КЛЕТОЧНАЯ И ТКАНЕВАЯ ТЕРАПИЯ СЕРДЦА

УДК 616.127

Щербак С.Г.[1, 2], Лисовец Д.Г.[2], Сарана А.М.[1, 2], Макаренко С.В.[1, 2], Камилова Т.А.[2], Голота А.С.[2], Снегирев М.А.[2]
[1]Кафедра последипломного медицинского образования Медицинского факультета СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия
[2]СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Санкт-Петербург, Россия

CELL AND TISSUE THERAPY OF HEART

Scherbak S.G.[1, 2], Lisovets D.G.[2], Sarana A.M.[1, 2], Makarenko S.V., Kamilova T.A.[2], Golota A.S.[2], Snegirev M.A.[2]
[1]Department of postgraduate medical education, Faculty of Medicine, St. Petersburg, Russia
[2]St. Petersburg City hospital №40, St. Petersburg, Russia

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания в настоящее время являются ведущей причиной смерти в мире и, согласно прогнозам, будут оставаться таковыми в течение следующего десятилетия. Отсутствие значимой эндогенной регенеративной способности сердца диктует необходимость разработки терапевтических вмешательств для регенерации или замены поврежденной ткани и восстановления функциональных свойств миокарда. В настоящее время золотым стандартом лечения пациентов с терминальной стадией сердечной недостаточности является трансплантация сердца, но число реципиентов сильно ограничено нехваткой доноров [1, 2], однако донорские сердца часто повреждаются в результате заболевания или реанимационных действий [3]. Поэтому существует большая потребность в разработке методов лечения, которые предотвращают развитие терминальной стадии сердечной недостаточности.

Клеточная терапия сердца

Учитывая большое количество клеток, утраченных вследствие инфаркта миокарда (ИМ) – до 25% от массы левого желудочка (ЛЖ) в течение нескольких часов после ИМ, существует потребность в разработке методов эффективной и стабильной регенерации поврежденного органа. Для достижения этой цели во многих случаях клеточной терапии при остром ИМ стволовые клетки (СК) имплантировали в сердце через коронарную артерию. Эта стратегия ограничена сложностью регулирования расположения трансплантированных клеток и плохим приживлением [4]. Более15 лет назад предложена инъекция СК непосредственно в миокард (клеточная кардиомиопластика или клеточная терапия сердца). Все типы СК взрослых прошли доклинические исследования, в большинстве случаев проведены крупномасштабные клинические испытания их эффективности и безопасности [1].

Для прямой инъекции в миокард были использованы СК аутологичного костного мозга (КМ), том числе мононуклеарные клетки, СК c-kit+, мезенхимальные СК (МСК) и эндотелиальные клетки-предшественники (ЭКП) [5]. Однако положительные эффекты клеток КМ оказались временными вследствие их ограниченной дифференцировки в кардиомиоциты. Считается, что улучшение сердечной функции после инъекции таких клеток является результатом их паракринных эффектов, таких как неоваскуляризация и цитопротекция резидентных клеточных популяций. Исследования на животных показали, что ~17% клеток выжили при интрамиокардиальной доставке, причем этот процент увеличился до 75%, когда клетки вводили в течение 1 часа с момента индукции ИМ. В дальнейшем патофизиологическая среда не имеет клинического значения, поскольку пациенты получат трансплантат в течение нескольких дней в лучшем случае. Хотя доклинические исследования дали положительные результаты в отношении включения и механической интеграции СК в миокард реципиента, клинические испытания показали, что улучшение функции миокарда в большинстве случаев временное и ассимиляция донорских клеток тканью реципиента часто приводит к аритмогенным событиям, которые увеличивают заболеваемость и смертность пациентов [1].

Основные успехи последних лет достигнуты благодаря стратегии линейного репрограммирования фибробластов (обычно фибробластов кожи) в функциональные кардиомиоциты с помощью ретровирусной трансфекции генов транскрипционных факторов (ТФ) [1]. В рандомизированном клиническом исследовании фазы I инъекции резидентных сердечных СК в сердца пациентов наблюдалось уменьшение фиброзной рубцовой ткани, но к увеличению фракции выброса оно не привело [6]. Недостат-

ком этого типа клеток является низкое постимплантационное приживление [7]. Кардиомиоциты, полученные из индуцированных плюрипотентных СК человека (human induced pluripotent stem cells, iPSC), при трансплантации в моделях ИМ у грызунов показали функциональную интеграцию с тканью хозяина [8], но клинические испытания еще не проведены.

«Голая» клеточная кардиомиопластика не приводит к стабильному восстановлению электромеханических свойств сердца из-за низкого приживления клеток в ткани реципиента. Новый подход, позволяющий преодолевать это ограничение, состоит в создании биоинженерных трансплантатов сердечной ткани на основе межклеточного матрикса (МКМ), который является посредником при взаимодействии клеток с окружающей тканью и влияет на адгезию, пролиферацию, дифференцировку и миграцию клеток [9]. Тканевая инженерия сердца (ТИС) направлена на воспроизведение микросреды нативной сердечной ткани реципиента путем конструирования и ассимиляции биоинженерной ткани в организме реципиента. МКМ миокарда представляет собой уникальный тканевой каркас, который состоит из функциональных и структурных белков, таких как коллаген, эластин, ламинин, фибронектин, гликопротеины и специфические сигнальные молекулы, пространственно организует ткани и придает цельность органу. Сложная спиральная архитектура коллагеновых и эластиновых волокон связывает кардиомиоциты и обеспечивает слаженные сердечные сокращения, предотвращая чрезмерное растяжение мышечных волокон. Использование МКМ миокарда с сохраненной трехмерной архитектурой облегчит дифференцировку клеток, необходимых для регенерации сердца [10]. Эти свойства делают МКМ привлекательным в качестве опорной конструкции для имплантации регенеративных клеток в поврежденный миокард.

