

Опыт применения бесклеточного матрикса сосуда в хирургии артерий малого диаметра

Кривенцов А.В.^{2,3}, Александров В.Н.¹, Хубулава Г.Г.^{2,3}, Михайлова Е.В.¹, Мамедова Т.Д.²

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (СПбГПМУ Минздрава России), 194100, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России), 197022, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8

³ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации (ВМедА им. С.М. Кирова МО РФ), 194044, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6, лит. Ж.

Аннотация

Введение. Современная сосудистая хирургия испытывает необходимость в надежных биосовместимых моделях для протезирования сосудов малого диаметра, поскольку традиционные методы протезирования сосудов ограничены в применении из-за дефицита донорского материала и риска осложнений, таких как тромбозы и инфицирование. В этом контексте изучается применение протезов из децеллюляризованной аорты (ДЦА) природного биологического каркаса, сохраняющего внеклеточный матрикс, стимулирующий регенерацию сосудистой стенки.

Цель: оценка технологичности и биосовместимости протезов из ДЦА, изготовленных из аорты крыс, при трансплантации в брюшной отдел аорты животного, изучение проходимости и реакции сосудистой стенки в течение 4 нед.

Материал и методы. Использовалась химическая и физическая децеллюляризация аорты при помощи SDS, Triton X-100 и ферментов. Протезы имплантировались 20 крысам линии Wistar. Оценка проходимости проводилась сразу и через 30 мин после операции, а морфологический контроль включая ультразвуковое обследование с доплерометрией, – на 4-й нед. Гистологический анализ выполнялся на поперечных срезах с окраской гематоксилином и эозином.

Результаты. Трансплантация протезов прошла без технических осложнений. ДЦА обладала достаточной прочностью и эластичностью. Через 4 нед. была отмечена нормальная капиллярная перфузия тканей задних конечностей. При доплерографии выявлено снижение средней линейной скорости кровотока в области протезов примерно на 25% ($p < 0,001$). У 60% животных развились тромбозы или стенозы, у 30% – аневризмы. Гистологически установлена лимфоцитарная инфильтрация, гиперплазия интимы у большинства животных, что объясняет нарушения проходимости сосудов.

Заключение. Децеллюляризованные аортальные протезы демонстрируют уникальную биосовместимость и структурное сходство с естественными сосудами, однако обладают высоким риском таких осложнений, как тромбозы, стенозы и аневризмы. Для улучшения стабильности и тромборезистентности требуются модификации, возможно, с использованием синтетических покрытий или культивированием эндотелиоцитов.

Ключевые слова:	сосудистые протезы; децеллюляризация; внеклеточный матрикс; биосовместимость сосудов; аневризма; гистологический анализ; регенерация сосудистой стенки.
Финансирование:	авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.
Ресурсное обеспечение:	исследование проводили в лабораториях НИЛ тканевой инженерии НИЦ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, НИЛ экспериментальной хирургии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета.
Соответствие принципам этики:	все исследования выполняли с соблюдением правил гуманного обращения с лабораторными животными, которые изложены в директивах Европейской конвенции (86/609/ЕЕС) по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г., а также в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Для цитирования:

Кривенцов А.В., Александров В.Н., Хубулава Г.Г., Михайлова Е.В., Мамедова Т.Д. Опыт применения бесклеточного матрикса сосуда в хирургии артерий малого диаметра. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2025;40(4):53–60. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-53-60>

Experience in using a cell-free vascular matrix in small-diameter arterial surgery

Kriventsov A.V.^{2, 3}, Alexandrov V.N.¹, Khubulava G.G.^{2, 3}, Mikhailova E.V.¹, Mamedova T.D.²

¹ Saint Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (SPbGPMU),

2 Litovskaya str., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6-8 Lva Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation

³ Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Akademika Lebedeva str., 6, lit. Zh, St. Petersburg, 194044, Russian Federation

Abstract

Introduction. Modern vascular surgery faces a need for reliable biocompatible models for small-diameter vessel prosthetics, as traditional methods are limited due to donor material shortages and risks of complications such as thrombosis and infection. In this context, the use of prostheses made from decellularized aorta (DCA) – a natural biological scaffold preserving the extracellular matrix that stimulates vascular wall regeneration – is studied.

Aim: To evaluate the manufacturability and biocompatibility of DCA prostheses made from rat aorta, when transplanted into the abdominal aorta of animals, with investigation of patency and vascular wall response over 4 weeks.

Material and Methods. Chemical and physical decellularization of the aorta using SDS, Triton X-100, and enzymes was performed; prostheses were implanted into 20 Wistar rats. Patency was assessed immediately and 30 minutes post-operation, with morphological control including ultrasound with Doppler performed at 4 weeks. Histological analysis used cross-sections stained with hematoxylin and eosin.

Results. Prosthesis transplantation occurred without technical complications. The DCA showed sufficient strength and elasticity. After 4 weeks, normal capillary perfusion in hind limb tissues was noted. Doppler imaging revealed a decrease in mean linear blood flow velocity (about 25%, $p < 0.001$) in the prosthesis region. Thrombosis or stenosis developed in 60% of animals, aneurysms in 30%. Histology revealed lymphocytic infiltration and intimal hyperplasia in most animals, explaining impaired vessel patency.

Conclusion. Decellularized aortic prostheses demonstrate unique biocompatibility and structural similarity to native vessels but carry a high risk of complications such as thrombosis, stenosis, and aneurysms. Modifications, possibly including synthetic coatings or endothelial cell cultivation, are needed to improve stability and thromboresistance.

