, *a. radialis*, *a. gastroepiploica*, *a. epigastrica interna* [9, 10, 11, 12]. Однако при использовании этих протезов отмечены следующие недостатки:

1. Необходимость проведения дополнительных хирургических процедур с увеличением риска и стоимости для пациента [13].

2. Травматичность получения ауто трансплантатов, повышающая вероятность развития инфекционно-воспалительных осложнений в области «изъятия» сосуда [14].

3. Около 30% пациентов не обладают подходящими для трансплантации сосудами (из-за отсутствия у пациента сосуда, подходящего для трансплантации, его вовлечения в патологический процесс или потребности в нескольких сосудах) [15, 16].

4. Аутолены, несмотря на артериализацию стенок после трансплантации, не отличаются адекватными вазомоторными свойствами, склонны к тромбированию и аневризматическому расширению [17, 18].

5. При использовании *a. radialis* в качестве кондуита во многих случаях возникает спазм во время ее выделения, а в некоторых случаях и после операции [19].

Перечисленные недостатки аутососудов стимулируют поиск альтернативных адекватных сосудистых трансплантатов.

Для воссоздания артерий крупного диаметра, таких как аорта, подвздошные артерии, с успехом применяются синтетические сосудистые протезы на основе политетрафторэтилена (polytetrafluoroethylene — PTFE), длинноцепочечного политетрафторэтилена (expanded polytetrafluoroethylene — ePTFE) в различных модификациях. Однако с уменьшением диаметра сосуда резко снижается процент функционально адекватного кровотока при использовании синтетических протезов [20]. Значительно повышается риск тромбообразования, гиперплазии неинтимы, что делает синтетические графты практически непригодными для протезирования сосудов нижних конечностей, аортокоронарного шунтирования, формирования гемодиализных артериовенозных шунтов [21]. Кроме того, необходимость постоянного приема антикоагулянтов в послеоперационном периоде также ограничивает их применение [22]. Покрытие этих трансплантатов слоем коллагена [23], желатина [24], гепарина несколько увеличивает длительность адекватного кровотока [25–27], но результаты этих исследований не являются однозначными [28, 29]. В качестве альтернативы было предложено наносить слой эндотелия на искусственные полимерные протезы на основе PTFE [30, 31]. Эндотелизация таких протезов увеличивает биосовместимость конструкции, значительно снижая риск тромбозов и рестенозов полимеров [32, 33]. На оформленные синтетические каркасы наносится матрикс, улучшающий нормальную пролиферацию и адгезию клеток, и собственные эндотелиальные клетки пациента [34, 35]. Несмотря на улучшение проходимости, протезы, полученные таким методом (эндотелизированные протезы),

способны обеспечивать нормальную гемодинамику только в течение 3–5 лет и менее чем в 50 % случаев [15, 36, 37].

Проблема создания адекватных сосудистых заменителей за последнее десятилетие практически не изменилась. Так же остро стоит вопрос выбора адекватного сосудистого заменителя, особенно при протезировании сосудов среднего и малого диаметра [38–40].

Перспективным направлением является создание биоинженерных артериальных протезов на основе сосудистых скаффолдов [41, 42]. В настоящее время применяется 3 вида скаффолдов: аутогенные, синтетические, ксеногенные (табл.) [43, 44]. Аутогенные выращиваются из фибробластов реципиента, выделенных из биопсийного материала [45]. Фибробласты культивируют в условиях, стимулирующих продукцию хорошо организованного внеклеточного матрикса, формирующего плотный соединительнотканый «листок», который может в дальнейшем использоваться для конструирования трехмерной модели сосуда, обладая всеми необходимыми механическими качествами [46]. Для этого «листки» последовательно оборачиваются вокруг временной основы, освобождаются от фибробластов, а затем засеваются клетками эндотелия. Несмотря на положительные результаты, среди недостатков метода следует отметить длительные сроки выращивания этих протезов (до 15 нед) [47, 48], сложность технологического процесса и высокую стоимость трансплантатов, что в значительной мере ограничивает возможность их практического применения.

Преимущество синтетических скаффолдов на основе полигликолевой, полилактозной, гиалуроновой [49] кислот заключается в наличии пористой микроструктуры, которая способствует проращению новообразуемой ткани [50–52]; имеется возможность моделирования таких каркасов по форме и размерам [53–55]. Однако существенными недостатками биодеградирующих синтетических каркасов являются слабые механические свойства, проявляющиеся в частоте формирования аневризматических расширений, а также необходимость специальных обработок, направленных на повышение адгезивных свойств стенок скаффолда и приживание клеток на полимерной структуре [56].

