

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-4-86-94

МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАТИВНОЙ И ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННОЙ СТЕНКИ АОРТЫ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ В БИОЦИДНЫХ РАСТВОРАХ

М.Б. Васильева¹, Е.В. Кузнецова², Я.Л. Русакова², Е.В. Чепелева², Д.С. Сергеевичев², И.Ю. Журавлева²

¹ Институт медицины и психологии В. Зельмана, Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Российская Федерация

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

Цель. Определить оптимальный метод для длительного влажного хранения донорского материала (50 суток после забора) с максимальной способностью к сохранению исходных механических характеристик. **Материалы и методы.** В качестве объектов исследования использовали фрагменты стенок аорт свиньи. Половина исходного материала была децеллюляризована детергентным методом. Весь материал (нативный и обработанный) был помещен на 50 суток в биоцидные растворы: комплексный спиртовой раствор, смесь этанола и глицерина, смесь антибиотиков. Далее проведены испытания на механическую прочность нативных и децеллюляризованных образцов методом одноосного растяжения в продольном и окружном направлениях. **Результаты.** Хранение нативного материала во всех средах привело к достоверному увеличению значений прочности на разрыв. Так, в группе «комплексный спиртовой раствор» эта величина увеличилась в 1,38 раза, в смеси этанола и глицерина – в 1,72 раза, в «смеси антибиотиков» – в 1,62 раза в сравнении с нативным контролем при окружном растяжении. Также в группе «комплексный спиртовой раствор» децеллюляризованный материал был в 1,57 раза прочнее, чем нативный при окружном растяжении. В группе «смесь антибиотиков» децеллюляризованный материал был в 1,33 раза менее прочным, чем нативный при продольном растяжении. По данным удлинения до разрыва достоверно большая пластичность отмечалась в группе хранения «этанол–глицерин» у децеллюляризованной стенки аорты в сравнении с контрольной группой (в 1,5 раза). Значения модуля Юнга достоверно не отличались от контрольных значений во всех экспериментальных группах вне зависимости от направления растяжения. При этом четко прослеживалась тенденция к повышению жесткости децеллюляризованных образцов при растяжении в окружном направлении. **Заключение.** Децеллюляризация стенки аорты свиньи детергентным методом и последующее хранение данных образцов в выбранных нами экспериментальных растворах в течение 50 суток достоверно не влияет на упругостные свойства материала. Предложенные нами методы обработки частично увеличивают жесткость материала после хранения в спиртосодержащих растворах.

Ключевые слова: модуль Юнга, прочность на разрыв, ксенографты, биопротезирование.

Для корреспонденции: Васильева Мария Борисовна. Адрес: 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1. Тел. (913) 930-15-18. E-mail: vasilievam@yandex.ru

Corresponding author: Maria Vasilyeva. Address: 1, Pirogova str., Novosibirsk, 630090, Russian Federation. Phone: (913) 930-15-18. E-mail: vasilievam@yandex.ru

MECHANICAL PROPERTIES OF NATIVE AND DECELLULARIZED AORTIC WALL AFTER LONG-TERM STORAGE IN BIOCIDAL SOLUTIONS

M.B. Vasilyeva¹, E.V. Kuznetsova², Ya.L. Rusakova², E.V. Chepeleva², D.S. Sergeevichev², I.Yu. Juravleva²

¹ Zelman Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

² Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Objective: to determine the optimal method for long-term wet storage of donor material (50 days after collection), with maximum ability to preserve the original mechanical characteristics. **Materials and methods.** Porcine aortic wall fragments were used as objects of study. Half of the original material underwent detergent-based decellularization. The entire material (native and processed) was placed for 50 days in biocidal solutions: complex alcohol solution; ethanol and glycerol mixture; antibiotics mixture. Then the tests for mechanical strength of native and decellularized samples were carried out by the method of uniaxial longitudinal and circumferential stress. **Results.** Storage of native material in all media resulted in a significant increase in tensile strength. In the «complex alcohol solution», «ethanol and glycerol mixture», and «antibiotic mixture» group, tensile strength increased by 1.38-, 1.72- and 1.62-fold compared to the native control in circumferential tension. Also, in the «complex alcohol solution» group, the decellularized material was 1.57-fold stronger than the native in circumferential tension. In the «antibiotic mixture» group, the decellularized material was 1.33-fold less strong than the native in longitudinal tension. According to elongation to rupture data, significantly greater plasticity was noted in the «ethanol-glycerol» storage group for the decellularized aortic wall compared to the control group (1.5-fold). Young's modulus did not reliably differ from those of control in all experimental groups regardless of the stress direction. Notably, decellularized specimens clearly tended to be stiffer under circumferential stress. **Conclusion.** Detergent-based decellularization of the porcine aortic wall and subsequent storage of these samples in our chosen experimental solutions for 50 days does not significantly affect the elastic properties of the material. Our proposed treatment methods partially increase the stiffness of the material after storage in alcohol-containing solutions.

