

А.В. Косулин¹, Л.Н. Бельдиман¹, С.В. Кромский¹,
А.А. Кокорина¹, Е.В. Михайлова^{1,3}, М.О. Соколова²,
А.В. Кривенцов², В.Н. Александров^{1,2}

Тканеинженерные конструкции для компенсации синдрома короткой кишки

¹Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

³Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург

Резюме. Синдром короткой кишки является важной клинической проблемой, характеризующейся высокой частотой серьезных осложнений, смертей и социально-экономических последствий. Парентеральное питание обеспечивает только временное решение без снижения риска осложнений. Это в равной степени относится и к хирургическому лечению, в частности к трансплантации тонкой кишки, и соответствующим сопутствующим вмешательствам, которые лишь облегчают адаптацию кишечника к новым условиям. Проанализированы потенциальные подходы в лечении синдрома короткой кишки, которые может предложить динамично развивающаяся сегодня тканевая инженерия. Обсуждаются разные виды носителей и типы клеток, которые используются в экспериментах для получения тканеинженерных конструкций кишечника. Анализируется широкий спектр вариантов таких конструкций, которые могут привести к получению протеза органа с клеточной организацией и механической стабильностью, схожими с таковыми нативного тонкого кишечника, что обеспечит необходимую биосовместимость. Установлено, что одним из оптимальных носителей на сегодняшний день являются внеклеточные матриксы, получаемые децеллюляризацией нативного тонкого кишечника. Этот процесс позволяет сохранить микроархитектуру тонкого кишечника, что значительно облегчает процесс заполнения матрикса клетками как *in vitro*, так и *in vivo*. Также установлено, что среди наиболее перспективных участников клеточного ансамбля особенно выделяют мезенхимные стромальные мультипотентные клетки и органоидные единицы, получаемые из ткани нативного тонкого кишечника.

Ключевые слова: синдром короткой кишки, мальабсорбция, тканевая инженерия, децеллюляризация, органоидные единицы, мезенхимные стромальные клетки, матрикс, рецеллюляризация.

Синдром короткой кишки (СКК) – состояние, которое развивается в результате массивной резекции тонкого кишечника, как правило, вследствие утраты не менее 50–75% его длины, что имеет место при наложении, тощекишечно-толстокишечного анастомозов или концевой еюностомии [8, 12, 18, 26]. Встречаемость СКК в мире растет – в 2004 г. она составляла 24,5 случая на 100000 новорожденных [18]. Уровень выживаемости в 1 год оценивается в 86%, а затем снижается до 77% на третий год и до 73% на пятый [18, 25]. Близкие показатели приводят и другие авторы. Так, уровень выживаемости пациентов с СКК у детей в Соединенных Штатах Америки, оцененный за период с 2005 по 2008 г., составлял 70–80% [21, 22]. По другим данным, уровень выживаемости выше и варьирует от 80 до 94% [20]. Показатели уровня смертности в целом близки к данным по уровню выживаемости и соответствуют 10–30% [6, 8].

У взрослых основными причинами СКК являются болезнь Крона [19, 27], инфаркт брыжейки [19, 26], опухоли, радиационные поражения, травмы, спаечная непроходимость кишечника, а также расстройства моторики кишечника и энтеропатии [27]. У новорожденных – обширные резекции некротизированных участков тонкой кишки при таких состояниях, как заворот средней кишки на фоне мальротации (незавершенного поворота кишечника), некротический энтероколит, атрезия тонкой кишки [8, 19, 26, 27].

Ключевым звеном патогенеза СКК является недостаточная абсорбционная площадь внутренней поверхности кишечника [17], а также нарушение секреторных функций кишечника [25], что сопровождается неадекватно низким относительно потребностей организма всасыванием нутриентов из просвета кишечника (мальабсорбция), нарушением обмена веществ, включая потерю жидкости, элементов питания, снижением массы тела [19], расширением кишки, нарушением ее моторики и изменениями бактериальной флоры [26]. Несмотря на снижение абсорбционной площади внутренней поверхности кишечника до очень низкого уровня, пациент длительно выживает без парентерального питания вследствие развития уже в первые двое суток после резекции процесса адаптации, во время которого постепенно усиливается поглощающая способность оставшегося участка тонкой кишки, в особенности ее подвздошной части [26]. Полагают, что в основе данного феномена лежит активация процесса повышенной регуляции поглощающей способности, включающего как повышенное освобождение кишечных гормонов (пептида Y, субстанции P, холецистокинина, глюкагоноподобного белка-2, вещества PP), так и инициацию механизмов репаративной регенерации, реализуемой не только на уровне внутриклеточных структур в форме клеточной гиперплазии, но и на уровне клеток [20]. Гиперплазия эпителиальных клеток крипт и их пролиферация, опосредованная гастрином, энтероглюкагоном,

глюкагоноподобным белком-2, эпидермальным фактором роста, инсулиноподобным фактором роста-I [26], обуславливают увеличение высоты кишечных ворсинок, площади поглощающей поверхности, диаметра кишки.