Естественные биологические ткани в значительной степени превосходят синтетические материалы в качестве каркасов сосудистых протезов мелкого диаметра, про-

являя лучшие адгезивные свойства при последующей эндотелизации [57], способствуя росту эндотелия и, в зависимости от метода обработки, могут обладать механическими свойствами, подобными нативным сосудам [58, 59, 60]. Антигенность тканей до настоящего времени является серьезной проблемой использования ксеноматериала, что обусловлено межвидовыми различиями иммуногенных свойств внеклеточного матрикса [61]. Наиболее перспективное направление в биоинженерии кардиоваскулярных протезов — использование в качестве скаффолдов децеллюляризованных ксенотканей, что впервые было предложено Rosenberg [62]. Теоретически отсутствие синтетического материала должно способствовать формированию устойчивой, долгосрочной структуры биоинженерного сосуда и обеспечивать полноценную интеграцию трансплантата в организм реципиента.

По гистологической структуре девитализированные (бесклеточные) ксеноскаффолды представляют собой совокупность коллагеновых и эластиновых волокон. Эти структурные матричные протеины обеспечивают каркасные функции сосуда и возможность его заселения аутогенными клетками реципиента *in vitro* до трансплантации [63, 64]. Возможно также самостоятельное применение бесклеточных скаффолдов в качестве сосудистых трансплантатов, в результате чего происходит их заселение аутогенными клетками непосредственно в организме реципиента.

Использование ксенососудов в качестве скаффолдов для создания биоинженерных сосудистых трансплантатов предусматривает их химическую или физическую обработку (девитализацию), основные задачи которой состоят в сохранении биологического материала путем повышения устойчивости к энзиматическому и химическому разрушению; снижению иммуногенности биоматериала; стабилизации структуры ткани и поддержке адекватных механических свойств [65]. Кроме того, методика девитализации должна обеспечивать сохранение максимальных адгезивных свойств внутренней поверхности скаффолда с целью последующего ее заселения гладкомышечными и эндотелиальными клетками реципиента.

В связи с удалением клеточных антигенов, особенно антигенов чужеродных эндотелиальных клеток, сниженный иммунологический потенциал предотвращает развитие критических воспалительных и иммунных реакций на трансплантат [66, 67].

## Виды сосудистых трансплантатов

Аутогенные	v. saphena magna, a. thoracica interna, a. radialis, a. gastroepiploica, a. epigastrica interna	<i>Преимущества:</i> биологическая совместимость, аналлергенность, аниммуногенность, отсутствие травмирующего воздействия на клетки крови, отсутствие токсичности, адекватные биомеханические свойства, низкая стойкость. <i>Недостатки:</i> травматичность получения с увеличением риска для пациента, ограниченное количество, вероятность вазоспазма [14, 16, 18, 19]		
	a. femoralis, v. saphena magna, a. iliaca, aorta <sup>(1)</sup>	<i>Преимущества:</i> отсутствие дефицита, нативная структура трансплантатов. <i>Недостатки:</i> морально-этические вопросы, иммунные реакции, хроническое воспаление, склонность к кальцинозу и гиперпластической окклюзии [13]		
Синтетические	Без покрытия	PTFE, ePTFE <sup>(2)</sup>	<i>Преимущества:</i> с успехом применяются для воссоздания артерий крупного диаметра, возможность массового производства. <i>Недостатки:</i> риск тромбообразования, гиперплазии неоинтимы, непригодны для протезирования сосудов мелкого и среднего диаметра, необходимость длительного приема антикоагулянтов [20, 21, 22]	
	С покрытием <sup>(3)</sup>	<i>Преимущества:</i> увеличенные сроки кровотока, сниженный риск тромбозов и рестенозов. <i>Недостатки:</i> результаты исследований не являются однозначными, часто сравнимы с синтетическими протезами без покрытия [22, 23, 26, 27, 28, 29]		
Биоинженерные	Аутогенные <sup>(4)</sup>	Вырабатываются из фибробластов реципиента, выделенных из биопсийного материала		
		Нерассасывающиеся <sup>(5)</sup>		
	Синтетические	Биодеградирующие		
		Сосудистая ткань	Девитализация	<i>Преимущества:</i> хорошее прорастание стенки каркаса новообразованной тканью, адекватные упругоэластические свойства, возможность промышленного производства. <i>Недостатки:</i> низкий комплайенс, нет факторов роста эндотелия, обеспечивают нормальную гемодинамику в течение 3-5 лет и менее чем в 50 % случаев [36, 37]
				<i>Преимущества:</i> обеспечивают механическую опору клеткам, возможность моделирования таких каркасов по форме и размерам, постепенное замещение внеклеточным матриксом. <i>Недостатки:</i> сложность производства, слабые механические свойства [56, 50]
Несосудистая ткань <sup>(7)</sup>	Скаффолды	<i>Преимущества:</i> сочетание снижения иммуногенных свойств, фиксации биологических тканей и стерилизации. <i>Недостатки:</i> снижение механической прочности сосуда, цитотоксичность, кальциноз [68, 90, 91]		
Несосудистая ткань <sup>(7)</sup>		<i>Преимущества:</i> уменьшают кальциноз, тромбогенность, частоту аневризм. <i>Недостатки:</i> цитотоксичность, снижение механических свойств и адгезивной способности; результаты сравнимы с ePTFE-графтами [71, 73, 92]		
На основе коллагенового геля		<i>Преимущества:</i> полная девитализация, отсутствие цитотоксичности, несклонность к кальцинозу, поддерживает адгезию и рост эндотелия. <i>Недостатки:</i> отрицательное воздействие на упругоэластические свойства сосудистых графтов [65, 93]		
На основе коллагенового геля		<i>Преимущества:</i> практически полная девитализация (включая клеточные фрагменты), минимизация иммунного воспаления. <i>Недостатки:</i> снижение прочностных характеристик и структурной целостности скаффолда, склонность к тромбоцитарной агрегации, высокая цитотоксичность [75, 76, 81, 82, 83]		
На основе коллагенового геля		<i>Преимущества:</i> полная девитализация, отсутствие цитотоксичности. <i>Недостатки:</i> проводятся экспериментальные исследования методов [84, 86]		