Keywords: *Young's modulus, tensile strength, xenografts, bioprosthesis.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одним из широко используемых методов хирургического лечения патологии клапанов и ствола аорты, и легочной артерии является протезирование различными клапаносодержащими кондуитами [1–3]. Золотым стандартом для замены поврежденных элементов сердечно-сосудистой системы является аллогенный донорский материал. Он имеет сходные гемодинамические характеристики с нативными клапанами, низкую тромбогенность и устойчив к потенциальному инфицированию [4, 5]. Кроме того, именно данный тип имплантатов обеспечивает минимальный риск реопераций по причине структурной деградации [1, 5–7].

Основными типами сосудистых и клапанных каркасов для тканевой инженерии являются естественные каркасы (децеллюляризованная ткань и материалы биологического происхождения) и синтетические конструкции, изготовленные из биоразлагаемых полимеров [5, 8]. Основное преимуществодецеллюляризованных биологических матриц состоит в сохранении механической анизотропии нативных клапанов и строении сосудистой стенки, что спо-

собствует их рецеллюляризации клетками самого реципиента [6].

Современные подходы к разработке методов продления сроков службы донорских клапанов включают в себя улучшение конструктивных характеристик, оптимизацию методов предимплантационной обработки, исследование факторов, влияющих на сохранение структурной организации соединительно-тканного каркаса (СТК) и его исходных физико-механических свойств [6, 9].

На подготовительном этапе (до имплантации пациенту) аллогraft, как правило, либо подвергают криоконсервации, либо хранят в растворе антибактериальных и фунгицидных препаратов. Однако анализ современного состояния проблемы показывает отсутствие единого подхода к способу длительного сохранения протезного материала. При нарушении методики замораживания и/или оттаивания материала возможно появление зон микро- и макроповреждения структуры аллогraftа, которые могут быть обнаружены только на хирургическом этапе или же скажутся на скорости деградации СТК и кальцификации graftа после его установки [10–12]. Использование «влажного» хранения в коктейле антибиотиков

без криоконсервации способствует снижению частоты реопераций, связанных с ранним повреждением протеза [7]. Однако на практике «влажное» хранение аллогraftов в растворе антибиотиков применяется лишь в течение короткого срока – 2–14 дней [13, 14]. Также известно, что остаточные количества противомикробных препаратов в ткани аллогraftа могут являться причиной развития аллергических постимплантационных реакций или маскировать развитие инфицирования аллогraftа в послеоперационном периоде [15].

Согласно мировым тенденциям, большинство разработчиков отдает предпочтение замораживанию материала [6, 12]. Однако разработка надежного способа длительного влажного хранения позволит избежать негативных влияний процессов, связанных с криоконсервацией. В рамках изучения данной тематики ранее нами были выбраны биоцидные растворы, пригодные для длительного «влажного» хранения экспериментального материала [16].

Целью данной работы явилась оценка влияния децеллюляризации и последующего длительного (50 суток) хранения в биоцидных растворах различного состава на механические свойства тканей аорты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Состав исследуемых растворов

I – комплексный спиртовой раствор (КСР): смесь, содержащая 1,2-октандиол, феноксиэтанол, сорбиновую кислоту (1%) и этанол (20%) [17].

II – смесь антибиотиков (АБ): культуральная среда RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия), метронидазол 0,27 мг/мл, гентамицин 0,53 мг/мл, цефазолин 6,66 мг/мл, ампициллин 2,22 мг/мл, оксациллин 1,11 мг/мл, флуконазол 0,027 мг/мл. После первых 48 ч раствор заменен на аналогичный свежий раствор.

III – смесь этанола и глицерина (С-Г): этанол (10%) и глицерин (20%) в культуральной среде RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия).

Получение и децеллюляризация тканей аорты

Фрагменты аорты свиней (дуга и нисходящий отдел) длиной 25–30 см забирали в цехе убоя скота мясокомбината. Полученные образцы помещали в охлажденный стерильный 0,9% раствор натрия хлорида и транспортировали в лабораторию.

Стенку аорты очищали от остатков прилегающих тканей и разрезали на несколько трубчатых фрагментов длиной 6–7 см. Половина полученных фрагментов была подвергнута детергентной децеллюляризации.