Keywords:	vascular prostheses; decellularization; extracellular matrix; vascular biocompatibility; aneurysm; histological analysis; vascular wall regeneration.
Funding:	the authors declare that this study received no funding.
Resource support:	the study was conducted in the laboratories of the Research Laboratory of Tissue Engineering at the Research Center of the S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, and the Research Laboratory of Experimental Surgery at the St. Petersburg State Pediatric Medical University.
Compliance with ethical standards:	all studies were carried out in compliance with the rules of humane treatment of laboratory animals, which are set out in the directives of the European Convention (86/609/EEC) for the Protection of Vertebrates used for Experimental and other Scientific purposes, adopted in Strasbourg on 18.03.1986 and confirmed in Strasbourg on 15.06.2006, as well as in accordance with the requirements of the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 01.04.2016 No. 199 “On the approval of the Rules of good laboratory practice”.
For citation:	Kriventsov A.V., Alexandrov V.N., Khubulava G.G., Mikhailova E.V., Mamedova T.D. Experience in using a cell-free vascular matrix in small-diameter arterial surgery. <i>Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2025;40(4):53–60. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-53-60

Введение

Современная сосудистая хирургия нуждается в надежных биосовместимых моделях для протезирования сосудов малого диаметра. Традиционные методы реконструкции основаны на использовании аутографтов и синтетических протезов, однако они ограничены в применении по причине дефицита донорского материала и значительного риска осложнений, таких как тромбозы и инфицирование [1, 2]. Поиск сосудистых протезов, обладающих физиологической структурой, биосовместимостью и долговечной функциональностью, остается ключевой задачей сосудистой хирургии.

Современные исследования демонстрируют перспективность использования децеллюляризованных сосудистых матриц в качестве платформы для создания протезов с улучшенными механическими и биологическими свойствами [3, 4]. Кроме того, внедрение методов регенеративной медицины и тканевой инженерии позволяет дополнительно усиливать биосовместимость и сокращать период заживления после имплантации. Это открывает новые горизонты в разработке эффективных стратегий лечения сосудистых заболеваний, особенно в тех случаях, где традиционные методы оказываются неэффективными или невозможными.

В этом контексте следует рассмотреть применение протезов из децеллюляризованной аорты (ДЦА), которая представляет собой природный биологический каркас, очищенный от клеток с сохранением внеклеточного матрикса (ВКМ), содержащего коллаген и эластин. Матрицы из ДЦА стимулируют регенерацию сосудистой стенки и обладают потенциалом для интеграции и биоинженерного роста, что особенно важно для сосудов малого диаметра [3, 5].

Цель настоящего исследования: комплексная оценка технологичности и биосовместимости децеллюляризованных протезов, изготовленных из аорты крыс, после их трансплантации в брюшную аорту животного-модели. Исследование направлено на изучение проходимости сосудистых протезов и морфофункциональной реакции сосудистой стенки в течение 4 нед. после имплантации с помощью методов ультразвуковой доплерографии и гистологического анализа. Полученные данные позволят оценить потенциал использования таких биоматериалов в сосудистой хирургии малого диаметра.

Материал и методы

Протезы ДЦА изготавливали из аорты крыс методом химической и физической децеллюляризации, включая обработку SDS и Triton X-100 с применением ферментов. Децеллюляризацию аорты выполняли по оригинальному протоколу, разработанному и неоднократно проверенному на эффективность, выражающуюся в полном отсутствии антигенности, в лаборатории тканевой инженерии Военно-медицинской академии [6].

Оценка децеллюляризации

Эффективность протеза на протяжении всего периода эксплуатации определяется соответствием основным техническим критериям, среди которых важными являются тромборезистентность, отсутствие иммуногенных реакций, биологическая совместимость и необходимые механические параметры. Согласно требованиям Международной организации по стандартизации, проведение

лабораторных испытаний *in vitro* позволяет объективно оценить пригодность исследуемого протеза до начала доклинических экспериментов. При оценке биопротезов, создаваемых из ДЦА, мы руководствовались этими нормами и расширили применяемый арсенал методик для анализа биосовместимости одного из ключевых параметров сосудистых биодеградируемых имплантатов малых диаметров.

Завершив разработку и тестирование метода децеллюляризации, следующим этапом стала комплексная характеристика свойств изготовленного биопротеза.

Микроархитектоника

Для оценки сохранности микроархитектоники ДЦА после децеллюляризации были проведены инструментальные исследования. Распределение клеточных элементов в объеме матрикса при культивировании отслеживалось с помощью сканирующего электронного микроскопа «Н-600» с цифровой камерой (Hitachi, Япония). Фиксация проводилась в растворе глутарового альдегида (2,5%) на фосфатном буфере (pH 7,2) и параформальдегида (4% на воде, 1 : 1) при температуре 0 °С в течение 6 ч, после чего материал промывался аналогичным буфером и дополнительно фиксировался тетраоксидом осмия (2%) на холоде в течение 16 ч. Контрастирование осуществлялось с помощью уранила ацетата (2%) в 70% этаноле на протяжении 2–2,5 ч. Дегидратация производилась с использованием градуированных спиртов и ацетона, после чего образцы заливались компаундом эпона с аралдитом. Срезы толщиной 1–2 мкм и 30–70 нм создавались на ультратоме «Ultracut R» (Reichert-Jung GmbH, Германия) и окрашивались уранила ацетатом и цитратом свинца.