Концепция тканевой инженерии сердца

Тканевая инженерия направлена на создание жизнеспособной ткани сердечной мышцы, которая может быть трансплантирована в травмированное или неправильно сформированное сердце и восстановить его нормальную функцию. Теоретически она имеет ряд преимуществ над клеточной терапией, в частности в отношении эффективности и безопасности, так как СК являются потенциально онкогенными клетками [11]. Идеальный ТИС-конструкт должен отвечать следующим требованиям [1]: 1) совпадать с тканями реципиента по составу МКМ, быть биологически совместимым с тканями организма, не вызывать иммунное отторжение и воспалительную реакцию in vivo, которая приводит к значительной потере клеток конструкта; 2) иметь морфологические свойства, соответствующие нативному миокарду, и клинически релевантную толщину, биоматериал должен способствовать выравниванию кардиомиоцитов и дифференцировке in vitro и in vivo и улучшать сократительные свойства трансплантата; сохранять жизнеспособность до и после имплантации в ткани реципиента; 4) обеспечивать достаточную диффузию кислорода; 5) быть биоразлагаемым с такой скоростью, которая согласуется с уровнем регенерации нативной ткани; 6) способствовать межклеточной адгезии посредством формирования щелевых контактов и мембранных каналов; 7) генерировать силу сжатия в диапазоне нативной ткани, а также поддерживать электрическую интеграцию с тканью реципиента и распространение электрического импульса, синхронно сокращаться с тканями реципиента; 8) обладать механической целостностью, которая обеспечивает механическую поддержку во время трансплантации и регенерации in vivo, и механической жесткостью, которая может немного превышать жесткость фиброзной ткани, чтобы предотвратить разрастание рубца. Кардиомиоциты в тканевом конструкте должны быть удлиненными и выравненными при высокой плотности клеток ~ 10^8 клеток/см^3 и организованы в сосудистой сети с межкапиллярным расстоянием ~ 20 мкм [12]. Этим целям отвечают культивирование клеточного «листа» с носителем или без него с последующим наложением в виде сердечной «заплаты» и децеллюризация нативного сердца с последующей репопуляцией донорскими клетками.

Технология клеточного листа. ***Клеточные листы без каркаса***

Кардиомиоциты, культивируемые на стандартных пластиковых чашках в течение длительного периода, имеют тенденцию отслаиваться от подложки в виде монослойного клеточного листа. В клеточных листах полностью сохраняются структурные и адгезионные белки МКМ, что делает возможным создание ткани наслоением клеточных листов. Когда листы, состоящие из кардиомиоцитов, наслаивают друг на друга, они образуют щелевые контакты, устанавливают электрические соединения и приобретают способность сокращаться in vitro. При трансплантации клеточных листов (патчей) в сердце реципиента клетки сохраняются почти в 10 раз лучше по сравнению с инъекцией в миокард, при этом наблюдаются уменьшение апоптоза кардиомиоцитов и ангиогенез. Патчи из аутологичных кардиомиоцитов улучшили сократимость ЛЖ и сердечную деятельность и уменьшили фиброз после имплантации в инфарктные сердца крыс и свиней, а также в сердца собак в модели сердечной недостаточности. Трансплантация патчей из кардиомиоцитов приводит к значительному уменьшению желудочковой аритмии по сравнению с интрамиокардиальной инъекцией клеток [13, 14]. Преимущества использования сердечных патчей: 1) они могут быть нанесены непосредственно на поврежденную ткань реципиента; 2) позволяют избежать протеолитической потери сердечных клеток и белков клеточной поверхности, которые важны для формирования щелевых контактов и электрической связи; 3) облегчают образование диффузных щелевых соединений и в то же время способствуют плотной цитоархитектуре сердечной ткани; 4) способствуют васкуляризации благодаря непосредственному контакту сердечных патчей с тканью реципиента и их ангиогенным свойствам, продемонстрированным в доклинических исследованиях.

Использование смешанной популяции кардиомиоцитов и эндотелиальных клеток (ЭК) для формирования патча улучшает сердечную функцию и ангиогенез и уменьшает фиброз, как и многослойные конструкты, в которых листы кожных фибробластов чередуются с листами из ЭК. Фибробласты генерируют МКМ, который стимулирует рост кардиомиоцитов желудочка [15]. Кардиомиоциты не только функционируют как сократительные элементы, но и секретируют ангиогенные факторы роста, особенно в гипоксическом состоянии [16]. Наиболее разработанной стратегией является трансплантация листов аутологичных скелетных миобластов (СМ), устойчивых к ишемии и способных дифференцироваться в клетки немиоцитарных линий, эффективность их трансплантации доказана экспериментально при различных видах повреждения сердца [17]. Имплантация 5 четы-

рехслойных листов аутологичных СМ в разные участки сердца улучшила сердечную функцию и клиническое состояние пациента с дилатационной кардиомиопатией, через год после имплантации было решено удалить кардиостимулятор, который использовался до операции [18]. Используя листы, полученные в совместной культуре сердечных клеток с ЭК, H. Sekine и соавт. [19] создали трехмерную сердечную ткань путем наложения нескольких клеточных листов и культивирования конструкта в биореакторе. ЭК образуют трубчатые просветы, которые, соединяясь с капиллярами, создают в патчах перфузируемые кровеносные сосуды. Такая ткань сокращается спонтанно и может быть успешно имплантирована с прямым анастомозом сосудов.

Основным механизмом улучшения сердечной функции являются аутокринно-паракринные эффекты цитокинов, секретируемых трансплантированными клетками, которые способствуют их приживлению и последующему функционированию. СМ индуцируют ангиогенез и ослабляют избыточное образование фиброзной ткани после ИМ в основном за счет продукции факторов VEGF(vascular endothelial growth factor) и HGF (hepatocyte growth factor). Белок VCAM (vascular cell adhesion molecule), секретируемый сердечными клетками-предшественниками, способствует миграции ЭК, предотвращает повреждение кардиомиоцитов оксидантным стрессом и стимулирует приживление клеток после трансплантации в сердце. Листы сердечных клеток, включая кардиомиоциты, эндотелиальные и интрамуральные клетки, способствуют ангиогенезу в инфарктном миокарде, что приводит к улучшению сердечной функции. В клеточных листах, состоящих из кардиомиоцитов, фибробластов и ЭК из сердца новорожденных крыс, трансплантированных в подкожную ткань, наблюдали зрелые сосуды, состоящие из ЭК клеточных листов и клеток, происходящих из тканей реципиента [17, 20].