Весь цикл удаления клеток и последующей отмывки выполняли в орбитальном термощейкере при 37 °С (Heidolf, Германия). Биоматериал на 24 ч погружали в стерильный фосфатно-солевой раствор (рН = 7,4), содержащий 0,5% додецилсульфата натрия и 0,5% дезоксихолата натрия (Sigma, США). Далее следовала 6-кратная отмывка образцов по 12 ч в стерильном фосфатно-солевом буфере (рН = 7,4) согласно одному из общепринятых протоколов [18]. Общая длительность обработки и отмывки составила 4 суток, в течение которых вторую половину образцов (нативные образцы) хранили при +4...8 °С в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида с добавлением комплекса антимикробных препаратов (метронидазол 0,27 мг/мл, гентамицин 0,53 мг/мл, цефазолин 6,66 мг/мл, ампициллин 2,22 мг/мл, оксациллин 1,11 мг/мл, флуконазол 0,027 мг/мл).

После окончания децеллюляризации по 20 нативных и децеллюляризованных трубчатых фрагментов аорты использовали для механических испытаний при одноосном растяжении в окружном и продольном направлениях. Оставшийся материал каждой серии – нативный (n = 60) и децеллюляризованный

Таблица

Список всех экспериментальных групп
List of all experimental groups

№	Аббревиатура	Способ хранения	Подгруппы
1	Контр	Контрольные образцы аорт свиней, свежий материал (для определения базовых механических свойств)	Контр.Н – нативный материал без дополнительных обработок
2			Контр.Д – децеллюляризованный материал без дополнительных обработок
3	КСР	В комплексном спиртовом растворе (50 сут)	КСР.Н – нативная форма КСР
4			КСР.Д – децеллюляризованная форма КСР
5	АБ	В смеси антибиотиков (50 сут)	АБ.Н – нативная форма АБ
6			АБ.Д – децеллюляризованная форма АБ
7	С-Г	В смеси этанола и глицерина (50 сут)	С-Г.Н – нативная форма С-Г
8			С-Г.Д – децеллюляризованная форма С-Г

($n = 60$) – случайным образом был разделен на три группы и хранился в исследуемых биоцидных растворах в течение 50 сут в стерильных условиях при $+4...8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (в растворах АБ и С-Г), при комнатной температуре – в растворе КСР. Всего исследовали 8 групп образцов (табл.). Перед началом проведения механических испытаний образцы промывали в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида 20 минут при комнатной температуре.

Исследование механических свойств

Механические испытания проводили в условиях одноосного растяжения образцов после 50 суток хранения в исследуемых биоцидных растворах. Для получения контрольных значений использовали материал стенок аорты свиней нативной группы (Контр.Н) и децеллюляризованного материала (Контр.Д) до хранения в соответствующих растворах.

Трубчатые фрагменты аорты каждой из 8 подгрупп разрезали вдоль и высекали образцы для испытаний с помощью стандартной вырубной матрицы в продольном ($n = 10$) и окружном ($n = 10$) направлениях. Ширина и длина рабочей части образца соответствовала размерам матрицы (9 и 28 мм соответственно). Толщину образца трехкратно измеряли при помощи электронного цифрового толщинометра (Mitutoyo 547-500S, Япония).

Испытания выполняли на разрывной машине ESM301 (MARK-10, США). Скорость растяжения ткани составляла 30 мм/мин. Если разрыв происходил по месту закрепления образцов в зажимах, данные этого измерения при анализе исключали.

Прочность материалов оценивали по напряжению разрыва (σ , МПа):

$$\sigma = \frac{F}{h \times w}$$

где F – сила в момент разрыва (Н); h – средняя толщина образца (мм); w – ширина (9 мм) образца.

О деформативной способности судили по показателям максимального удлинения до разрыва (ε , %):

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L} \times 100$$

где ΔL – максимальное удлинение образца (мм); L – начальная длина образца (мм), равная расстоянию между зажимами (28 мм).

Жесткость определяли по величине модуля Юнга (E , МПа):

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

где E – модуль Юнга (МПа); σ – напряжение разрыва; ε – удлинение фрагмента (мм) до разрыва образца.