Иммуногенность

При оценке протеза на основе ДЦА с точки зрения иммуногенности мы руководствовались положением, что основным фактором, провоцирующим иммунный ответ и возможное отторжение трансплантата, является остаточная ДНК. Свободные фосфатные группы ДНК способны взаимодействовать с циркулирующими кальциевыми солями, что ведет к избыточной кальцификации и сильному иммунному ответу [7]. Для бесклеточных материалов, предназначенных к медицинскому использованию, условно считается, что концентрация ДНК составляет ниже 50 нг/мг ткани, и ее фрагмент длиной менее 300 пар оснований не вызывает значимой иммуногенной реакции [2].

Поскольку тесты на остаточную ДНК обладают различной чувствительностью, в работе применили двухэтапный подход в исследовании ДЦА. На первом уровне исследовали гистологические срезы парафиновых блоков, окрашенные гематоксилином-эозином для световой микроскопии и флуоресцентным красителем DAPI, который специфически окрашивает нуклеиновые кислоты.

Для окончательной оценки антигенности ДЦА проводили количественные исследования. При отсутствии визуально определяемых иммуногенных структур материал разрушали, экстрагировали ДНК и исследовали ее количество с помощью спектрофотометрии и электрофоретического анализа в агарозном геле. Эти методы позволяли обнаруживать ДНК в концентрациях менее 50 нг/мг ткани и длиной до 300 пар оснований.

Полученную ДЦА применяли в качестве готового аллогraftа (рис. 1).

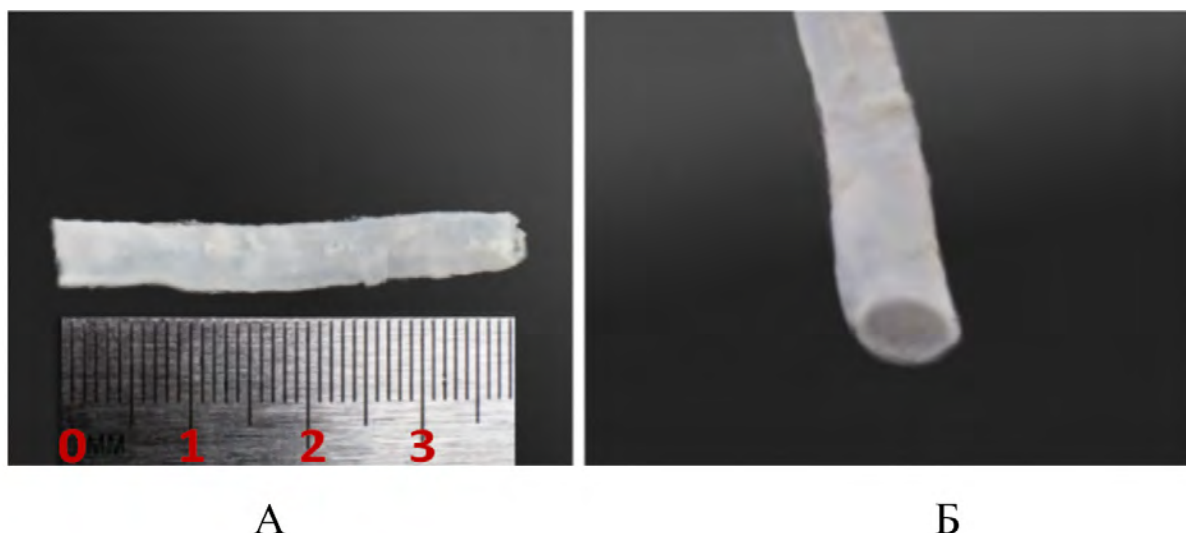


Рис. 1. Фотографии децеллюляризованной аорты крысы: А – общий вид; Б – поперечный разрез
Fig. 1. Images of decellularized rat aorta: A – general view; B – cross-section

Методика трансплантации

Протезы имплантировали 20 крысам линии Wistar 12-недельного возраста массой 200–250 г. Лабораторных животных наркотизировали внутрибрюшинно золетилом в дозировке 50 мг/кг. Предварительно в холку вводили антибиотик (оксациллин), а также орошали им сам протез. У наркотизированных и фиксированных животных выполняли полную срединную лапаротомию. Под 7–10-кратном увеличении операционного микроскопа OPMI PICO (Carl Zeiss, Германия), выделяли инфраренальный отдел аорты. Через 3–5 мин после введения внутрибрюшинно 300 Ед/кг гепарина пережимали поперек участок аорты ниже почечных артерий и над ее бифуркацией. Аорту между клипсами-зажимами поперечно рассекали. Нитью Prolen 10/0 одиночными швами накладывали анастомозы по типу «конец в конец» между ДЦА и проксимальным, дистальным отделами брюшной аорты. Длина трансплантата составляла 5–8 мм. Время ишемии нижних конечностей составляло 30 ± 5 мин (рис. 2А). Переднюю брюшную стенку послойно ушивали атравматическими иглами нитью Prolen 5/0.