Непрерывным условием, способствующим развитию этого процесса и выживанию пациентов с СКК, является возможность энтерального питания. Отсутствие такового и достижение предела приспособительных процессов обуславливают развитие тех или иных клинических проявлений СКК. Они очень индивидуальны и зависят от возраста и конкретного участка резекции [2, 26]. У некоторых пациентов СКК ведет к дефициту витаминов и минеральных элементов, но не нарушает поглощения белков. У других, несмотря на поглощение питательных веществ, имеет место потеря жидкости и электролитов, что осложняет клиническую картину, предопределяя необходимость в парентеральном питании или хирургическом вмешательстве [26].

Однако парентеральное питание, нацеленное на введение воды, макро- и микронутриентов в соответствии с потребностями пациента, сопряжено с осложнениями, от легких метаболических, порой транзиторных, до смертельно опасных – катетеризационного сепсиса, дисфункции и цирроза печени вследствие застоя желчи [19], атрофии слизистой – типичного осложнения парентерального питания с развитием дисбактериоза и микробной транслокацией, то есть поступлением микроорганизмов в кровоток через измененный кишечный барьер [8, 25–27]. В этой связи не вызывает особых сомнений тот факт, что смертность порядка 30% в педиатрии обусловлена осложнениями при парентеральном питании [6]. Кроме того, в контексте осложнений парентерального питания нельзя не отметить коммерческую составляющую – его высокую стоимость [17, 21]. Так, по оценкам за 2008 г. стоимость полного парентерального питания для ребенка в течение пяти лет от рождения составляет от 1,3 до 2 млн долларов [21].

Вследствие высокой стоимости полного парентерального питания и высокого риска осложнений, с ним сопряженного, предложены варианты аутологической хирургической реконструкции: суживающая энтеропластика, создание искусственных кишечных клапанов [6, 24], метод продольного кишечного удлинения [4], серийная поперечная энтеропластика [13] и метод спирального кишечного удлинения [2]. Эти хирургические приемы, в основном нацеленные на компенсацию основного звена патогенеза СКК – мальабсорбции, считаются весьма эффективными, однако возможно развитие повторной дилатации кишечника с рецидивирующим ростом патогенной микрофлоры и последующим нарушением всасывания [2]. Кроме того, в ряде случаев, например для пациентов с фиброзом печени, применение подобной реконструкции затруднено или невозможно.

Трансплантацию аллогенной тонкой кишки сегодня также рассматривают как один из эффективных вариантов хирургического лечения СКК [8, 24], хотя она и обеспечивает в лучшем случае 50%-ный уровень выживаемости пациентов в первые пять лет после операции [17, 25, 26]. Сопутствующей проблемой

трансплантации аллогенного органа, конечно, является необходимость пожизненной иммуносупрессивной поддержки, несущей онкогенный риск и склонность к рецидивирующей инфекции, типичной для иммунокомпрометированного реципиента [1, 9].

Дополнением к описанным вариантам лечения СКК, возможно, станет использование факторов роста кишечника, например гормона роста или глюкагоноподобного пептида-2, а также препаратов, усиливающих поглощающую способность оставшегося кишечника. Результаты такого варианта терапии в экспериментальных работах выглядят многообещающе. Однако клиническое действие этих веществ не в полной мере понятно [17]. Возможное исключение составляет препарат «teduglutide» – аналог глюкагоноподобного пептида-2, подкожное введение которого увеличивает кишечную абсорбцию. Он одобрен для пациентов старше 1 года, находящихся на стадии постхирургической кишечной адаптации [12].