Статистический анализ

Результаты исследования обработаны методом вариационной статистики с использованием программного обеспечения Statistica 13.0 (TIBCO Software, США). Нормальность распределения полученных данных и однородность дисперсии проверяли при помощи критерия Шапиро–Уилка. О достоверности различий судили по критерию Манна–Уитни. Данные на графиках представлены в виде медианы и межквартильного размаха (25-й и 75-й перцентили).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Толщина образцов

Толщина фрагментов децеллюляризованной аорты контрольной группы в 1,22 раза выше, чем нативной аорты контрольной группы ($p < 0,01$). Среди децеллюляризованных образцов после хранения выявлено уменьшение толщины в спиртосодержащих подгруппах КСР.Д и С-Г.Д в 0,82 и 0,87 раза соответственно в сравнении с соответствующими контролями ($p < 0,05$) (рис. 1).

Упруго-прочностные свойства биоматериала

Прочность на разрыв недецеллюляризованных (нативных) образцов в окружном направлении достоверно возрастала после хранения во всех исследованных растворах по сравнению с контролем ($p < 0,05$): КСР.Н – в 1,38 раза; С-Г.Н – в 1,72 раза; АБ.Н – в 1,62 раза. Среди децеллюляризованных образцов

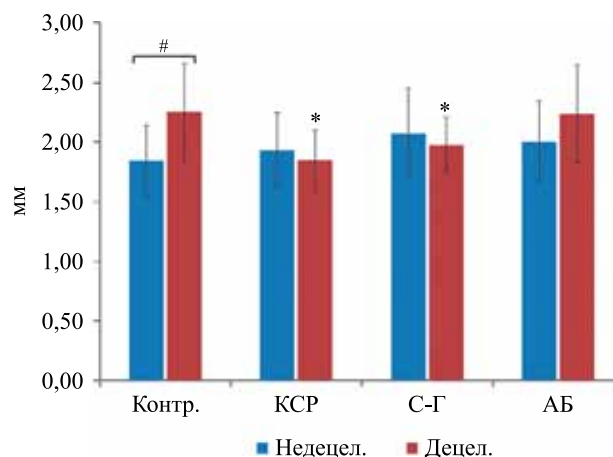


Рис. 1. Значения толщины исследованных образцов. * – $p < 0,05$ в сравнении с соответствующей контрольной группой; # – $p < 0,05$, сравнение между недецеллюляризованными и децеллюляризованными образцами внутри одной группы

Fig. 1. Values of the thicknesses of the investigated samples. * – $p < 0.05$ compared to corresponding control group; # – $p < 0.05$ comparison between non-decellularized and decellularized samples within the same group

наблюдали недостоверную тенденцию к увеличению значений напряжения разрыва в подгруппе КСР.Д в сравнении с контролем. В подгруппе С-Г.Д выявлено достоверное увеличение величины прочности на разрыв в 1,5 раза ($p < 0,05$). При сравнении прочности нативных и децеллюляризованных образцов достоверные ($p < 0,05$) отличия были выявлены в группах Контр и КСР, где децеллюляризованный материал демонстрировал большую прочность в 1,47 и 1,57 раза соответственно (рис. 2, а).

Прочность на разрыв в продольном направлении как нативных, так и децеллюляризованных образцов не изменилась после хранения во всех видах растворов по сравнению с контролем. При сравнении внутри каждой экспериментальной группы нативных и децеллюляризованных образцов достоверное отличие было выявлено только в группе АБ (децеллюляризованный материал был менее прочен, чем нативный, в 1,33 раза ($p < 0,05$) (рис. 2, б).

Значения удлинения до разрыва как нативных, так и децеллюляризованных образцов не изменились после хранения во всех видах растворов по сравнению с контролем вне зависимости от направления растяжения (рис. 3). Исключение составляет подгруппа С-Г.Д, где при растяжении в окружном направлении было выявлено самое высокое значение удлинения по сравнению со всеми остальными подгруппами (Контр.Д / С-Г.Д в 1,5 раза, $p < 0,01$) (рис. 3, а).

Вне зависимости от направления растяжения отсутствовали достоверные различия между значениями **модуля Юнга** у нативных и децеллюляризованных тканей как внутри одной группы, так и при

их сравнении с соответствующими контрольными значениями (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время одним из распространенных способов длительного хранения аллогенного материала является криосохранение. Этот способ позволяет создать банк сердечных клапанных аллографтов, но требует тщательного соблюдения всех этапов заморозки и оттаивания материала, повышенной технической надежности оборудования, и возможно, поиска новых криоконсервирующих сред [12, 19].