*Преимущества:* биосовместимость, аниммуногенность, возможность промышленного производства. *Недостатки:* неудовлетворительные биомеханические свойства [87, 88, 89]

**Примечания:** 1) CytoLife®, LifeNet® Health Bio-implants division; 2) Экофлон, Gore-tex®, Datascope®, InterVascular, Uni-Graft®, Distaflo®, Bypass Graft и т.д.; 3) Покрытие внутренней поверхности синтетических трансплантатов слоем коллагена, желатина, гепарина; 4) CytoGraft®; 5) BioNova®; 6) Denacol®; 7) Small intestinal submucosa, xenoureter и т.д.

Методы химической обработки позволяют эффективно снижать антигенные свойства тканей и предупреждать бактериальное обсеменение трансплантатов за счет антисептических свойств используемых реагентов. До недавнего времени наиболее изученным химическим агентом, применяемым для снижения иммуногенных свойств и фиксации биологических тканей, был глутаровый альдегид. Несмотря на успешность применения в качестве фиксатора и стерилизатора, его использование вызывает значительные побочные эффекты, в частности снижение механической прочности сосуда [68], цитотоксичность, кальциноз. Цитостатический эффект глутарового альдегида препятствует процессам последующей эндотелизации скаффолда как *in vitro*, так и *in vivo* [69, 70].

Полиэпоксидные реагенты, введенные как альтернатива глутаральдегиду, при обработке кардиоваскулярных тканей уменьшают кальцинацию, тромбогенность, частоту аневризматических расширений [71, 72, 73], однако широкое их использование ограничено в связи с рядом нерешенных проблем, включая цитотоксичность, механические свойства обработанных тканей и сниженную адгезивную способность [74].

Предложено большое количество методик девитализации с применением детергентных (TritonX-100, SDS) и энзимных (DNase, RNase) растворов в различных концентрациях [75, 76, 77, 78, 79]. Преимущество этих методик заключается в практически полной девитализации ксенососудов (включая клеточные фрагменты) и, соответственно, минимизации иммунного воспаления [80, 81]. Однако использование детергентов, энзимов и буферных растворов приводит к снижению прочностных характеристик и структурной целостности скаффолда [14]. Формирование устойчивых

связей между волокнами коллагена и растворами детергентов вызывает склонность к тромбоцитарной агрегации [82], что обуславливает высокую степень тромбогенности таких скаффолдов. Кроме того, детергентные растворы проявляют значительную цитотоксичность, затрудняя последующую реэндотелизацию [83].

Последнее время активно исследуются физические методы девитализации ксеноскаффолдов. Так, Fujisato et al. предложили методику девитализации посредством комбинации ультравысокого давления и последующего вымывания разрушенных клеток фосфатным буфером под воздействием микроволнового излучения [84, 85]. В настоящее время проводится экспериментальное исследование данного метода [86].

В отделе экспериментальной криомедицины института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины разрабатывается новый подход к решению проблемы девитализации ксеноартерий. Исследуется эффект криоповреждения клеточных компонентов сосудистой стенки с целью создания бесклеточных ксеногенных сосудистых скаффолдов [87–94]. Применение низких температур позволит отказаться от использования детергентно-энзимных растворов, снижающих механические свойства скаффолда, решит проблему хранения биологического материала на промежуточных этапах технологического процесса [95].