Патчи на основе децеллюризированного миокарда. В качестве альтернативы цельно-органной стратегии ТИС с целью исправления дефекта миокарда используют тонкие срезы полностью децеллюризированного миокарда свиньи, крысы и человека как носителя для репаративных клеток. Кардиомиоциты в трехмерной сердечной ткани достигают более высокой степени зрелости, поэтому такая ткань более стабильна, чем клеточный лист [11, 21]. Клеточно-матриксные каркасы, собранные из децеллюризированных листов миокарда и фибринового гидрогеля, засевали МСК КМ и имплантировали крысам с ИМ. Отмечена усиленная миграция МСК в ишемический миокард. Через 4 недели после имплантации в зоне инфаркта заметно усиливается ангиогенез и артериогенез, наблюдается увеличение размера и числа кровеносных сосудов. Размеры патча по ширине и длине теоретически не ограничены, однако васкуляризация и перфузия *in vitro* являются обязательным требованием к мышечной ткани, которая для исправления большого рубца миокарда должна быть несколько миллиметров толщиной. Патч имплантируют таким образом, чтобы его края находились в контакте со здоровым миокардом, при этом происходит электрическое соединение между сердцем реципиента и трансплантатом, достаточное для распространения электрического импульса и для усиления проводимости через зону инфаркта в клетках реципиента, спасенных паракринным эффектом [11].

Патчи из подслизистой основы мочевого пузыря или тонкого кишечника применяют в экспериментальных моделях болезни сердца, однако только тканеспецифичный МКМ, то есть МКМ миокарда идеально подходит для регенеративной терапии сердца. МКМ децеллюризированного миокарда имеет ряд преимуществ, в том числе сохранение трехмерной архитектуры и элементов сердечной ткани, связанных с поддержкой и дифференцировкой клеток. Срезы ЛЖ человека и свиньи 300 мкм толщиной децеллюризировали, затем полученные бесклеточные каркасы рецеллюризировали in vitro МСК или мышиными кардиомиоцитами, дифференцированными из iPSC. Кардиомиоциты синхронно сокращались после посева на матрикс, причем сокращение было достаточно сильным, чтобы привести к видимому движению матриксных пластин [22]. Однако эти тонкие бесклеточные пластинки обеспечивают лишь ограниченные возможности регенерации. В настоящее время исследователи сосредоточились на оптимизации процедуры децеллюризации более толстых (10–15 мм) пластин из ткани миокарда, сохраняющими васкулатуру. Полученные перфузионной децеллюризацией толстые бесклеточные пластины МКМ свиного миокарда, сохраняющие ультраструктурные свойства нативной ткани и внутренней сосудистой сети, жестче, чем нативные ткани, но заселенные соответствующими клетками, эти каркасы могут служить в качестве биомедицинских конструктов для трансмуральной трансплантации и замены постинфарктного рубца [23]. Сердечный конструкт должен: 1) быть достаточно толстым, чтобы сокращаться с соответствующей силой согласованно с сердечной стенкой, 2) пульсировать синхронно с соседними кардиомиоцитами, 3) не генерировать воспалительные реакции, 4) продуцировать тканеспецифичный МКМ, 5) клинически релевантно улучшать сердечную функцию [24].

На моделях острого и хронического ИМ показано, что патчи на основе бесклеточного МКМ стимулируют значительное улучшение функции сердца, которое коррелирует с привлечением клеток-предшественников, экспрессирующих ранние и поздние маркеры кардиомиоцитарной дифференцировки. При этом патч быстро васкуляризируется и индуцирует процесс конструктивного ремоделирования. Таким образом, бесклеточные патч-имплантаты сами по себе, без добавления биопрепаратов, биологически активны и стимулируют восстановление сердечной функции на основе предшественников кардиомиоцитов даже после того, как сформировалась рубцовая ткань [25].

Децеллюризация сердца

Одной из ключевых проблем использования децеллюризированных органов является иммунный ответ реципиента на клеточные белки и ДНК донорского органа. Конечная цель децеллюризации – удаление всего клеточного материала без ущерба для состава, механических свойств и биологической активности МКМ. В процессе децеллюризации клетки разрушаются и отделяются от МКМ. Поток детергента вымывает из сердца растворимые биомолекулы и клеточный материал, оставляя только МКМ (структурные белки и сигнальные молекулы, важные для направления регенерации ткани после рецеллюризации). Методы децеллюризации различаются комбинацией ионных и неионных детергентов, хелатирующих агентов и ферментов. Для разрушения клеточных мембран, высвобождения и удаления клеточного содержимого из МКМ используют ретроградную аортальную или антеградную коронарную перфузию децеллюризирующих растворов [9], ультразвук [10, 23], встряхивание [23], осмотический шок [9], замораживa-

ние и оттаивание [26]. Обычно для децеллюризации используют анионные детергенты додецилсульфат натрия (SDS) и дезоксихолат натрия, неионный детергент Тритон X-100 (TX100), а также ферменты трипсин и ДНКазу [1, 2, 9, 23, 27]. Обработка ДНКазой – традиционный способ удаления остаточной ДНК из децеллюризированной ткани, но инкубация детергентно децеллюризированного МКМ в среде с телячьей сывороткой является недорогой и удобной альтернативой для устранения остаточной ДНК [22]. Некоторые авторы считают, что достаточно удаления ДНК детергентами и присутствие малых количеств ДНК (<50 нг/мг лиофилизованной ткани) не является препятствием для предотвращения иммуногенности [28]. Технология децеллюризации и рецеллюризации сердца крысы воспроизведена для крысиных [29, 30], мышиных [31], свиных [10, 32] и человеческих сердец [22, 27].

В поиске идеального протокола группа P. Akhyari [33] провела прямое сравнение различных протоколов децеллюризации сердца на гистологическом и биохимическом уровне с протоколом, разработанным ими для децеллюризации ткани миокарда. Чтобы исключить различия перфузии, связанные с обработкой ткани, все сердца были децеллюризированы при одинаковых условиях в перфузионной системе, контролируемой с использованием программного обеспечения.

Протокол I. Сердца крыс перфузировали гепаринизированным фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБ), содержащим аденозин, затем раствором SDS в деионизированной воде (ДВ), промывали ДВ, перфузировали раствором TX100 в ДВ и ФСБ с антибиотиками. Полученные каркасы засеяли кардиомиоцитами новорожденных крысят интрамуральной инъекцией и через 8 дней получили пульсирующие сердца.

Протокол II. Сердца свиней замораживали при –80°C, через 16 ч оттаивали в воде для лизиса клеток и помещали в циркулирующий гипотонический раствор. Гипотонический раствор заменяли ФСБ. Затем сердце последовательно перфузировали раствором трипсина/этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА)/NaN_3 в ФСБ, раствором TX100, раствором дезоксихолевой кислоты, 0,1% уксусной кислотой. После каждого раствора сердца промывали ДВ для удаления остатков детергентов.