После операции крыс содержали в индивидуальных клетках, что обеспечивало необходимый покой и ограничение движений для полноценного восстановления. Животным предоставляли свободный доступ к питьевой воде и стандартной диете, чтобы поддерживать их общее состояние и способствовать нормализации обменных процессов. В течение наблюдения регулярно контролировали состояние кожных покровов задних лап с акцентом на цвет и температуру, а также определяли общую активность животных, что является важным индикатором их здоровья и отсутствия нарушений кровообращения. Целостность и функциональность имплантата оценивали непрерывно на фоне этих показателей, что позволяет выявлять ранние признаки таких осложнений, как ишемия или воспалительные процессы. Следует отметить, что в послеоперационном периоде не применяли антикоагулянты и дезагреганты, что позволяет оценить естественную реакцию организма на имплантацию сосудистого протеза без фармакологического вмешательства. Такой подход помогает выявить реальный тромбообразующий потенциал протезов и оценить необходимость дополнительных модификаций или лечения в будущем. Клеточ-

ное содержание обеспечивало оптимальные условия микроклимата, минимизируя стресс и возможное перекрестное заражение. При этом минимизация стрессовых факторов и ограничение движения было осуществлено без применения излишних рестрикций, чтобы не привести к дополнительным осложнениям. Такой метод ухода за экспериментальными животными считается этически оправданным и максимально приближенным к естественным условиям, что способствует получению достоверных и воспроизводимых результатов.

Таким образом, послеоперационный уход и условия содержания животных были выстроены таким образом, чтобы обеспечить баланс между комфортом и необходимым контролем, что играет ключевую роль в успешном проведении экспериментов по изучению сосудистых протезов и формированию объективных выводов об их биосовместимости и функциональной эффективности.

Оценка проходимости и морфологический контроль

Для оценки проходимости сосудистых протезов в данном исследовании использовали классическую методику, включающую проведение ультразвукового исследования с доплерометрией сразу после имплантации и спустя 30 мин. Такой подход позволяет определить степень проходимости и качество кровотока в протезе в ранний послеоперационный период, что важно для фиксации первичной функциональности имплантата. Для более долговременной оценки на 4-й нед. наблюдения применяли ультразвуковое исследование с доплерометрией, которая позволяет визуализировать структуру протеза, измерять параметры кровотока, а также исследовать состояние внеклеточного матрикса. Среднюю линейную скорость кровотока оценивали с помощью аппарата Acuson Cepress Rev.20 (Siemens, США), оснащенного широкодиапазонным линейным датчиком 7L3 с частотой 8 МГц, что обеспечивает высокую точность измерений и детализацию сосудистого русла.

После завершения экспериментов проводили тщательный макроскопический анализ состояния имплантата и окружающих тканей. Особое внимание уделялось оценке состоятельности анастомозов, целостности и патологическим изменениям протеза, а также состоянию

ткани вокруг него. Исследование выполняли под операционным микроскопом при семикратном увеличении, что позволяет выявлять неявные изменения на поверхности протеза и прилегающей ткани. Для гистологического анализа протезы первоначально промывали с помощью инсулинового шприца с небольшим количеством физиологического раствора, чтобы избежать загрязнения и сохранить структуру материала. Далее образцы фиксировали в 10% растворе формалина на фосфатном буфере, что обеспечивает сохранение клеточной и внеклеточной структуры, после чего проводили обезвоживание и заливку в парафин. Это является стандартной процедурой подготовки тканей для последующего микроскопического анализа. Для морфологической оценки применяли поперечные срезы толщиной 4–5 мкм, окрашенные гематоксилином и эозином (BioVitrum, Россия), что позволяет визуализировать основные структурные компоненты тканей – ядра клеток и цитоплазму, а также внеклеточный матрикс. Такой комплексный подход к оценке позволяет не только диагностировать наличие и характер изменений в протезах, но и количественно анализировать процессы ремоделирования тканей и степень биосовместимости имплантатов.

В дополнение к стандартным методам использование ультразвуковой доплерометрии в динамике обеспечивает возможность неинвазивного мониторинга проходимости сосудистых протезов и прогнозирования их функциональной устойчивости в течение всего периода наблюдения. Это особенно важно при исследовании протезов малого диаметра, где риск тромбозов и стенозов высок. Собранные данные позволяют выявлять ранние тенденции к развитию осложнений и корректировать подходы к модификации протезов, направленные на повышение их долговечности и биологической интеграции.

Таким образом, применяемые методы исследования обеспечивают всестороннюю оценку как технических характеристик сосудистых протезов, так и их взаимодействия с организмом в послеоперационном периоде, что является необходимым этапом для разработки эффективных и безопасных моделей для клинического применения.

Все исследования выполняли с соблюдением правил гуманного обращения с лабораторными животными, которые изложены в директивах Европейской конвенции (86/609/ЕЕС) по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г., а также в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Результаты

Микроархитектоника

Сохранение структуры ВКМ аорты крысы после процедуры децеллюляризации было подтверждено при помощи сканирующей электронной микроскопии. Результаты исследований показали, что, несмотря на длительное удаление клеток аорты, не было выявлено очевидных повреждений, таких как деформации или разрывы ВКМ, ни на наружной, ни на внутренней поверхности сосуда. Особое значение имеет сохранность коллагеновых слоев типа IV – одного из ключевых структурных элементов

ВКМ, расположенных как с внутренней, так и с внешней стороны стенки протеза.