Поиск новых подходов в лечении, лишенных недостатков вышеперечисленных хирургических методов и не несущих в себе смертельных для пациента с СКК рисков, предопределил обращение к возможностям тканевой инженерии – направления клеточных технологий с конечным продуктом в виде персонифицированного тканеинженерного органа. Органа, по своим морфофункциональным характеристикам способного к самоподдержанию, интеграции с тканями пациента после его ортотопической трансплантации, причем без риска отторжения [1]. Прототип будущей тканеинженерной тонкой кишки (ТИТК) в виде тканеинженерной нейтральной матрикс (каркас), органоспецифические клетки и/или их предшественники, заселяемые на него, ростовые факторы [15]. Полученная таким образом ТИК должна быть прекондиционирована *in vitro* или *in vivo*, для того чтобы «созреть» до качества «живой» ТИТК.

В настоящее время в тканевой инженерии тонкого кишечника предпочтение отдается носителям-матриксам, которые по своей микроархитектонике, механической стабильности, биосовместимости способны участвовать в воспроизведении ткани и в той или иной мере имитировать ее [15]. К таковым сегодня относят матриксы двух типов – синтетического и биологического происхождения. В качестве материала для формирования искусственных матриксов обычно используют полилактид, полигликолид, а также сополимеры на их основе, обладающие высокой пористостью и удельной поверхностью, необходимыми для миграции и пролиферации клеток в объеме имплантата, но при этом сохраняющими достаточную герметичность [1, 3, 9, 19]. Матриксы биологического происхождения получают в процессе децеллюляризации нативного органа, достигая полного удаления клеток при максимальной сохранности его макро- и микроархитектоники и механических свойств [25]. Так, детергентно-ферментный способ децеллюляризации тонкой кишки крысы, проведенный одновременно через просвет кишечника и сосудистое русло (*arteria mesenterica cranialis*), позволяет полностью убрать

клеточный материал, сохранив при этом микроархитектуру кишки (крипты, ворсинки), рисунок 1.

Вне зависимости от природы каркаса последний может быть заселен стволовыми клетками – эмбриональными (ЭСК), кишечными (Lgr5-клетки) (КСК), мезенхимными стромальными клетками (МСК) или органоидными единицами (ОЕ). Выбор оптимального клеточного продукта для заселения матрикса ограничен его доступностью, то есть количеством клеток для заселения, и конечным полезным результатом использования – формированием органоспецифической тканеподобной структуры. Так, труднодоступные ЭСК, заселенные на децеллюляризованный матрикс, после 4 недель культивирования на нем с ежедневной заменой mTeSR™1 среды для стволовых клеток не мигрируют в толщу матрикса и не начинают линейноспецифическую дифференциацию [8].

Более перспективным для тканевой инженерии кишки продуктом могут стать КСК [15]. К настоящему моменту идентифицированы многие маркеры КСК: mTert, Prom1, Msi-1, Ascl2, Bmi-1, DCAMKL1 (Double cortin and Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase-like 1), Lgr5 (Leucin-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 5) [15, 23]. Также показано наличие двух популяций КСК в криптах: популяция «молчащих» клеток на позиции +4 выше клеток Панета и популяция циркулирующих (митотически активных) клеток на дне крипт между клетками Панета, также называемых базальными столбчатыми клетками. Однако малое количество (4–6 клеток на крипту) ограничивает их применение в тканевой инженерии в настоящее время [15].

В этой связи сегодня в качестве клеточного продукта для заселения матрикса нашел применение клеточный коктейль в виде ОЕ, изолированных из кишечной стенки многоклеточных агрегатов, содержащих слизистый и мезенхимные компоненты. ОЕ, заселенные на матрикс, способны дифференцироваться в эпителиальную, мышечную, нервную ткани с формированием архитектуры нативной кишки [15]. Наконец, отдельным направлением работ по поиску оптимального варианта клеточного компонента для формирования ТИК является разработка протокола получения чистой культуры эпителиальных клеток кишечника из ОЕ [7].

Помимо перечисленных претендентов, на роль клеточного компонента для тканевой инженерии тонкой кишки МСК заслуживают особого внимания благодаря мультипотентности, пластичности, секреции ростовых факторов (фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), фактор роста гепатоцитов (HGF), эпидермальный фактор роста (EGF)). Кроме того, вследствие доступности их получения из жировой ткани или костного мозга и накопления в заданном количестве они представляются одним из наиболее удобных клеточных продуктов для клинической практики. Таким образом, создаваемые сегодня прототипы ТИТК в выборе клеточного компонента ограничиваются в основном ОЕ и МСК.