Протокол III. После первого этапа перфузии сердца раствором NaCl/глицерина/NaN_3/ ЭДТА продолжили перфузию раствором дезоксихолевой кислоты/NaN_3 в ДВ, затем раствором NaCl/глицерина/NaN_3/ ЭДТА, затем раствором SDS/NaN_3, затем раствором TX100 и NaN_3 в ДВ. На последнем этапе каркас промывали ФСБ с антибиотиками.

Протокол IV. Перфузию начинали гепаринизированным ФСБ с аденозином, продолжали раствором SDS/дезоксихолевой кислоты/NaN_3 в ДВ; затем раствором NaCl/глицерина /NaN_3/ЭДТА; затем раствором сапонина/NaN_3 в ДВ; затем снова раствором NaCl/глицерина/NaN_3/ЭДТА. Эти этапы чередовались с перфузией ДВ между ними. Для завершения процесса децеллюризации сердца перфузировали раствором ДНКазы в ФСБ.

После децеллюризации анализ стандартных участков сердца (апикальной области, середины желудочка и базальных отделов) обнаружил поразительные различия в микроархитектуре и составе МКМ: высокую гетерогенность МКМ каркасов, полученных по протоколам I и II, а также интактный, сравнимый с нативным, МКМ каркасов, генерируемых по протоколам III и IV. Цитоплазматические остатки полностью отсутствовали только в каркасах, децеллюризированных по протоколу III, небольшие клеточные остатки определены на некоторых срезах МКМ-IV. Количество остаточной ДНК – индикатор качества децеллюризации. Протокол I удаляет 43%, протокол II – 80% нативной ДНК, только протоколы III и IV генерируют каркасы с менее 0,5% содержанием ДНК.

P. Akhyari и др. [33] пришли к выводу, что каждый протокол имеет свои преимущества и недостатки. Сравнение четырех протоколов демонстрирует необходимость тщательного и осторожного удаления клеток, чтобы избежать повреждения МКМ.

U. Sarig и соавт. [23] сравнили эффективность следующих дополнений к детергентно-ферментативному протоколу децеллюризации: 1) децеллюризация при перемешивании и встряхивании; 2) ультразвук, 3) перфузия через коронарную артерию. Все дополнения привели к значительно более эффективной децеллюризации ткани по сравнению с исходным протоколом, особенно 2-й и 3-й варианты. Деградабельный нетоксичный неионный детергент октилглюкопиранозид превосходит SDS и TX100, так как достигает полной децеллюризации, сохраняя структуру и механические функции МКМ, а его способность разрушать мембраны бактерий придает антибактериальные свойства [26].

Человеческие сердца, децеллюризированные коронарной перфузией SDS, сохранили трехмерную геометрию камер, функциональную компетентность клапанов, ориентацию волокон, компоненты МКМ и структуру микрососудов. Децеллюризированное сердце поддерживает прикрепление, выравнивание и выживание МСК КМ на ЛЖ *in vitro* [34].

В структурно-неоднородных органах, таких как сердце, важно сохранить целостность МКМ в наиболее тонких областях (например, клапанах) во время децеллюризации и полностью удалить остатки клеток из более толстых областей. Высокие темпы тока жидкости, необходимые для поддержания физиологического давления, могут растянуть или повредить тонкие ткани, но более низкое давление замедляет процесс и увеличивает вероятность контаминации. Новый ретроградный метод децеллюризации перевернутого свиного сердца уменьшает скорость входящего потока. «Перевернутый» метод показал высокую эффективность коронарной перфузии, лучший отток продуктов распада клеток, более высокое содержание коллагена и эластина в аортальном клапане, более низкое содержание ДНК, а также лучшее поддержание формы сердца после децеллюризации по сравнению с ранее опубликованными методами. Ориентация сердца играет важную роль в оптимизации эффективности децеллюризации и поддержания целостности МКМ. Результаты исследования показывают, что для получения оптимального каркаса для регенерации сердца необходимы непрерывные комплексные измерения в режиме реального времени [35].

Рецеллюризация

Децеллюризированное сердце – идеальный каркас для ТИС, так как засеянные клетки оказываются в такой же микросреде, как и в нативном сердце. Для рецеллюризации сердца предложены многие типы клеток из аутологичных и аллогенных источников, которые могут дифференцироваться в пульсирующие кардиомиоциты: скелетные миобласты, резидентные сердечные СК, мононуклеарные клетки КМ и периферической крови, ГСК и МСК КМ и жировой ткани, iPSC [23, 31, 36]. Кардиомиоциты нужны, чтобы заполнить МКМ сердечной мышцы, фибробласты – для обновления МКМ, ЭК – для выстилки

кровеносных сосудов. Клетки гладкой мускулатуры кровеносных сосудов и клетки, которые контролируют сердечный ритм, также должны быть включены в ТИС. Для обеспечения пациентоспецифичности предпочтительно использование аутологичных клеток; аллогенные клетки должны быть тщательно подобраны по антигенам гистосовместимости [9]. Большинство исследователей использует два или более типов клеток, например, ЭКП для кровеносных сосудов и мышечные предшественники для стенок камер. Теоретически этот подход может обеспечить конструкт полным набором клеточных типов, в том числе клетками сосудов и несколькими разновидностями кардиомиоцитов [3].

M.J. Robertson и др. [29] рецеллюризировали децеллюризированные сердца крыс неонатальными кардиомиоцитами и ЭК аорты. ЭК 7 дней инфузировали через брахиоцефальные артерии (БА), или аорту, или нижнюю полую вену (НПВ), затем в стенку ЛЖ инъецировали кардиомиоциты, через сутки к вершине и основанию каркаса присоединяли электроды, чтобы стимулировать сердечную деятельность. Независимо от способа доставки ЭК выстилали коронарные сосуды и пролиферировали на их стенках, не проникая в паренхиму каркаса. В некоторых случаях ЭК, инфузированные через НПВ и БА, локализованы в одних и тех же сосудах, что свидетельствует о наличии единого кровотока между артериальными и венозными коронарными сосудами в этих каркасах. Репопуляция васкулатуры каркаса ЭК перед рецеллюризацией кардиомиоцитами повысила давление, создаваемое сердцем при электростимуляции, в 6 раз. Эти результаты показывают, что правильное сочетание клеточных типов и порядок их доставки будут иметь решающее значение для оптимальной функции рецеллюризированных цельных органов [29]. Хотя оптимально децеллюризированные каркасы сохраняют биологические сигналы нативного матрикса, важные для рецеллюризации, добавление в среду факторов пролиферации и дифференцировки способствует привлечению, пролиферации, повышению жизнеспособности и индукции направленной кардиоспецифичной дифференцировки СК и ангиогенезу. К критически важным относятся факторы bFGF (basic fibroblast growth factor), TGF1 (transforming growth factor b1, VEGF, HGF, BMP (bone morphogenetic protein),SDF-1 (stromal cell-derived factor 1) и ангиопоэтин-1 [9, 29].