Иммуногенность

Исследования децеллюляризованного аортального материала показали отсутствие антигенов, несущих чужеродную информацию. В частности, анализ гистологических срезов ДЦА под световым микроскопом выявил отсутствие гематоксилинофильных структур между сохранившимися слоями эластина. Аналогично, при исследовании методом конфокальной микроскопии образцов, окрашенных DAPI, не наблюдалась флуоресценция при длине волны возбуждения 305 нм, что свидетельствует об отсутствии нуклеиновых кислот во внутренних, средних и наружных слоях ДЦА. Также при электрофоретическом разделении обработанного материала, окрашенного бромистым этидием, отсутствовали полосы, характерные для высокомолекулярной ДНК.

Результаты спектрофотометрического анализа по протоколу программы «Gene 5» (Biotek, США) подтвердили, что содержание остаточных нуклеиновых кислот в ткани протеза не превышает 50 нг/мг на миллиграмм материала, что соответствует установленным требованиям к неиммуногенности децеллюляризованных биоматериалов.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что разработанный протокол децеллюляризации обеспечивает создание бесклеточного внеклеточного матрикса аорты с хорошей биосовместимостью, приемлемым уровнем иммуногенности, согласно литературным источникам, и сохранением основных компонентов ВКМ.

Трансплантация протезов из ДЦА в брюшной отдел аорты крыс технических сложностей не вызывала. Эластические свойства прототипа сосудистого протеза позволяли манипулировать им свободно, что не отражалось на прочностных характеристиках. Такие действия, как наложение швов и последующее затягивание узлов, не сопровождалось прорезыванием имплантатов. После запуска кровотока отсутствовало пропитывание крови через стенку моделей сосудистых протезов. Учитывая, что после процесса децеллюляризации аорта увеличивалась в диаметре, в некоторых случаях отмечалось несоответствие диаметра нативной аорты и протеза из ДЦА, что не отражалось на процессе имплантации (рис. 2Б).

После имплантации ДЦА через 4 нед. кожа задних конечностей и хвоста крыс имела нормальный цвет, признаков трофических нарушений задних конечностей не наблюдалось.

Данные ультразвукового сканирования

При ангиосканировании и доплерографии через 4 нед. после имплантации при аналогичных данных внутреннего диаметра, не отличавшегося от нормы, отмечали сниженную примерно на 25% линейную скорость кровотока в экспериментальной группе ($n = 5$, $p < 0,001$, критерий Краскела – Уоллиса) (табл. 1).

Статистические значения (медиана и межквартильный интервал) диаметров для ДЦА составляли 1,95 [1,69; 2,0], для контрольной группы – 2,05 [1,80; 2,13]. Через 30 дней у 2 крыс опытной группы патологий не обнаружено. У 60% крыс ($n = 12$) (95% ДИ: 38–78%) образовался тромбоз ($n = 6$) (95% ДИ: 15–52%) или стеноз ($n = 6$) (95% ДИ: 15–52%). Еще у 30% ($n = 6$) (95% ДИ: 15–52%) развились аневризмы аллогraftов.

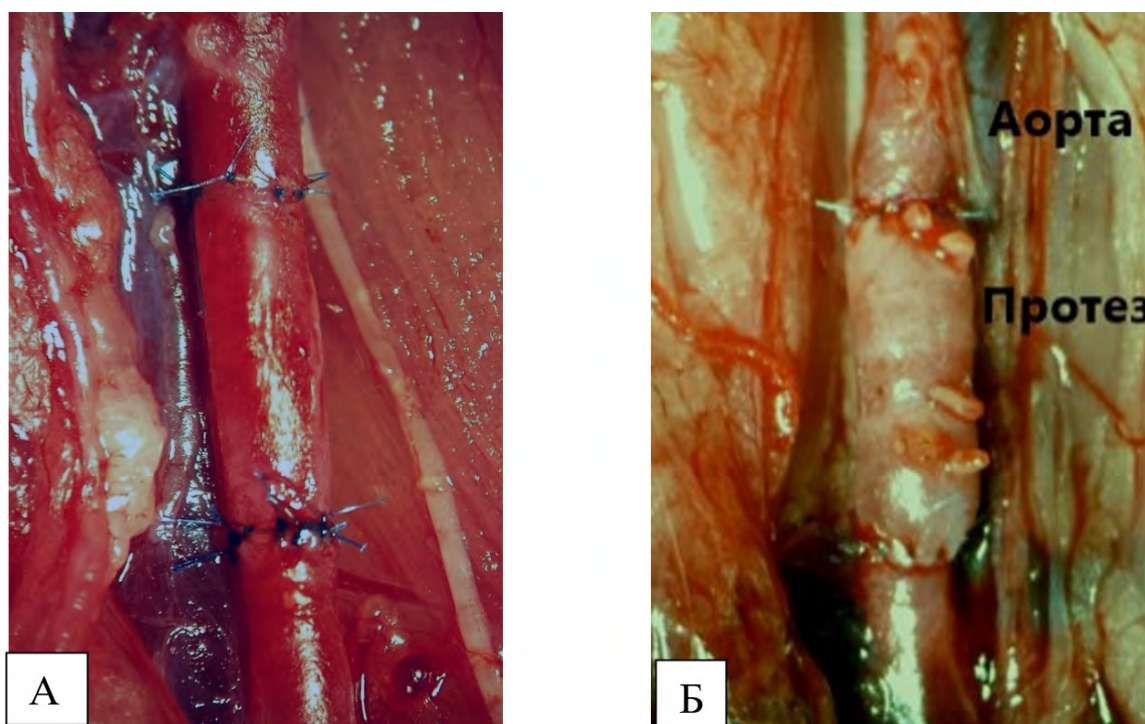


Рис. 2. Интраоперационные фотографии: А результат имплантации децеллюляризованной аорты протеза; Б несоответствие диаметра нативной аорты и протеза из децеллюляризованной аорты, операционный микроскоп, увеличение $\times 7$
Fig. 2. Intraoperative images: A result of DCA graft implantation; B diameter mismatch between the native aorta and the decellularized aorta graft, operating microscope, $\times 7$ magnification