Одной из первых работ по созданию ТИТК крысы является исследование, в котором в качестве носителя клеток использовали биodeградируемый полигликолевый матрикс, а в качестве клеточного компонента – органоиды новорожденных 6-дневных крысят породы Lewis [9]. Реципиентами сформированной ТИК стали взрослые крысы породы Lewis, которым ТИК вшивали в большой сальник, используя таким образом организм как биореактор. Через 8 недель в большей части ТИТК (16 из 19) наблюдали образование структур (0,8–3,6 мм), морфологически напоминающих слизистую кишки – с ворсинками и криптами, сформированными призматическим эпителием. Визуализировали бокаловидные слизистые клетки, клетки Панета, фибробласты, деградирующий полимер, формируемый внеклеточный матрикс и гладкомышечные клетки. В криптоподобных участках были обнаружены митотически активные зоны. Авторы подчеркивают, что морфологию, подобную нативной кишке, имели только ТИТК, помещенные в организм реципиента немедленно после формирования. Прекондиционирование ТИК *ex vivo*, то есть в биореакторе, и отложенная имплантация приводили к неспособности ТИК к формированию слизистой и к «созреванию» ТИТК. При этом время является критическим фактором для выживания недифференцированных клеток-предшественников из крипт. В данной работе не характеризовали нервный компонент стенки кишки, что, очевидно, указывает на его отсутствие в ТИТК.

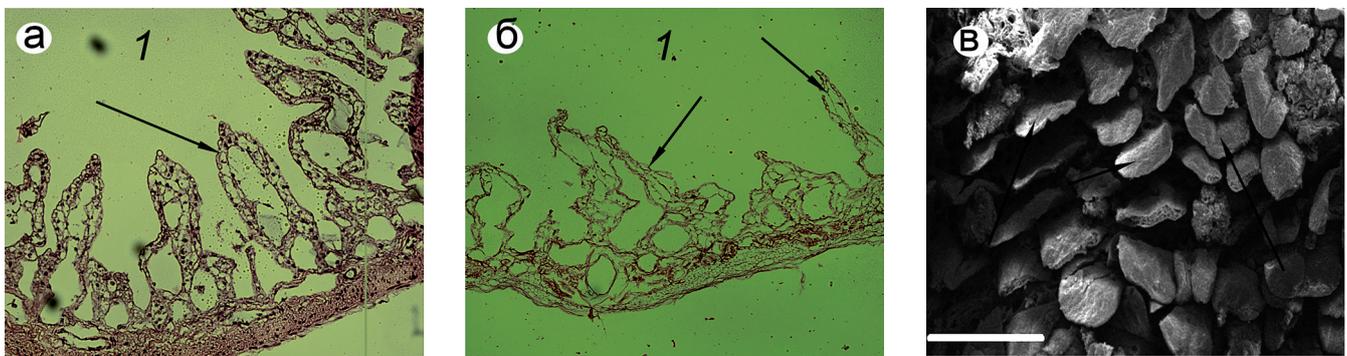


Рис. 1. Микрофотографии слизистой нативной (а) и децеллюляризованной (б, в) тонкой кишки. Световая (окраска гематоксилином и эозином) (а, б) и электронная сканирующая микроскопия (в). Стрелками отмечены кишечные ворсинки, 1 – просвет кишечника. Масштабный отрезок – 500 мкм

Принципиально отметить, что трансплантация подобной ТИК крысе с экспериментальным СКК заметно увеличивает абсорбционную поверхность кишечника: масса тела начинает восстанавливаться на неделю раньше, и ее восстановление протекает полнее (98,5% дооперационной массы тела) по сравнению с животными с СКК, но без трансплантации (не более 77% на 40-й день послеоперационного периода) [22].

F.G. Sala et al. [1] выполнили похожее исследование на 6-недельных поросятах йоркширской породы. В качестве клеток использовали ОЕ, выделенные из резецированного фрагмента тонкой кишки сингенного донора. Конструкция из биodeградируемого матрикса (трубки из полигликолиевой кислоты, покрытые поли-L-молочной кислотой, а затем коллагеном I типа), заселенная ОЕ, была прекоинкубирована в большом сальнике. Через 7 недель трансплантаты «дозрели» до состояния ТИТК. Длина ворсинок и глубина крипт ТИТК были идентичны таковым нативной кишки. Общая организация ТИТК также была идентичной нативной кишке: крипты давали положительный сигнал с ядерным маркером пролиферации, в то время как ворсинки его не давали.