Использование клеток, полученных из iPSC реципиента, в регенеративной медицине – альтернативный вариант для регенерации поврежденного сердца. iPSC практически идентичны эмбриональным СК на уровне экспрессии маркеров плюрипотентности, имеют преимущество неограниченного пролиферативного потенциала и высокоэффективной дифференцировки в кардиомиоциты [17, 37]. Следует отметить, что iPSC способны генерировать тератомы, даже после трансплантации терминально дифференцированных клеток, следовательно, при их использовании остается проблема безопасности.

Васкуляризация – важный аспект при применении цельных органов или МКМ, без которого конструкт не жизнеспособен. Большинство трансплантированных клеток быстро погибает или мигрирует в пограничную с областью инфаркта зону вблизи коронарных сосудов. Для обеспечения достаточного количества кислорода и питательных веществ метаболически активные трансплантаты должны быть снабжены сосудистой сетью, достигающей кардиомиоцитов в пределах не более 200 мкм [24]. Наиболее перспективными клетками являются ЭКП, поскольку они могут непосредственно участвовать в образовании новых сосудов или стимулировать процесс, высвобождая паракринные факторы, а их выживаемость и пролиферативный потенциал выше, чем у терминально дифференцированных ЭК [24, 38], а также МСК, способные дифференцироваться в клетки сосудистой стенки [24].

Для специфической васкуляризации конструкта применяют смешанные клеточные культуры и добавление ангиогенные факторов. Совместное культивирование, целью которого является использование паракринных эффектов между аллотипическими клетками, показало, что добавление не-миогенных клеток улучшает васкуляризацию конструктов *in vivo* в модели ИМ у крыс. Ангиогенные молекулы VEGF, ангиопоэтин-1 и bFGF, ковалентно иммобилизованные на каркасе, синергетически увеличивают пролиферацию засеянных ЭК и способствуют формированию капилляроподобных трубок в модифицированных каркасах [39]. При имплантации в сердце крысы каркасы с иммобилизованным VEGF увеличили ангиогенез по сравнению с неизмененными каркасами и стабильность терапевтического эффекта [40]. Эти исследования показали, что ковалентная иммобилизация ангиогенных факторов роста на каркасах может локализовать и поддерживать активность биомолекул, предотвращая их вымывание или интернализацию клетками, и в конечном итоге повысить эффективность биологически активных молекул. Непрерывная перфузия сосудистой сети ТИС способствует созреванию сосудистой стенки, как это происходит во время эмбрионального развития сосудов. Сочетание пульсирующего перфузионного потока внутри и снаружи сосудистого просвета улучшает транспорт и аэробный метаболизм клеток и способствует продукции МКМ, выравниванию кардиомиоцитов и сохранению их дифференцированного фенотипа, формированию ткани миокарда [41].

Критерии оценки ТИС. Критерий механической поддержки учитывает, выдержит ли ткане-инженерный конструкт механическую нагрузку, а также не будет ли он препятствовать нормальному функционированию окружающих тканей. Неадекватные механические свойства могут привести к серьезным последствиям, вызывая чрезмерную нагрузку на пораженное сердце, если трансплантат слишком жесткий, или отторжение трансплантата, если он недостаточно жесткий. В настоящее время прямое сравнение результатов, полученных в разных медицинских центрах, невозможно из-за больших расхождений в сроках трансплантации и экспериментальных оценках. Кроме того, были использованы различные модельные животные, в том числе крысы, кролики и свиньи. Различаются функциональные и морфологические свойства ТИС, которые измеряют и описывают различные исследовательские группы, методы, с помощью которых эти свойства были измерены, и степень регенерации сердца, которую сочли достаточной. Например, величина фракции выброса варьируется от 12 до 77%. Сроки трансплантации и обязательный набор показателей (толщина стенки ЛЖ, клеточность, типы клеток, степень васкуляризации и др.) должны быть четко определены для каждой модели заболевания сердца.

A. Byron и др. [42] анализировали белки МКМ методами протеомики, и по их оценкам, в МКМ большинства органов насчитывается более 100 белков. J. Barallobre-Barreiro и др. [43] идентифицировали ряд белков, участвующих в ремоделировании сердца, и описали изменения в сердечном МКМ свиньи после ишемии. Перед трансплантацией ТИС важно продемонстрировать, что

адгезионные свойства МКМ не нарушены в процессе децеллюризации вследствие денатурации белка.

Биосовместимость в контексте ТИС включает в себя функционирование ТИС без цитотоксичности. Следует различать биосовместимость как способность материала к выполнению специфических функций и биодеградабельность как механизм, который предопределяет продолжительность жизни имплантируемого материала, однако эти понятия рассматриваются в тандеме, так как мало пользы от биосовместимого материала, который разлагается на токсичные компоненты. Трансплантат на основе децеллюризированного МКМ должен соответствовать этому двойному критерию, а его клетки –заменять МКМ собственными компонентами, тем самым ремоделируя свое окружение по мере необходимости [2].

Клиническое применение ткане-инженерных децеллюризированных сердечных клапанов

Клиническая адаптация регенеративных заменителей клапанов зависит от их функциональности и долговечности. Благодаря хорошей функциональности и отсутствию дегенерации, кальцификации и иммунореактивности, использование децеллюризированных аллотрансплантатов для легочного и аортального клапанов является перспективным, с минимальным возникновением повторных операций и возможностью адаптивного роста [44]. Легко доступные ксеногенные клапаны на основе децеллюризированных свиных клапаны приводят к структурной недостаточности, тяжелому стенозу и необходимости повторной операции у >50% пациентов по причине остаточной иммуногенности [45, 46]. Эти драматические результаты подчеркивают предпочтительность аллогенного материала для клинического применения. Однако, несмотря на огромный прогресс в развитии тканевой инженерии и регенеративный потенциал, продемонстрированный в доклинических исследованиях, клинически значимый продукт еще не реализован. Потребуются дополнительные клинические исследования для выявления потенциальных рисков, таких как канцерогенность и генотоксичность, определения качества (стабильности, пороговых значений для примесей) и эффективности продукта [47].