Таблица 1. Данные ультразвуковой доплерографии
Table 1. Doppler ultrasound data

Время после трансплантации, недели	Линейная скорость кровотока, м/с	
	Контрольная группа	Децеллюляризованная аорта
4	0,73 [0,68; 0,75]	0,53 [0,52; 0,55]

Результаты аутопсии и гистологического обследования

Так, практически у всех животных-реципиентов сосудистых протезов из ДЦА выявлена патология на сроке до 7 нед., связанная с развитием у 60% крыс ($n = 12$) (95% ДИ: 38–78%) тромбоза или стеноза, у 30% ($n = 6$) (95% ДИ: 15–52%) – аневризмы аллогraftов (рис. 3).

Признаков инфекционно-воспалительных процессов в трансплантатах не обнаружили. На гистологических срезах наблюдали преимущественно лимфоцитарную инфильтрацию, а также формирование неoadвентиции (рис. 4).

При этом у 80% животных ($n = 16$) (95% ДИ: 58,40–91,93%) к 4-й нед. эксперимента отмечали выраженную гиперплазию интимы (рис. 4Б), что предопределило развитие нарушения проходимости сосудов у 60% животных ($n = 12$) (95% ДИ: 38–78%), вероятно, вследствие образования тромботических масс на сроке от 6 до 8 нед.

Обсуждение

В данной работе проведен анализ применения децеллюляризованных аортальных протезов для замены сосудов малого диаметра, что остается одной из приоритетных задач современной сосудистой хирургии. Полученные результаты демонстрируют высокую биосовместимость ДЦА и их структурное сходство с нативными сосудами, что обосновывает высокий потенциал данных протезов для эндогенной регенерации и интеграции с

тканями сосудистой стенки. Литературные данные указывают на решающую роль сохранения внеклеточного матрикса в стимуляции процессов репарации и регенерации сосудистой ткани, что способствует быстрому восстановлению функциональных характеристик сосуда.

Вместе с тем, несмотря на высокую механическую прочность и отсутствие иммуногенных реакций, в ряде экспериментов на животных наблюдались осложнения (тромбозы, стенозы и аневризмы), что свидетельствует о необходимости повышения тромборезистентности и улучшения поверхности протезов. Современные исследования указывают на тот факт, что биосовместимость материала сама по себе недостаточна для полного предотвращения тромбообразования без функционального покрытия внутренней поверхности протеза, например, эндотелизации или нанесения антикоагулянтных покрытий. В этой связи необходимо уделить особое внимание развитию биоинженерных методов культивирования и интеграции эндотелиальных клеток, что позволит значительно снизить риск послеоперационных осложнений и повысить долговечность имплантатов.

Дальнейшие направления исследований следует направить на создание гибридных протезов, сочетающих биорезорбируемые антикоагулянтные покрытия с сохранением прочностных характеристик децеллюляризованной матрицы, а также на оценку их долгосрочной стабильности и функциональной эффективности. Экспериментальные модели на мелких животных, таких как крысы, продемонстрировали техническую реализуемость

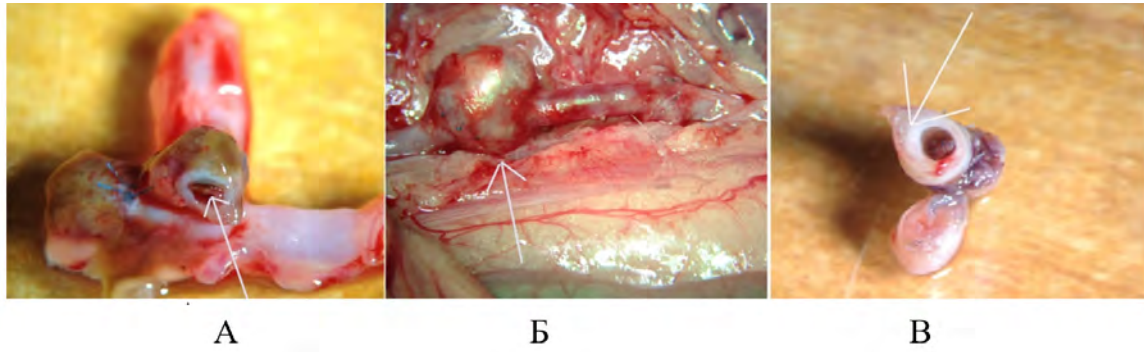


Рис. 3. Интраоперационные фотографии (причины осложнений протезов сосудов из децеллюляризованной аорты), локализация отмечена стрелками: А – тромбоз; Б – аневризматическое расширение; В – стеноз
Fig. 3. Intraoperative images (causes of complications in decellularized aorta vascular grafts), locations indicated by arrows: A – thrombosis; B – aneurysmal dilation; C – stenosis