В ТИТК, как и в нативной кишке, были обнаружены три типа клеток кишечного эпителия: энтероциты, бокаловидные и энтероэндокринные клетки. Клетки Панета не визуализировались ни в ТИТК, ни в нативной тонкой кишке свиньи. И в нативной, и в ТИТК, кроме того, были обнаружены клетки, окрашивающиеся антителами к гладкомышечному актину. Иммуногистохимический анализ подтвердил также наличие нервных клеток между продольным и кольцевым слоями мышц (сплетение Ауэрбаха) и в подслизистой (сплетение Мейснера). Оценка маркеров субэпителиальных миофибробластов кишки (ISEMF) показала наличие гладкомышечного актина и отсутствие десмина, в то время как в норме гладкомышечные клетки положительны по обоим маркерам. В криптах ТИТК были обнаружены клетки, положительные к DCAMKL-1. Таким образом, одним из наиболее значимых результатов этой работы представляется идентификация в ТИТК ISEMF, обеспечивающих предпочтительное микроокружение для региональных стволовых клеток кишки. Описанное исследование, проведенное на модели СКК крупного животного, отражает возможности тканевой инженерии в решении проблемы лечения СКК у человека.

В этом контексте также представляет интерес работа D.E. Levin et al. [14], предпринявших попытку создания человеческой ТИТК. Биodeградируемый полигликолиевый матрикс заселяли человеческими органоидами из постнатальной ткани и трансплантировали мышам NOD/SCID. Анализ образцов, взятых через 4 недели, показал, что они человеческого происхождения и содержат все четыре типа клеток зрелой тонкой кишки. Также сформировались мышечный слой, поддерживающие кишечные субэпителиальные миофибробласты и нервные элементы сплетения Мейснера.

Способность ОЕ формировать четыре типа клеток тонкой кишки крысы подтверждена и в работе

J.S. Thompson et al. [24]. Конструкции из матрикса в форме высокопористой трубки из полигликолиевой и полимолочной кислот, покрытые коллагеном I типа и засеянные ОЕ, спустя 4 недели после помещения в сальник формировали ТИТК. В ней идентифицировали 4 типа клеток, представленных в норме в эпителии кишки. Помимо эпителия ТИТК содержала кровеносные сосуды, гладкие миоциты, нервную ткань и субэпителиальные миофибробласты. Хотя в ТИТК показано присутствие нейронов, специальные исследования на наличие перистальтики предприняты не были [20].

Участие ОЕ, точнее КСК, изолированных из крипт, в регенерации кишечника также подтверждено экспериментально в работе F.G. Sala et al. [19]. Полигликолиевые матриксы, заселенные органоидами, полученными из прекультивированных с ростовыми факторами КСК крипт кишечника гетерозиготных Lgr5-EGFP-cre/ERT2 мышей, через 4 недели после трансплантации в сальник NOD/SCID мышей стали больше и приняли сферическую форму. Гистологически сформированная структура напоминала тонкую кишку. Хорошо дифференцировалась слизистая с бокаловидными и клетками Панета, ворсинкоподобными структурами, направленными в просвет, микроворсинками из поглощающих энтероцитов, энтероэндокринных клеток и множеством кровеносных сосудов. Вокруг сформированного эпителия были обнаружены нервные клетки. Однако мышечный слой был явно недостаточным.

Авторы отмечают, что МСК могут оказаться альтернативой КСК. В этой связи интерес представляет работа G. Totonelli et al. [25], в которой авторы представили результаты трансплантации ТИК на основе коллагенового губчатого матрикса, заселенного МСК, рассматриваемыми в качестве клеток предшественников гладких миоцитов. Анализ образцов ТИТК, пересаженных собакам породы бигль на место резецированного 5-сантиметрового фрагмента тонкой кишки, показал, что через 4 недели вблизи кровеносных сосудов регенерирующей ТИТК визуализируются клетки, положительно окрашивающиеся антителами к α -гладкомышечному актину, которые, однако, исчезают к 16 неделе. В стенке кишки обнаруживался только тонкий мышечный слой, лежащий непосредственно под регенерирующей слизистой.

Как отмечено выше, в тканевой инженерии используют матриксы не только искусственного, но и природного происхождения, к которым, в частности, относятся матриксы, полученные децеллюляризацией нативных органов, фактически их соединительнотканый каркас, сохранивший при оптимальном протоколе децеллюляризации его природные функции, нацеленные на поддержание клеточного гомеостаза органа.