Заключение

Биомиметическая парадигма ТИС открывает новые перспективы тканевой терапии сердечно-сосудистых болезней. «Реконструированное» сердце может быть использовано для ортотопической трансплантации всего органа или в качестве источника тканей для определенных хирургических операций (замена сердечных клапанов, стенки желудочка и т.д.). В случае ИМ может быть предпочтительным использование патчей миокарда с сохранением толщины и структуры ткани, что позволит упростить операцию, обеспечивая в то же время надлежащую функциональную поддержку. Такие конструкты в состоянии поддерживать засеянные клетки *ex vivo* и *in vivo* и анастомоз с васкулатурой реципиента после трансплантации. Биоинженерный клапан может работать дольше, чем искусственный или донорский, благодаря способности расти вместе с пациентом. Считается, что частичный подход может помочь пациентам с тяжелыми пороками сердца, такими как синдром гипоплазии левых отделов сердца, при котором половина сердца недоразвита [3].

Что касается цельного сердца, текущее состояние этой работы характеризуется тем, что полная атромботическая реэндотелизация ТИС, обеспечивающая функциональное восстановление, еще не достигнута. Основными проблемами ТИС являются необходимость получения больших количеств иммунологически совместимых пациентоспецифичных клеток, реиннервация сердечной мышцы, развитие хирургических методов имплантации ТИС в организм реципиента, предотвращение тромбообразования [9]. Открытыми остаются вопросы: 1) какие типы клеток и их комбинации лучше подходят для ТИС, 2) электромеханическая связь клеток в ТИС для синхронной и стабильной сократительной функции, 3) васкуляризация и интеграция конструкта с тканями реципиента [48].Таким образом, тканевая инженерия сердца находится сегодня на стадии доклинических исследований.

Список литературы:

1. Georgiadis V, Knight RA, Jayasinghe SN, Stephanou A. Cardiac tissue engineering: renewing the arsenal for the battle against heart disease. Integr Biol (Camb). 2014;6(2):111–26. doi: 10.1039/c3ib40097b.
2. Reis LA, Chiu LL, Feric N, Fu L, Radisic M. Biomaterials in myocardial tissue engineering. J Tissue Eng Regen Med. 2016;10(1):11–28. doi: 10.1002/term.1944.
3. Maher B. Tissue engineering: How to build a heart. Nature. 2013;499(7456):20–2. doi: 10.1038/499020a.
4. Matsuura K, Masuda S, Shimizu T. Cell sheet-based cardiac tissue engineering. Anat Rec (Hoboken). 2014;297(1):65–72. doi: 10.1002/ar.22834.
5. Serrao GW, Turnbull IC, Ancukiewicz D, Kim DE, Kao E, Cashman TJ, Hadri L, Hajjar RJ, Costa KD. Myocyte-depleted engineered cardiac tissues support therapeutic potential of mesenchymal stem cells. Tissue Eng. Part A. 2012;18(13–14):1322–33. doi: 10.1089/ten.TEA.2011.0278.
6. Makkar RR, Smith RR, Cheng K, Malliaras K, Thomson LE, Berman D, Czer LS, Marbán L, Mendizabal A, Johnston PV, Russell SD, Schuleri KH, Lardo AC, Gerstenblith G, Marbán E. Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. Lancet. 2012;379(9819):895–904. doi: 10.1016/S0140–6736(12)60195–0.
7. Fukushima S, Sawa Y, Suzuki K. Choice of cell-delivery route for successful cell transplantation therapy for the heart. Future Cardiol. 2013;9(2):215–27. doi: 10.2217/fca.12.85.
8. Zwi-Dantsis L, Huber I, Habib M, Winterstern A, Gepstein A, Arbel G, Gepstein L. Derivation and cardiomyocyte differentiation of induced pluripotent stem cells from heart failure patients. Eur Heart J. 2013;34(21):1575–86. doi: 10.1093/eurheartj/ehs096.
9. Momtahan N, Sukavaneshvar S, Roeder BL, Cook AD. Strategies and processes to decellularize and recellularize hearts to generate functional organs and reduce the risk of thrombosis. Tissue Eng. Part B Rev. 2015;21(1):115–32. doi: 10.1089/ten.TEB.2014.0192.
10. Wang B, Wang G, To F, Butler JR, Claude A, McLaughlin RM, Williams LN, de Jongh Curry AL, Liao J. Myocardial scaffold-based cardiac tissue engineering: application of coordinated mechanical and electrical stimulations. Langmuir. 2013;29(35):11109–17. doi: 10.1021/la401702w.
11. Hirt MN, Hansen A, Eschenhagen T. Cardiac tissue engineering: state of the art. Circ Res. 2014;114(2):354–67. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.300522.
12. Chiu LL, Iyer RK, King JP, Radisic M. Biphasic electrical field stimulation aids in tissue engineering of multicell-type cardiac organoids. Tissue Eng Part A. 2011;17(11–12):1465–77. doi: 10.1089/ten.tea.2007.0244.
13. Kubo H, Shioyama T, Oura M, Suzuki A, Ogawa T, Makino H, Takeda S, Kino-oka M, Shimizu T, Okano T, Yamamori S. Development of automated 3-dimensional tissue fabrication system Tissue Factory – Automated cell isolation from tissue for regenerative medicine. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2013;2013:358–61. doi: 10.1109/EMBC.2013.6609511.
14. Narita T, Shintani Y, Ikebe C, Kaneko M, Harada N, Tshuma N, Takahashi K, Campbell NG, Coppen SR, Yashiro K, Sawa Y, Suzuki K. The use of cell-sheet technique eliminates arrhythmogenicity of skeletal myoblast-based therapy to the heart with enhanced therapeutic effects. Int J Cardiol. 2013;168(1):261–9. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.09.081.
15. Zeng QC, Guo Y, Liu L, Zhang XZ, Li RX, Zhang CQ, Hao QX, Shi CH, Wu JM, Guan J. Cardiac fibroblast-derived extracellular matrix produced in vitro stimulates growth and metabolism of cultured ventricular cells. Int Heart J. 2013;54(1):40–4.