Таким образом, биоинженерные сосудистые протезы на основе девитализированных ксеногенных сосудистых скаффолдов являются наиболее перспективным направлением в сосудистом протезировании. Разработка и совершенствование методик девитализации ксенососудов — основной этап создания биоинженерных сосудистых графтов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л. А., Ступаков И. Н., Самородская И. В. и др. Мнение врачей первичного звена в оценке потребности пациентов в хирургических методах лечения ишемической болезни сердца // Кардиол. сер.-сосуд. хир. — 2008. — № 1. — С. 10–15.
2. World Health Organization. Preventing chronic diseases: a vital investment, 2006.
3. Карпов Р. С., Лишманов Ю. Б., Чернов В. И. Диагностика и лечение болезней сердца и сосудов: от научных исследований к клинической практике медицины XXI века // Бюл. СОРАМН. — 2005. — Т. 2, № 116. — С. 22–26.
4. Бабушкина А. В. Инфаркт миокарда: от фундаментальных исследований — к практическим достижениям (по материалам X Нац. конгресса кардиологов Украины) // Укр. мед. час. — 2009. — Т. 5, № 73. — С. 10–13.
5. Державний комітет статистики України, 2009.
6. World Health Organization. World Health Statistics, 2009.
7. Коваленко В. М. Профілактика та лікування інфаркту міокарда в Україні // Укр. кардіол. журн. — 2009. — № 4. — С. 3–24.
8. Ермоленко В. М. Нефрология: Руководство для врачей / Под ред. И. Е. Тареевой. — М.:

- Медицина, 2000. — 2-е изд., перераб. и доп. — 624 с.
9. *Dolmatch B.* The AVG is not going away any time soon // *J. Vasc. Access.* — 2006. — V. 7, N 4. — P. 182–183.
  10. *Taylor L. M. Jr., Edwards J. M.* Present status of reversed vein bypass grafting: five-year results of a modern series // *J. Vasc. Surg.* — 1990. — N 11. — P. 193–205.
  11. *Kannan R. Y., Salacinski H. J., Butler P. E. et al.* Current status of prosthetic bypass grafts: A review // *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* — 2005. — N 74. — P. 570–581.
  12. *Chan-Park M. B., Shen J. Y., Cao Y. et al.* Biomimetic control of vascular smooth muscle cell morphology and phenotype for functional tissue-engineered small-diameter blood vessels // *J. Biomed. Mater. Res. A.* — 2009. — V. 88, N 4. — P. 1104–1121.
  13. *E. R. Edelman.* Vascular tissue engineering: designer arteries // *Circ. Res.* — 1999. — N 85. — P. 1115–1117.
  14. *Cassandra A., Anderson M. D., Mark D. et al.* Renewed Interest in Bovine Heterograft for Vascular Access: A Comparison Between Polytetrafluoroethylene and Bovine. — 9-th Biennial Symposium on Dialysis Access Vascular Access for Hemodialysis IX Symposium. May 6–7, 2004. Lake Buena Vista. — P. 73.
  15. *Бокерия Л. А., Гасанов А. Ф., Каграманов И. И. и др.* Экспериментальное обоснование возможности применения артерии и вены пуповины человека в качестве кондуитов // *Здоровье.* — Баку. — 2007. — № 10. — С. 147–156.
  16. *Teebken O. E., Haverich A.* Tissue Engineering of Small Diameter Vascular Grafts // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2002. — N 23. — P. 475–485.
  17. *Григорян А. С.* Испытания новых тканеинженерных кровеносных сосудов в экспериментальных моделях // *Кл. транспл. ткан. инж.* — 2006. — Т. 3, № 5. — С. 23–24.
  18. *Kapadia M. R., Popowich D. A., Kibbe M. R.* Modified prosthetic vascular conduits // *Circulation.* — 2008. — V. 117, N 14. — P. 1873–1882.
  19. *Бокерия Л. А., Мерзляков В. Ю., Ключников И. В. и др.* Результаты применения и место MIDCABG среди современных методов реваскуляризации миокарда // *Клин. физиол. кровообр.* — 2007. — № 3. — С. 19–26.
  20. *Bordenave L., Menu P., Baquey C.* Developments towards tissue-engineered, small-diameter arterial substitutes // *Exp. Rev. Med. Devices.* — 2008. — V. 5, N 3. — P. 337–347.
  21. *Klinkert P., Post P. N., Breslau P. J., van Bockel J. H.* Saphenous vein versus PTFE for above-knee femoropopliteal bypass: a review of the literature // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2004. — V. 27. — P. 357–362.
  22. *Nerem R. M., Seliktar D.* Vascular tissue engineering // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* — 2001. — N 3. — P. 225–243.
  23. *Prager M. R., Hoblaj T., Nanobashvili J. et al.* Collagen-versus gelatine-coated Dacron versus stretch PTFE bifurcation grafts for aortoiliac occlusive disease: long-term results of a prospective, randomized multicenter trial // *Surgery.* — 2003. — V. 134, N 1. — P. 80–85.
  24. *Fletcher J. P., Robinson B.* Prospective Randomized Trial of PTFE and Gelatin-sealed Dacron for Femoropopliteal, Femorofemoral and Axillofemoral Bypass // *Cardiovasc. Surg.* — 1995. — V. 3. — P. 137–137(1).
  25. *Lin P. H., Chen C., Conklin B. S. et al.* Heparin-coated PTFE graft for aortoiliac bypass grafting inhibits intimal hyperplasia in baboons // *J. Surg. Res.* — V. 114, N 2. — P. 285–286.
  26. *Davidson I., Hackerman C., Kapadia A., Minhajuddib A.* Heparin bonded hemodialysis e-PTFE grafts result in 20% clot free survival benefit // *J. Vasc. Access.* — 2009. — V. 10, N 3. — P. 153–156.
  27. *Daenens K., Schepers S., Fourneau I. et al.* Heparin-bonded ePTFE grafts compared with vein grafts in femoropopliteal and femorocrural bypasses: 1- and 2-year results // *J. Vasc. Surg.* — 2009. — V. 49, N 5. — P. 1210–1216.
  28. *Omke E., Teebken and Axel Haverich.* Tissue Engineering of Small Diameter Vascular Grafts // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2002. — V. 23, N 6. — P. 475–485.
  29. *Klinkert P., Post P. N., Breslau P. J., van Bockel J. H.* Saphenous vein versus PTFE for above-knee femoropopliteal bypass. A review of the literature // *Ibid.* — 2004. — V. 27, N 4. — P. 357–362.
  30. *Rademacher A., Paulitschke M., Meyer R., Hetzer R.* Endothelialization of PTFE vascular grafts under flow induces significant cell changes // *Int. J. Artif. Org.* — 2001. — V. 24, N 4. — P. 235–242.
  31. *Cameron B. L., Tsuchida H., Connall T. P. et al.* High porosity PTFE improves endothelialization of arterial grafts without increasing early thrombogenicity // *J. Card. Surg. (Torino).* — 1993. — V. 34, N 4. — P. 281–285.
  32. *Hirai J., Matsuda T.* Venous reconstruction using hybrid vascular tissue composed of vascular cells and collagen: tissue regeneration process // *Cell Transpl.* — 1996. — V. 5. — P. 93–105.
  33. *Walluscheck K. P., Steinhoff G., Kelm S., Haverich A.* Improved endothelial cell attachment on ePTFE vascular grafts pretreated with synthetic RGD-containing peptides // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 1996. — V. 12. — P. 321–330.