Сравнительное исследование матрикса из биорезорбируемого материала и децеллюляризированной ткани в рамках исследуемой темы было проведено в работе S.R. Finkbeiner et al. [8]. Два вида ТИК – бесклеточные матриксы кишки свиньи и человека и матриксы из полигликолиевой и поли-L-молочной

кислот, заселенные ОЕ человека, полученных из эмбриональных стволовых клеток или из индуцированных плюрипотентных клеток, были прекондиционированы *in vitro* в течение 4 недель на предмет оценки участия матриксов в процессе их рецеллюляризации и формирования ТИТК *in vivo* после трансплантации. Было показано, что ТИК на основе полигликолиевых или полилактидных матриксов более пригодны для получения ТИТК вследствие достаточной миграции в толщу матрикса засеянных клеток и, соответственно, числа клеточных типов (энтероциты, бокаловидные клетки, предполагаемые КСК) и их пространственной организации за период прекондиционирования, чем естественные матриксы даже при отсутствии в первых нейронального компонента. ТИК из естественных матриксов, прекондиционированных в культуральной среде, за этот же период – 4 недели – не инициировали миграции засеянных на них ЭСК в толщу матрикса и их дифференцировку в ткань кишки. Исследования полученных прекондиционированных ТИТК из биорезорбируемых матриксов спустя 14 недель после гетеротопической трансплантации иммунодефицитным мышам показало, что, возможно, оптимальным вариантом создания ТИТК является трансплантация ТИК тут же после ее создания. Причем в качестве клеточного компонента конструкции приоритет авторы отдали ОЕ. Действительно, если ТИТК на основании биорезорбируемого матрикса, заселенные ОЕ, через две недели после прекондиционирования *in vitro* еще несли маркеры клеток кишечника, то спустя 14 недель после трансплантации иммунодефицитным мышам они уже не имели кишечного фенотипа. В то же время тождественные, но не прекондиционированные ТИК, немедленно имплантированные сингенным мышам, через 12 недель существенно увеличились в размерах, сформировали кишечную архитектуру, сохранили человеческие клетки с кишечным фенотипом. Были идентифицированы бокаловидные клетки, энтероциты, энтероэндокринные клетки, клетки Панета, пролиферирующие Ki67+ клетки и кишечные стволовые клетки (OLFM4) в криптах, но не S100b+ и не NeuN+ клетки. То есть элементы подслизистого и межмышечного нервных сплетений отсутствовали. Отдавая предпочтение в тканевой инженерии кишки биорезорбируемым матриксам, в частности полилактидным и полигликолевым, авторы допускают, что выбранный метод подготовки (детергентно-ферментной децеллюляризации) природного матрикса был груб и привел к удалению важных ростовых факторов и других сигнальных молекул, необходимых для выживания трансплантата *in vivo*.

Предположение авторов, судя по работе M.K. Chen, S.F. Badyak [5], возможно, верно. Эти авторы показали возможность использования подслизистой кишки в качестве матрикса для закрытия модельных дефектов кишки двух типов: окончатом и трубочатом. Одно- и многослойные матриксы получали механическим удалением слизистой, серозной оболочки и мышечного слоя кишки свиньи. Из 23 проопериро-

ванных собак породы бигль погибли две вследствие несостоятельности кишечного шва, осложненной перитонитом. Выжившие животные питались энтерально, сохраняя массу тела. Через два месяца трансплантированные ТИТК имели структурное сходство с нативной кишкой, хотя выделение слоев было затруднено. Подобная работа была предпринята и J.Q. Wang, Y. Watanabe, A. Toki [28]. Подслизистую оболочку, богатую коллагеном и факторами роста – жизненно важными составляющими процесса регенерации, выполнявшую функцию матрикса, получали из тонкой кишки крыс вида Sprague Dawley после механического удаления слизистой, соединительнотканых оболочек и мышечного слоя [16, 28]. Трансплантированный крысам двухсантиметровый матрикс к 24 неделе не имел спаек с прилежащими тканями, стеноза и был проходим. Стенка его состояла из хорошо развитых трех слоев: слизистого, гладкомышечного и соединительнотканного и была идентична нормальной кишке. Однако количество и организация гладкомышечных волокон слегка отличались от таковых нативной кишки. Слой кольцевых мышц преобладал, а слой продольных мышц отсутствовал. Иммуногистохимическое окрашивание показало отсутствие иннервации, требующей, возможно, большего времени [28].