16. Matsuura K, Haraguchi Y, Shimizu T, Okano T. Cell sheet transplantation for heart tissue repair. J Control Release. 2013;169(3):336–40. doi: 10.1016/j.jconrel.2013.03.003.
17. Masumoto H, Matsuo T, Yamamizu K, Uosaki H, Narazaki G, Katayama S, Marui A, Shimizu T, Ikeda T, Okano T, Sakata R, Yamashita JK. Pluripotent stem cell-engineered cell sheets reassembled with defined cardiovascular populations ameliorate reduction in infarct heart function through cardiomyocyte-mediated neovascularization. Stem Cells. 2012;30(6):1196–205. doi: 10.1002/stem.1089.
18. Sawa Y, Miyagawa S, Sakaguchi T, Fujita T, Matsuyama A, Saito A, Shimizu T, Okano T. Tissue engineered myoblast sheets improved cardiac function sufficiently to discontinue LVAS in a patient with DCM: report of a case. Surg Today. 2012;42(2):181–4. doi: 10.1007/s00595–011–0106–4.
19. Sekine H, Shimizu T, Sakaguchi K, Dobashi I, Wada M, Yamato M, Kobayashi E, Umezu M, Okano T. In vitro fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels. Nat Commun. 2013;4:1399. doi: 10.1038/ncomms2406.
20. Kawamura M, Miyagawa S, Miki K, Saito A, Fukushima S, Higuchi T, Kawamura T, Kuratani T, Daimon T, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Feasibility, safety, and therapeutic efficacy of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte sheets in a porcine ischemic cardiomyopathy model. Circulation. 2012;126(11 Suppl 1):S29–37.
21. Wang B, Tedder ME, Perez CE, Wang G, de Jongh Curry AL, To F, Elder SH, Williams LN, Simionescu DT, Liao J. Structural and biomechanical characterizations of porcine myocardial extracellular matrix. J Mater Sci Mater Med. 2012;23(8):1835–47. doi: 10.1007/s10856–012–4660–0.
22. Oberwallner B, Brodarac A, Choi YH, Saric T, Anić P, Morawietz L, Stamm C. Preparation of cardiac extracellular matrix scaffolds by decellularization of human myocardium. J Biomed Mater Res A. 2014;102(9):3263–72.
23. Sarig U, Au-Yeung GC, Wang Y, Bronshtein T, Dahan N, Boey FY, Venkatraman SS, Machluf M. Thick acellular heart extracellular matrix with inherent vasculature: a potential platform for myocardial tissue regeneration. Tissue Eng Part A. 2012;18(19–20):2125–37. doi: 10.1089/ten.TEA.2011.0586.
24. Muscari C, Giordano E, Bonafè F, Govoni M, Guarnieri C. Strategies affording prevascularized cell-based constructs for myocardial tissue engineering. Stem Cells Int. 2014;2014:434169. doi: 10.1155/2014/434169.
25. Sarig U, Sarig H, de-Berardinis E, Chaw SY, Nguyen EB, Ramanujam VS, Thang VD, Al-Haddawi M, Liao S, Seliktar D, Kofidis T, Boey FY, Venkatraman SS, Machluf M. Natural myocardial ECM patch drives cardiac progenitor based restoration even after scarring. Acta Biomater. 2016;44:209–220. doi: 10.1016/j.actbio.2016.08.031.
26. Dong J, Li Y, Mo X. The study of a new detergent (octyl-glucopyranoside) for decellularizing porcine pericardium as tissue engineering scaffold. J Surg Res. 2013;183(1):56–67. doi: 10.1016/j.jss.2012.11.047.
27. Guyette JP, Gilpin SE, Charest JM, Tapias LF, Ren X, Ott HC. Perfusion decellularization of whole organs. Nat Protoc. 2014;9(6):1451–68. doi: 10.1038/nprot.2014.097.
28. Gilbert TW. Strategies for tissue and organ decellularization. J Cell Biochem. 2012;113(7):2217–22. doi: 10.1002/jcb.24130.
29. Robertson MJ, Dries-Devlin JL, Kren SM, Burchfield JS, Taylor DA. Optimizing recellularization of whole decellularized heart extracellular matrix. PLoS One. 2014;9(2):e90406. doi: 10.1371/journal.pone.0090406.
30. Witzenburg C, Raghupathy R, Kren SM, Taylor DA, Barocas VH. Mechanical changes in the rat right ventricle with decellularization. J Biomech. 2012;45(5):842–9. doi: 10.1016/j.jbiomech.2011.11.025.
31. Lu TY, Lin B, Kim J, Sullivan M, Tobita K, Salama G, Yang L. Repopulation of decellularized mouse heart with human induced pluripotent stem cell-derived cardiovascular progenitor cells. Nat Commun. 2013;4:2307. doi: 10.1038/ncomms3307.
32. Merna N, Robertson C, La A, George SC. Optical imaging predicts mechanical properties during decellularization of cardiac tissue. Tissue Eng Part C Methods. 2013;19(10):802–9. doi: 10.1089/ten.TEC.2012.0720.
33. Hülsmann J, Aubin H, Bandesha ST, Kranz A, Stoldt VR, Lichtenberg A, Akhyari P. Rheology of perfusates and fluid dynamical effects during whole organ decellularization: a perspective to individualize decellularization protocols for single organs. Biofabrication. 2015;7(3):035008. doi: 10.1088/1758–5090/7/3/035008.
34. Sánchez PL, Fernández-Santos ME, Espinosa MA, González-Nicolas MA, Acebes JR, Costanza S, Moscoso I, Rodríguez H, García J, Romero J, Kren SM, Bermejo J, Yotti R, Del Villar CP, Sanz-Ruiz R, Elizaga J, Taylor DA, Fernández-Avilés F. Data from acellular human heart matrix. Data Brief. 2016 May 18;8:211–9. doi: 10.1016/j.dib.2016.04.069.
35. Lee PF, Chau E, Cabello R, Yeh AT, Sampaio LC, Gobin AS, Taylor DA. Inverted orientation improves decellularization of whole porcine hearts. Acta Biomater. 2017;49:181–191. doi: 10.1016/j.actbio.2016.11.047.
36. Anversa P, Kajstura J, Rota M, Leri A. Regenerating new heart with stem cells. J Clin Invest. 2013;123(1):62–70. doi: 10.1172/JCI63068.
37. Chow M, Boheler KR, Li RA. Human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes for heart regeneration, drug discovery and disease modeling: from the genetic, epigenetic, and tissue modeling perspectives. Stem Cell Res Ther. 2013;4(4):97. doi: 10.1186/scrt308.
38. Xu S, Zhu J, Yu L, Fu G. Endothelial progenitor cells: current development of their paracrine factors in cardiovascular therapy. J Cardiovasc Pharmacol. 2012;59(4):387–96. doi: 10.1097/FJC.0b013e3182440338.
39. Chiu LL, Iyer RK, Reis LA, Nunes SS, Radisic M. Cardiac tissue engineering: current state and perspectives. Front Biosci (Landmark Ed). 2012;17:1533–50.
40. Miyagi Y, Chiu LL, Cimini M, Weisel RD, Radisic M, Li RK. Biodegradable collagen patch with covalently immobilized VEGF for myocardial repair. Biomaterials. 2011;32(5):1280–90. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.10.007.
41. Massai D, Cerino G, Gallo D, Pennella F, Deriu MA, Rodriguez A, Montevecchi FM, Bignardi C, Audenino A, Morbiducci U. Bioreactors as engineering support to treat cardiac muscle and vascular disease. J Health Eng. 2013;4(3):329–70. doi: 10.1260/2040–2295.4.3.329.
42. Byron A, Humphries JD, Humphries MJ. Defining the extracellular matrix using proteomics. Int J Exp Pathol. 2013;94(2):75–92. doi: 10.1111/iep.12011.
43. Barallobre-Barreiro J, Didangelos A, Schoendube FA, Drozdov I, Yin X, Fernández-Caggiano M, Willeit P, Puntmann VO, Aldama-López G, Shah AM, Doménech N, Mayr M. Proteomics analysis of cardiac extracellular matrix remodeling in a porcine model of ischemia/reperfusion injury. Circulation. 2012;125(6):789–802. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.056952.
44. Sarikouch S, Horke A, Tudorache I, Beerbaum P, Westhoff-Bleck M, Boethig D, Repin O, Maniuc L, Ciubotaru A, Haverich A, Ceabotari S. Decellularized fresh homografts for pulmonary valve replacement: A decade of clinical experience. Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2016. Doi: 10.1093/ejcts/ezw050.
45. Voges I, Brasen JH, Entenmann A, Scheid M, Scheewe J, Fischer G, Hart C, Andrade A, Pham HM, Kramer HH, Rickers C. Adverse results of a decellularized tissue-engineered pulmonary valve in humans assessed with magnetic resonance imaging. Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2013;44:e272–279. doi: 10.1093/ejcts/ezt328.
46. Woo JS, Fishbein MC, Reemtsen B. Histologic examination of decellularized porcine intestinal submucosa extracellular matrix (cormatrix) in pediatric congenital heart surgery. Cardiovasc. Pathol. 2015;25:12–17. doi: 10.1016/j.carpath.2015.08.007.
47. Dijkman PE, Fioretta ES, Frese L, Pasqualini FS, Hoerstrup SP. heart valve replacements with regenerative capacity. Transfus. Med. Hemother. 2016;43(4):282–290.
48. Gálvez-Montón C, Prat-Vidal C, Roura S, Soler-Botija C, Bayes-Genis A. Update: Innovation in cardiology (IV). Cardiac tissue engineering and the bioartificial heart. Rev Esp Cardiol. 2013;66(5):391–9. doi: 10.1016/j.rec.2012.11.012.