34. *Sato H., Tsuji H., Ikemura S. et al.* Enhanced surfaces for endothelial cell seeding // *J. Biomater. Appl.* — 1999. — V. 14. — P. 169–183.
35. *Hsu S., Sun S., Chen D. C.* Improved retention of endothelial cells seeded on polyurethane small-diameter vascular grafts modified by a recombinant RGD-containing protein // *Artif. Organs.* — 2003. — V. 27. — P. 1090–1100.
36. *Hoenig M. R., Campbell G. R., Rolfe B. E., Campbell J. H.* Tissue-engineered blood vessels — Alternative to autologous grafts? // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2005. — V. 25. — P. 1128–1134.
37. *Baguneid M. S., Seifalian A. M., Salacinski H. J. et al.* Tissue engineering of blood vessels // *Brit. J. Surg.* — 2006. — V. 93. — P. 282–290.
38. *Loftus I. M., Reid A., Thompson M. M. et al.* The Increasing Workload Required to Maintain Infrainguinal Bypass Graft Patency // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 1998. — V. 15, N 4. — P. 337–341.
39. *Minn K. V., Serafin D., Mikat E., Klitzman B.* Reconstruction of rat femoral veins with microvascular prostheses // *Plast. Reconstr. Surg.* — 1991. — V. 87, N 3. — P. 536–542.
40. *Zhu C., Ying D., Mi J. et al.* Development of anti-atherosclerotic tissue-engineered blood vessel by A20-regulated endothelial progenitor cells seeding decellularized vascular matrix // *Biomaterials.* — 2008. — V. 29, N 17. — P. 2628–2636.
41. *Schmedlen R. H., Elbjeirami W. M., Gobin A. S., West J. L.* Tissue engineered small-diameter vascular grafts // *Clin. Plast. Surg.* — 2003. — V. 30, N 4. — P. 507–517.
42. *Sarkar S., Schmitz-Rixen T., Hamilton G., Seifalian A. M.* Achieving the ideal properties for vascular bypass grafts using a tissue engineered approach: a review // *Med. Biol. Eng. Comput.* — 2007. — V. 45, N 4. — P. 327–336.
43. *Campbell G. R., Campbell J. H.* Development of Tissue Engineered Vascular Grafts // *Cur. Pharm. Biotech.* — 2007. — V. 8, N 1. — P. 43–50.
44. *Isenberg B. C., Williams C., Tranquillo R. T.* Small-diameter artificial arteries engineered in vitro // *Circ. Res.* — 2006. — V. 98, N 1. — P. 25–35.
45. *Vara D. S., Salacinski H. J., Kannan R. Y. et al.* Cardiovascular tissue engineering: state of the art // *Pathol. Biol. (Paris).* — 2005. — V. 53, N 10. — P. 599–612.
46. *L'Heureux N., Dusserre N., Konig G. et al.* Human tissue engineered blood vessel for adult arterial revascularization // *Nat. Med.* — 2006. — V. 12, N 3. — P. 361–365.
47. *L'Heureux N., Dusserre N., Marini A. et al.* Technology insight: The evolution of tissue-engineered vascular grafts — from research to clinical practice // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* — 2007. — V. 4, N 7. — P. 389–395.
48. *L'Heureux N., McAllister T. N., de la Fuente L. M.* Tissue-Engineered Blood Vessel for Adult Arterial Revascularization // *New Engl. J. Med.* — 2007. — V. 357, N 14. — P. 1451–1453.
49. *Lepidi S., Grego F., Vindigni V. et al.* Hyaluronan biodegradable scaffold for small-caliber artery grafting: preliminary results in an animal model // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2006. — V. 32, N 4. — P. 411–417.
50. *Watanabe M., Shinoka T., Tohyama S. et al.* Tissue-engineered vascular autograft: inferior vena cava replacement in a dog model // *Tiss. Eng.* — 2001. — V. 7, N 4. — P. 429–439.
51. *Shum-Tim D., Stock U., Hrkach J. et al.* Tissue engineering of autologous aorta using a new biodegradable polymer // *Ann. Thorac. Surg.* — 1999. — V. 68, N 6. — P. 2298–2305.
52. *Hoerstrup S. P., Kadner A., Breymann C. et al.* Living, autologous pulmonary artery conduits tissue engineered from human umbilical cord cells // *Ann. Thorac. Surg.* — 2002. — V. 74, N 1. — P. 46–52.
53. *Wake M. C., Gupta P. K., Mikos A. G.* Fabrication of pliable biodegradable polymer foams to engineer soft tissues // *Cell Transplant.* — 1996. — V. 5, N 4. — P. 465–473.
54. *Niklason L. E.* Techview: medical technology. Replacement arteries made to order // *Science.* — 1999. — V. 286, N 5444. — P. 1493–1494.
55. *Zavan B., Vindigni V., Lepidi S. et al.* Neoarteries grown in vivo using a tissue-engineered hyaluronan-based scaffold // *FASEB J.* — 2008. — V. 22, N 8. — P. 2853–2861.
56. *Kerdjoudj H., Moby V., Berthelemy N., et al.* The ideal small arterial substitute: Role of cell seeding and tissue engineering // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2007. — V. 37, N 1–2. — P. 89–98.
57. *Yang D., Guo T., Nie C., Morris S. F.* Tissue-engineered blood vessel graft produced by self-derived cells and allogenic acellular matrix: a functional performance and histologic study // *Ann. Plast. Surg.* — 2009. — V. 62, N 3. — P. 297–303.
58. *Dixit P., Hern-Anderson D., Ranieri J., Schmidt C. E.* Vascular graft endothelialization: Comparative analysis of canine and human endothelial cell migration on natural biomaterials // *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* — 2001. — V. 56, N 4. — P. 545–555.
59. *Teebken O. E., Haverich A.* Tissue Engineering of Small Diameter Vascular Grafts // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2002. — V. 23, N 6. — P. 475–485.
60. *Dahl S. L., Koh J., Prabhakar V., Niklason L. E.* Decellularized native and engineered arterial scaffold for transplantation // *Cell Transplant.* — 2003. — V. 12, N 14. — P. 659–666.