Не менее интересные результаты, характеризующие матрикс децеллюляризированной кишки как возможный оптимальный компонент ТИК, были представлены M. Nakao et al. [16]. Авторы показали, что использование подобного матрикса для закрытия дефекта кишки размером 2,7 см у собак массой 11–16 кг на противобрыжечном крае, то есть без повреждения сосудистого русла, оказалось достаточным для формирования нормальной слизистой с микроворсинками на собственной пластинке, слоем гладких миоцитов, сосудов и нервных волокон.

Таким образом, СКК является важной проблемой как в педиатрии, так и для взрослого населения в связи с высокой частотой серьезных осложнений, летальных исходов и социально-экономических последствий. Ведение таких пациентов представляет собой сложную задачу, требующую междисциплинарного подхода (участия гастроэнтеролога, хирурга, диетолога) и больших экономических расходов. Хирургические методы лечения, несмотря на свою эффективность, имеют свои ограничения и требуют смежных вмешательств, способствующих адаптации кишечника к новым условиям. В этом контексте привлекательной становится разработка новых стратегий лечения, направленных на устранение зависимости от полного парентерального питания и на преодоление существующих ограничений. Считаем, что в будущем именно тканевая инженерия способна предложить новые типы протезов для тонкого кишечника с оптимально подобранными матрицей и органоспецифическими клетками самого пациента для обеспечения персонифицированного подхода в хирургии.

Литература

1. Александров, В.Н. Тканеинженерные сосудистые трансплантаты / В.Н. Александров, Г.Г. Хубулава, В.В. Леванович // Педиатр. – 2015. – Т. 6, № 1. – С. 87–96.
2. Хасанов, Р.Р. Методики аутогенной хирургической реконструкции тонкой кишки при синдроме короткой кишки / Р.Р. Хасанов [и др.] // Пермский медицинский журн. – 2015. – № 32 (4). – С. 104–115.
3. Baimakhanov, Z. Generation tissue-engineered intestinal epithelium from cultured Lgr5 stem cells in vivo / Z. Baimakhanov [et al.] // Regenerative Therapy. – 2016. – № 5. – P. 46–48.
4. Bianchi, A. Intestinal loop lengthening – a technique for increasing small intestinal length / A. Bianchi // J. Pediatric surgery. – 1980. – № 15. – P. 145–151.
5. Chen, M.K. Small bowel tissue engineering using small intestinal submucosa as a scaffold / M.K. Chen, S.F. Badylak // Journal of surgical research. – 2001. – № 99. – P. 352–358.
6. Choi, R.S. Preliminary studies of tissue-engineered intestine using isolated epithelial organoid units on tubular synthetic biodegradable scaffolds / R.S. Choi, J.P. Vacanti // Transplantation proceedings. – 1997. – № 29. – P. 848–851.
7. Evans, G.S. The development of a method for the preparation of rat intestinal epithelial cell primary cultures / G.S. Evans [et al.] // Journal of cell science. – 1992. – № 101. – P. 219–231.
8. Finkbeiner, S.R. Generation of tissue-engineered small intestine using embryonic stem cell-derived human intestinal organoids / S.R. Finkbeiner [et al.] // Biology open. – 2015. – № 4. – P. 1462–1472.
9. Fishman, J.A. Infections in immunocompromised hosts and organ transplant recipients: essentials / J.A. Fishman // Liver transpl. – 2011. – Suppl 3. – P. 34–37.
10. Grikscheit, T.C. Tissue-engineered small intestine improves recovery after massive small bowel resection / T.C. Grikscheit [et al.] // Annals of Surgery. – 2004. – № 240. – P. 748–754.
11. Hori, Y. Experimental study on tissue engineering of the small intestine by mesenchymal stem cell seeding / Y. Hori [et al.] // Journal of surgical research. – 2002. – № 102. – P. 156–160.
12. Kim, E.S. Teduglutide: a review in short bowel syndrome / E.S. Kim, S.J. Keam // Drugs. – 2017. – № 77. – P. 345–352.
13. Kim, H.B. Serial transverse enteroplasty for short bowel syndrome: a case report / H.B. Kim [et al.] // Journal of pediatric surgery. – 2003. – № 38. – P. 881–885.
14. Levin, D.E. Human tissue-engineered small intestine forms from postnatal progenitor cells / D.E. Levin [et al.] // Journal of pediatric surgery. – 2013. – № 48. – P. 129–137.
15. Mohamed, M.S. Intestinal stem cells and stem cell-based therapy for intestinal diseases / M.S. Mohamed, Y. Chen, C-L Yao // Cytotechnology. – 2015. – № 67. – P. 177–189.
16. Nakao, M. Proposal of intestinal tissue engineering combined with Bianchi's procedure / M. Nakao [et al.] // Journal of pediatric surgery. – 2015. – № 50. – P. 573–580.
17. Perez, A. Tissue-engineered small intestine / A. Perez, [et al.] // Transplantation. – 2002. – № 74. – P. 619–623.
18. Sala, F.G. Tissue-engineered small intestine and stomach form from autologous tissue in preclinical large animal model / F.G. Sala [et al.] // Journal of surgical research. – 2009. – № 156. – P. 205–212.
19. Sala, F.G. A multicellular approach forms a significant amount of tissue-engineered small intestine in the mouse / F.G. Sala [et al.] // Tissue engineering. – 2011. – № 17. – P. 1841–1850.
20. Sigalet, D.L. Short bowel syndrome in infants and children: an overview / D.L. Sigalet // Seminars in pediatric surgery. – 2001. – № 10. – P. 49–55.
21. Spencer, A.U. Pediatric short-bowel syndrome: the cost of comprehensive care / A.U. Spencer [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2008. – № 88. – P. 1552–1559.
22. Spencer, A.U. Pediatric short bowel syndrome. Redefining predictors of success / A.U. Spencer [et al.] // Annals of surgery. – 2005. – № 242. – P. 403–412.
23. Spurrier, R.G. Tissue engineering the small intestine / R.G. Spurrier, T.C. Grikscheit // Clinical gastroenterology and hepatology. – 2013. – № 11. – P. 354–358.
24. Thompson, J.S. Surgical approach to short-bowel syndrome: experience in a population of 160 patients / J.S. Thompson [et al.] // Annals of surgery. – 1995. – № 222. – P. 600–607.
25. Totonelli, G. A rat decellularized small bowel scaffold that preserves villus-crypt architecture for intestinal regeneration / G. Totonelli [et al.] // Biomaterials. – 2012. – № 33. – P. 3401–3410.
26. Vanderhoof, J. A. Short-bowel syndrome in children and adults / J.A. Vanderhoof, A. N. Langnas // Gastroenterology. – 1997. – № 113. – P. 1767–1778.
27. Wales, P.W. Short bowel syndrome: epidemiology and etiology / P.W. Wales, E.R. Christison-Lagay // Seminars in pediatric surgery. – 2010. – № 19. – P. 3–9.
28. Wang, Z.Q. Experimental assessment of small intestinal submucosa as a small bowel graft in a rat model / Z.Q. Wang, Y. Watanabe, A. Toki // Journal of pediatric surgery. – 2003. – № 38. – P. 1596–1601.