РЕЗЮМЕ

Стратегия тканевой инженерии сердца достаточно проста: удалить все клетки из органа, оставить белковый каркас и заселить его стволовыми клетками, иммунологически подобранными для пациента. Хотя разработаны различные успешные методы децеллюризации и продемонстрирована целесообразность использования децеллюризированных цельных сердец, реальность создания цельных сердец для трансплантации и клинического применения децеллюризированных каркасов потребует большого количества исследований, в частности того, как линейно-рестриктированные клетки-предшественники заселяют децеллюризированное сердце и дифференцируются в разные кардиоспецифичные популяции нативного сердца. Каркас сердца не обязательно должен быть человеческим. Сердце свиньи несет все важнейшие компоненты внеклеточного матрикса. Методом проб и ошибок, варьируя концентрации, сроки и силу давления детергентов, исследователи усовершенствовали процесс де-

целлюляризации на сотнях сердец, но это только первый шаг. Далее каркас должен быть заселен человеческими клетками. Большинство исследователей использует смесь двух или более типов клеток, таких как эндотелиальные клетки-предшественники для кровеносных сосудов и мышечные предшественники для стенок камер. Последняя проблема является одной из самых сложных: васкуляризация, помещение ткане-инженерного сердца в живое животное, интеграция с тканями реципиента и поддержание его сокращений в течение длительного времени. Многое еще предстоит сделать, прежде чем ткане-инженерное сердце станет доступным для трансплантации в организм человека.

Ключевые слова: тканевая инженерия сердца, белковый каркас сердца, межклеточный матрикс, стволовые клетки, кардиомиогенные клетки-предшественники, децеллюризация, рецеллюризация, васкуляризация, трансплантация.

ABSTRACT

The strategy of heart tissue engineering is simple enough: first remove all the cells from a organ then take the protein scaffold left behind and repopulate it with stem cells immunologically matched to the patient in need. While various successful methods for decellularization have been developed, and the feasibility of using decellularized whole hearts and extracellular matrix to support cells has been demonstrated, the reality of creating whole hearts for transplantation and of clinical application of decellularized extracellular matrix-based scaffolds will require much more research. For example, further investigations into how lineage-restricted progenitors repopulate the decellularized heart and differentiate in a site-specific manner into different populations of the native heart would be essential. The scaffold heart does not have to be human. Pig hearts carries all the essential components of the extracellular matrix. Through trial and error, scaling up the concentration, timing and pressure of the detergents, researchers have refined the decellularization process on hundreds of hearts and other organs, but this is only the first step. Further, the framework must be populated with human cells. Most researchers in the field use a mixture of two or more cell types, such as endothelial precursor cells to line blood vessels and muscle progenitors to seed the walls of the chambers. The final challenge is one of the hardest: vascularization, placing a engineered heart into a living animal, integration with the recipient tissue, and keeping it beating for a long time. Much remains to be done before a bioartificial heart is available for transplantation in humans.

Keywords: heart tissue engineering, hearts protein scaffold, extracellular matrix, stem cells, cardiomyogenic precursor cells, decellularization, recellularization, vascularization, transplantation.

Контакты:
Щербак Сергей Григорьевич. E-mail: kreml74@mail.ru