61. Courtman D. W., Errett B. F., Wilson G. J. The role of crosslinking in modification of the immune response elicited against xenogenic vascular acellular matrices // *J. Biomed. Mater. Res.* — 2001. — V. 55, N 4. — P. 576–586.
62. Rosenberg N., Martinez A., Sawyer P. N. et al. Tanned collagen arterial prosthesis of bovine carotid origin in man // *Ann. Surg.* — 1966. — V. 164, N 2. — P. 247–256.
63. Lee R. T., Berdichevski F., Cheng G. C., Hemler M. E. Integrin-mediated collagen matrix reorganization by cultured human vascular smooth muscle cells // *Circ. Res.* — 1995. — V. 76, N 2. — P. 209–214.
64. Thoumine O., Nerem R. M., Girard P. R. Oscillatory shear stress and hydrostatic pressure modulate cell-matrix attachment proteins in cultured endothelial cells // *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* — 1995. — V. 31, N 1. — P. 45–54.
65. Schmidt C. E., Baier J. M. Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering // *Biomaterials.* — 2000. — V. 21, N 22. — P. 2215–2231.
66. Teebken O. E., Pichlmaier A. M., Haverich A. Cell seeded decellularised allogeneic matrix grafts and biodegradable polydioxanone-prostheses compared with arterial autografts in a porcine model // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2001. — V. 22, N 2. — P. 139–145.
67. Bader A., Steinhoff G., Strobl K. et al. Engineering of human vascular aortic tissue based on a xenogeneic starter matrix // *Transplantation.* — 2000. — V. 70, N 1. — P. 7–14.
68. Gratzer P. F., Lee J. M. Altered mechanical properties in aortic elastic tissue using glutaraldehyde/solvent solutions of various dielectric constant // *J. Biomed. Mater. Res.* — 1997. — V. 37, N 4. — P. 497–507.
69. Huang-Lee L. L., Cheung D. T., Nimni M. E. Biochemical changes and cytotoxicity associated with the degradation of polymeric glutaraldehyde derived crosslinks // *Ibid.* — 1990. — V. 24, N 9. — P. 1185–1201.
70. Gough J. E., Downes S. Cytotoxicity of glutaraldehyde crosslinked collagen/poly(vinyl alcohol) films is by the mechanism of apoptosis // *Ibid.* — 2002. — V. 61, N 1. — P. 121–130.
71. Shen S. H., Sung H. W., Tu R. et al. Characterization of a polyepoxy compound fixed porcine heart valve bioprosthesis // *J. Appl. Biomater.* — 1994. — V. 5, N 2. — P. 159. — 162.
72. Tu R., Shen S. H., Lin D. et al. Fixation of bioprosthetic tissues with monofunctional and multifunctional polyepoxy compounds // *J. Biomed. Mater. Res.* — 1994. — V. 28, N 6. — P. 677–684.
73. Zhou J., Quintero L. J., Helmus M. N. et al. Porcine aortic wall flexibility. Fresh vs Denacol fixed vs glutaraldehyde fixed. // *ASAIO J.* — 1997. — V. 43, N 5. — P. 470–475.
74. Sung H. W., Chang Y., Chiu C. T. et al. Crosslinking characteristics and mechanical properties of a bovine pericardium fixed with a naturally occurring crosslinking agent // *J. Biomed. Mater. Res.* — 1999. — V. 47, N 2. — P. 116–126.
75. Rieder E., Kasimir M. T., Silberhumer G. et al. Decellularization protocols of porcine heart valves differ importantly in efficiency of cell removal and susceptibility of the matrix to recellularization with human vascular cells // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2004. — V. 127, N 2. — P. 399–405.
76. Tudorache I., Cebotari S., Sturz G. et al. Tissue engineering of heart valves: biomechanical and morphological properties of decellularized heart valves // *J. Hear. Valv. Dis.* — 2007. — V. 16, N 5. — P. 567–573.
77. Knight R. L., Wilcox H. E., Korossis S. A. et al. The use of acellular matrices for the tissue engineering of cardiac valves // *Proc. Inst. Mech. Eng.* — 2008. — V. 222, N 1. — P. 129–43.
78. Courtman D. W., Wilson G. J. Development of an acellular matrix vascular xenograft: Modification of the in vivo immune response in rats / *Proc. Soc. Biomat., 25-th Annual Meeting 1999.* — P. 20.
79. Гасанов А. Ф. Экспериментальное обоснование и клиническое использование артерий и вен пуповины новорожденного в качестве сосудистого шунта для хирургического лечения ИБС: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / *НИЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».* — М., 2008 г.
80. Бритиков Д. В., Сачков А. С., Милованова З. П. и др. Гистологическая и прочностная оценка технологии девитализации аллогraftов. // *Бюл. НИЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».* Мат. XII Всерос. съезда серд.-сос. хир. — М. — 2006. — Т. 7, N 5. — С. 287.
81. Бритиков Д. В., Муратов Р. М., Сачков А. С. и др. Экспериментальная оценка технологии девитализации алло- и ксенографтов. — Там же. — М. — 2007. — Т. 8, N 3. — С. 203.
82. Kasimir M. T., Rieder E., Seebacher G. et al. Decellularization does not eliminate thrombogenicity and inflammatory stimulation in tissue-engineered porcine heart valves // *J. Hear. Valv. Dis.* — 2006. — V. 15, N 2. — P. 278–286.
83. Numata S., Fujisato T., Niwaya K. et al. Fibronectin-Hepatocyte Growth Factor Enhances Reendothelialization in Tissue-Engineered Heart Valve // *Ann. Thorac. Surg.* — 2005. — V. 80, N 5. — P. 1794–1801.