A.V. Kosulin, L.N. Beldiman, S.V. Kromsky, A.A. Kokorina, E.V. Mikhailova, M. O. Sokolova, A.V. Kriventsov, V.N. Aleksandrov

Tissue engineering for compensating short bowel syndrome

Abstract. Short bowel syndrome is an important clinical problem characterized by a high incidence of serious complications, deaths and socioeconomic consequences. Parenteral nutrition provides only a temporary solution without reducing the risk of complications. This applies equally to surgical treatment, in particular to small intestine transplantation and related concomitant interventions, which only facilitate the adaptation of the intestine to new conditions. Potential approaches have been analyzed in the treatment of the syndrome of the small intestine, which can be offered by dynamically developing tissue engineering. Various types of carriers and cell types that are used in experiments for obtaining tissue engineering designs of the intestine are discussed. A wide range of variants of such constructions is analyzed that can lead to obtaining an organ prosthesis with a cellular organization and mechanical stability similar to those of the native small intestine, which will ensure the necessary biocompatibility. It is established that one of the optimal carriers for today are extracellular matrices obtained by decellularization of the native small intestine. This process allows to preserve the microarchitecture of the small intestine, which greatly facilitates the process of filling the matrix with cells both in vitro and in vivo. It has also been established that mesenchymal stromal multipotent cells and organoid units obtained from the tissue of the native small intestine are particularly prominent among the most promising participants in the cellular ensemble.

Key words: short bowel syndrome, malabsorption, tissue engineering, decellularization, organoid units, mesenchymal stem cells, matrix, recellularization.

Контактный телефон: +7 921 935 74 66; e-mail: vnaleks9@yandex.ru