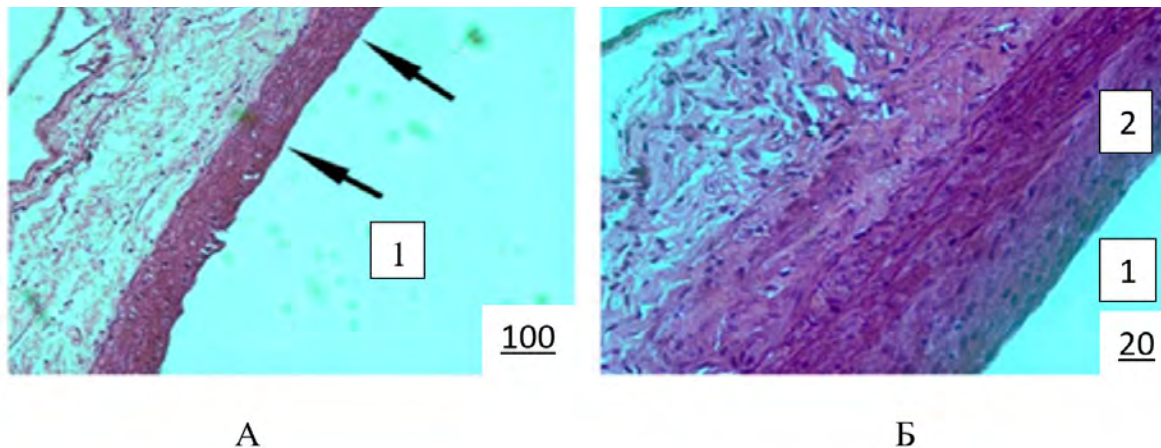


Рис. 4. Гистологические срезы протеза из децеллюляризованной аорты через 4 недели после трансплантации (стрелками отмечен сформированный эндотелиальный слой): 1 – просвет сосуда, 2 – гиперплазия интимы, окрашивание гематоксилином и эозином. А – масштабный отрезок 100 мкм; Б – масштабный отрезок 20 мкм
Fig. 4. Histological sections of the decellularized aorta graft 4 weeks after transplantation (arrows indicate the formed endothelial layer): 1 – vessel lumen, 2 – intimal hyperplasia, hematoxylin and eosin staining. A – scale bar 100 µm; B – scale bar 20 mkm

имплантации и предоставили ценные данные о ранних биологических реакциях на внедрение протеза, которые могут стать основой для перехода к крупным доклиническим испытаниям.

Современные достижения в тканевой инженерии и регенеративной медицине открывают широкие перспективы для оптимизации сосудистых протезов, делая возможным их адаптацию к росту и изменению организма пациента, что особенно важно для лечения заболеваний сосудов малого диаметра у детей и взрослых пациентов с тяжелыми сердечно-сосудистыми заболеваниями. Таким образом, текущие исследования подчеркивают высокую перспективность использования ДЦА в клинической практике, но одновременно выявляют необходимость дальнейших доработок с целью оптимизации их биологических и механических свойств для повышения клинической эффективности и безопасности.

Основные задачи, требующие решения для успешного внедрения ДЦА-протезов, включают совершенствование методов поверхностной модификации, развитие биоинженерных технологий эндотелизации, а также интеграцию мультидисциплинарных подходов, комбинирующих материалы с различными биомеханическими и биохимическими характеристиками. В перспективе это позволит создавать персонализированные сосудистые конструкции, способные адаптироваться к физиологическим изменениям в организме, обеспечивая надежное

восстановление сосудистого русла и снижение риска последующих сосудистых осложнений.

Заключение

Представленные данные свидетельствуют о том, что прототипы сосудистых протезов из ДЦА по своим прочностным свойствам и тромборезистентности не подходят для рассмотрения в качестве сосудистых протезов сосудов малого диаметра.

Возможным решением данной проблемы являются дополнительные модификации внутренней поверхности протезов, направленные на создание атромбогенного покрытия. Синтетические покрытия с антикоагулянтными свойствами способны значительно снизить риск образования тромбов на поверхности протеза. Кроме того, культивирование эндотелиоцитов *in vitro* в биореакторных системах и дальнейшее эндотелирование поверхности протеза представляют собой перспективный биоинженерный подход. Эндотелиальная ткань, создаваемая таким образом, обеспечивает естественный барьер против тромбообразования, способствует интеграции протеза с тканью сосуда и улучшает функцию протеза. Протезы сосудов, изготовленные на основе ДЦА, должны быть адаптированы к физиологическим условиям, характерным для сосудов малого диаметра, где кровоток более турбулентен и высок риск образования кровяных сгустков. Комплексный подход, включающий механическую

прочность, биосовместимость, наличие атромбогенных покрытий и возможность эндотелизации, является ключевым для создания эффективных и безопасных сосудистых протезов для данной клинической задачи.

Таким образом, чтобы прототипы протезов из ДЦА стали пригодными для широкого клинического применения в протезировании сосудов малого диаметра, необходима комплексная доработка их внутренней поверхности с использованием современных биоинженерных технологий. Этот путь требует объединения междисциплинарных усилий в области тканевой инженерии, клеточной биологии и сосудистой хирургии для достижения конечной цели – создания надежных, долговечных и безопасных сосудистых протезов с минимальным риском осложнений.