84. Fujisato T., Minatoya K., Yamazaki S. et al. Preparation and Recellularization of Tissue Engineered Bioscaffold for Heart Valve Replacement // Sprin. Tokyo. — 2005. — P. 83–94.
85. Kishida A., Kimura T., Funamoto S. et al. Decellularized Tissues as a Tissue Engineering Scaffoldsm // JSPS Asian and African Sciende Platform Program Symposium. Tokyo, Japan, Dec. 2007.
86. Negishi J., Funamoto S., Kimura T. et al. Preparation and Evaluation of Acellular Small-diameter Vessel from Porcine Carotid Decellularized by Ultra High Pressure Method // Termis 2-nd World Congress, Seoul Korea, Sep. 2009.
87. Grassl E. D., Oegema T. R., Tranquillo R. T. A fibrin-based arterial media equivalent // J. Biomed. Mater. Res. A. — 2003. — V. 66A, N 3. — P. 550–561.
88. Berglund J. D., Mohseni M. M., Nerem R. M., Sambanis A. A biological hybrid model for collagen-based tissue engineered vascular constructs // Biomaterials. — 2003. — V. 24, N 7. — P. 1241–1254.
89. Stegemann J.P., Nerem R.M. Phenotype modulation in vascular tissue engineering using biochemical and mechanical stimulation // Ann. Biomed. Eng. — 2003. — V. 31, N 4. — P. 391–402.
90. Eickhoff J. H., Buchardt H.J., Bromme A., et al. A randomized clinical trial of PTFE versus human umbilical vein for femoropopliteal bypass surgery. Preliminary results // Br. J. Surg. — 1983. — V. 70, N 2. — P. 85–88.
91. Dardik H. The second decade of experience with the umbilical vein graft for lower-limb revascularization // Cardiovasc. Surg. — 1995. — V. 3, N 3. — P. 265–269.
92. Uematsu M, Okada M. A modified human ureter graft tanned by a new crosslinking agent polyepoxy compound for small diameter arterial substitutions: an experimental preliminary study // Artif. Organs. — 1998. — V. 22, N 10. — P. 909–913.
93. McIlroy B. K., Robinson M. D., Chen W. M., Moore M.A. Chemical modification of bovine tissues by dye-mediated photooxidation // J. Hear. Valv. Dis. — 1997. — V. 6, N 4. — P. 416–423.
94. Byzov D., Synchykova O., Mikhaylova I. et al. Cryobiological stage of creation of vascular scaffolds // Укр. біохім. журн. — 2009. — Т. 81, № 4 (спец. випуск). — С. 287.
95. Sandomirsky B.P., Byzov D.V., Synchykova O.P., Mikhailova I.P. Cryodamage as the first stage in creation of biological vascular prostheses // Society for Low Temperature Biology. Hannover, Germany, Sep. 2009.

#### БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ ТРАНСПЛАНТАТІВ АРТЕРІЙ

*Бизов Д. В., Синчикова О. П.,  
Пушкова Є. Н., Михайлова І. П.,  
Сандомирський Б. П.*

Інститут проблем кріобіології та кріомедицини  
НАН України, Харків

*E-mail: cryo@online.kharkov.ua*

Існує постійно зростаюча необхідність створення судинних трансплантатів. Автогенні і синтетичні протези не задовольняють потребам сучасної судинної хірургії. Перспективним напрямом є створення біоінженерних судинних графтів на основі девіталізованих ксеноскафолдів. У огляді висвітлено основні напрями створення біоінженерних судинних протезів, їхні переваги і недоліки. Розглянуто проблему розроблення адекватного методу девіталізації ксеносудин.

**Ключові слова:** біоінженерія, судинні протези, скафолди, девіталізація.

#### BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS FOR CREATION OF ARTERIES TRANSPLANTS

*Byzov D. V., Synchykova O. P.,  
Pushkova E. M., Mikhailova I. P.,  
Sandomirsky B. P.*

Institute for Problems of Cryobiology and  
Cryomedicine of National Academy of Sciences  
of Ukraine, Kharkiv

*E-mail: cryo@online.kharkov.ua*

There is constantly growing need in vessel's substitutes, since the number of cardiovascular diseases rises firmly and the age of the patients reduces steadily. To recreate the arteries of large diameter such as aorta, iliac arteries, the synthetic vascular prostheses based on PTFE, ePTFE in different modifications have been successfully used. However with the decrease in diameter of a vessel the percentage of functionally adequate blood flux reduces sharply when using the synthetic prostheses. The perspective trend is the creation of bioengineered arterial prostheses based on vascular scaffolds. The review covers the data on the creation of vascular substitutes, including those used during prosthetic repair of the vessels of small and average diameters.

**Key words:** bioengineering, vascular prosthesis, scaffolds, devitalization.