Выводы

1. Сосудистые протезы из нативной аорты после децеллюляризации обладают уникальной биосовместимостью

Литература / References

- Emmert M.Y., Fioretta E.S., Hoerstrup S.P. Translational challenges in cardiovascular tissue engineering. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2017;10(2):139–149. <https://doi.org/10.1007/s12265-017-9728-2>
- Naso F., Gandaglia A. Can heart valve decellularization be standardized? A Review of the parameters used for the quality control of decellularization processes. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022;17(10):830–899. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.830899>
- Li Y., Zhou Y., Qiao W., Shi J., Qiu X., Dong N. Application of decellularized vascular matrix in small-diameter vascular grafts. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2023;10:1081233. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1081233>
- Mallis P., Kostakis A., Stavropoulos-Giokas C., Michalopoulos E. Future perspectives in small-diameter vascular graft engineering. *Bioengineering.* 2020;7(4):160. <https://doi.org/10.3390/bioengineering7040160>

Информация о вкладе авторов

Кривенцов А.В. предложил концепцию исследования и спланировал эксперимент, провел эксперименты и написал основную часть рукописи; Александров В.Н. участвовал в проведении экспериментов и сборе материала; Хубулава Г.Г. внес вклад в обсуждение полученных результатов и редактирование рукописи; Михайлова Е.В. проводила эксперименты и занималась статистической обработкой данных; Мамедова Т.Д. участвовала в редактировании рукописи. Все авторы приняли окончательное решение об утверждении версии рукописи к публикации и согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя точность и достоверность представленных данных.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Кривенцов Александр Викторович, канд. мед. наук, руководитель кардиохирургического отделения, врач-сердечно-сосудистый хирург, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, ВМедА им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: sascha_jiembet@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-1680-4914>.

Александров Виктор Николаевич, д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, СПбГПМУ Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: vnaleks9@yandex.ru; <http://orcid.org/0009-0001-9229-5293>.

Хубулава Геннадий Григорьевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, руководитель НИЦ ССХ, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, ВМедА им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия, <http://orcid.org/0000-0002-9242-9941>.

Михайлова Екатерина Вячеславовна, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, СПбГПМУ Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, <http://orcid.org/0000-0002-6982-0360>.

Мамедова Телли Джума кызы, врач-сердечно-сосудистый хирург, аспирант ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: mamedova.telli@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-4134-4278>.

и структурной близостью к естественным сосудам, что способствует эндогенной репопуляции и регенерации сосудистой стенки.

2. Независимо от преимуществ, образцы из ДЦА демонстрируют высокую механическую прочность, но и высокий риск таких осложнений, как тромбозы, стенозы и формирование аневризм.

3. Результаты исследований на крысах подчеркивают необходимость совершенствования технологий для повышения стабильности и долговечности предложенных прототипов сосудистых протезов.

Благодарности

Благодарность выражается сотрудникам НИЛ тканевой инженерии НИЦ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, НИЛ экспериментальной хирургии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета.

- Zhao P., Li X., Fang Q., Wang F., Ao Q., Wang X. et al. Surface modification of small intestine submucosa in tissue engineering. *Regen. Biomater.* 2020;7:339–348. <https://doi.org/10.1093/rb/rbaa014>
- Александров В.Н., Кривенцов А.В., Михайлова Е.В., Фигуркина М.А., Соколова М.О., Юдин В.Е. и др. Протезы из децеллюляризированной аорты и биорезорбируемого материала в эксперименте in vivo. *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* 2017;58(2):120–125. <https://doi.org/10.17816/brmma623251>
- Aleksandrov V.N., Kriventsov A.V., Mikhailova E.V., Figurkina M.A., Sokolova M.O., Yudin V.E. et al. Prostheses from decellularized aorta and bioresorbable material in in vivo experiment. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2017;58(2):120–125. <https://doi.org/10.17816/brmma623251>
- Bäck M., Michel J.B. From organic and inorganic phosphates to valvular and vascular calcifications. *Cardiovasc. Res.* 2021;117(9):2016–2029. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab038>

Information on author contributions

Kriventsov A.V. conceived the study, planned and conducted experiments, wrote the main part of the manuscript; Alexandrov V.N. participated in conducting the experiments and collecting the data; Khubulava G.G. contributed to the discussion of the results and the editing of the manuscript; Mikhailova E.V. conducted experiments and performed statistical data analysis; Mamedova T.D. contributed to the editing of the manuscript. All authors gave final approval of the version to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work, ensuring the accuracy and integrity of the data presented.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Information about the authors

Alexander V. Kriventsov, Cand. Sci. (Med.), Head of the Cardiac Surgery Department, Cardiovascular Surgeon, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; Kirov S.M. Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia, e-mail: sascha_jiembet@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-1680-4914>.

Viktor N. Alexandrov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Senior Research Scientist, SPbSPMU, St. Petersburg, Russia, e-mail: vnaleks9@yandex.ru; <http://orcid.org/0009-0001-9229-5293>.

Gennady G. Khubulava, Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Scientific Research Center for Agricultural Sciences, SPbSMU, St. Petersburg, Russia; Kirov S.M. Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, <http://orcid.org/0000-0002-9242-9941>.

Ekaterina V. Mikhailova, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, SPbSPMU, Saint Petersburg, Russia, <http://orcid.org/0000-0002-6982-0360>.

Mamedova Telli D., Cardiovascular Surgeon, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russia, Saint Petersburg, Russia, e-mail: mamedova.telli@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-4134-4278>.

Поступила 21.10.2025;
рецензия получена 30.10.2025;
принята к публикации 12.11.2025.

Received 21.10.2025;
review received 30.10.2025;
accepted for publication 12.11.2025.