Децеллюляризация аллографтных и ксенографтных тканей представляется перспективным подходом к сохранению донорских тканей во влажном состоянии [20–22]. В ряде работ для поддержания жизнеспособности клеточных компонентов использовали культуральные среды [23, 24]. В других работах, где основной целью было сохранение соединительно-тканного каркаса ткани без учета клеточного компонента, рассматривали пригодность физиологического раствора с модификациями [25]. Так, было показано, что сохранность механических и структурных свойств децеллюляризованного тканевого матрикса значимо не нарушается в течение длительного срока влажного хранения в стерильном физиологическом растворе (до 12 месяцев) [26]. В данной экспериментальной работе в качестве основы для сред хранения II (АБ) и III (С-Г) была выбрана питательная среда RPMI-1640. Многокомпонентная буферная среда и асептические условия позволили обеспечить стабильность pH растворов и отсутствие контаминации материала в течение всего срока эксперимента.

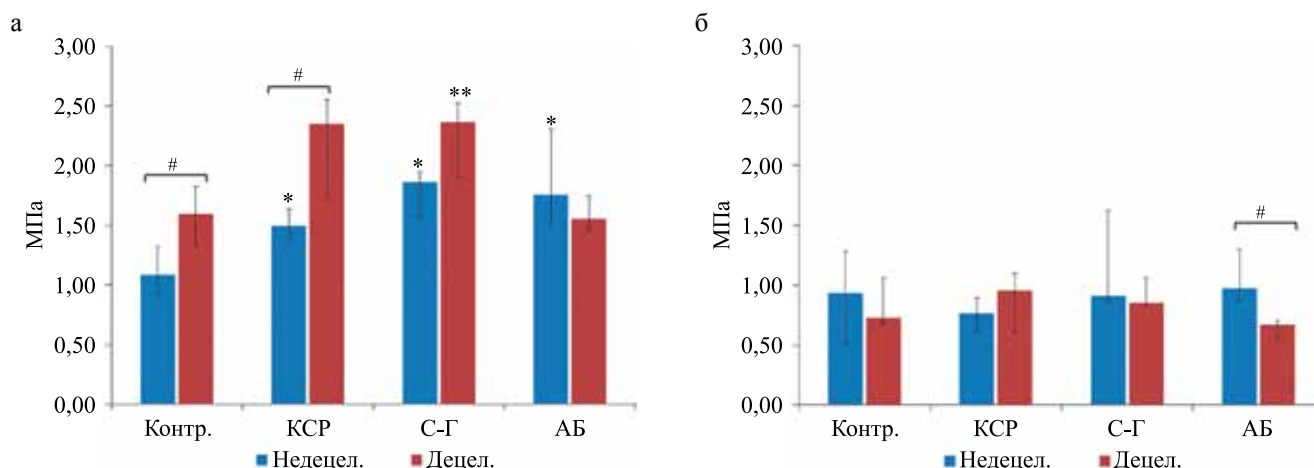


Рис. 2. Значения напряжения разрыва исследованных образцов при растяжении: а – в окружном направлении; б – в продольном направлении. * – $p < 0,05$ в сравнении с нативным контролем; ** – $p < 0,05$ в сравнении с децеллюляризованным контролем; # – $p < 0,05$, сравнение между недецеллюляризованными и децеллюляризованными образцами внутри одной группы

Fig. 2. Values of the tensile stress of the investigated specimens stretching: а – in the circumferential direction; б – in the longitudinal direction. * – $p < 0.05$ in comparison with the native control; ** – $p < 0.05$ in comparison with the decellularized control; # – $p < 0.05$ comparison between non-cellular and decellularized samples within the same group

Эффективность имплантации децеллюляризованных сердечных клапанов во многом зависит от компонентов самого метода удаления клеток (энзимный, детергентный и т. д.) и потенциального иммунного ответа после имплантации [27, 28]. Используемый нами вариант протокола децеллюляризации [18] применяются и другими исследователями при создании тканеинженерных материалов на основе донорских тканей [20, 21].

В группе контроля после децеллюляризации возросла толщина образцов – на 10–30% от исходных значений нативного материала. Возможным объяснением данного факта может быть появление разрыхленности межволоконных пространств в соеди-

нительно-тканном каркасе при удалении клеток и частичном вымывании малых межклеточных молекул (протеогликанов, гликозаминогликанов и других неколлагеновых белков) под действием детергентов, место которых занимают молекулы воды [29].

Прочность на разрыв при растяжении является одним из основных показателей, характеризующих механические свойства ткани, для количественной оценки которого используют величину разрушающего напряжения (напряжение разрыва) [30]. Согласно нашим данным, децеллюляризация материала аорты вызывает достоверное повышение значения напряжения разрыва при растяжении в окружном направлении. При этом значение модуля Юнга также

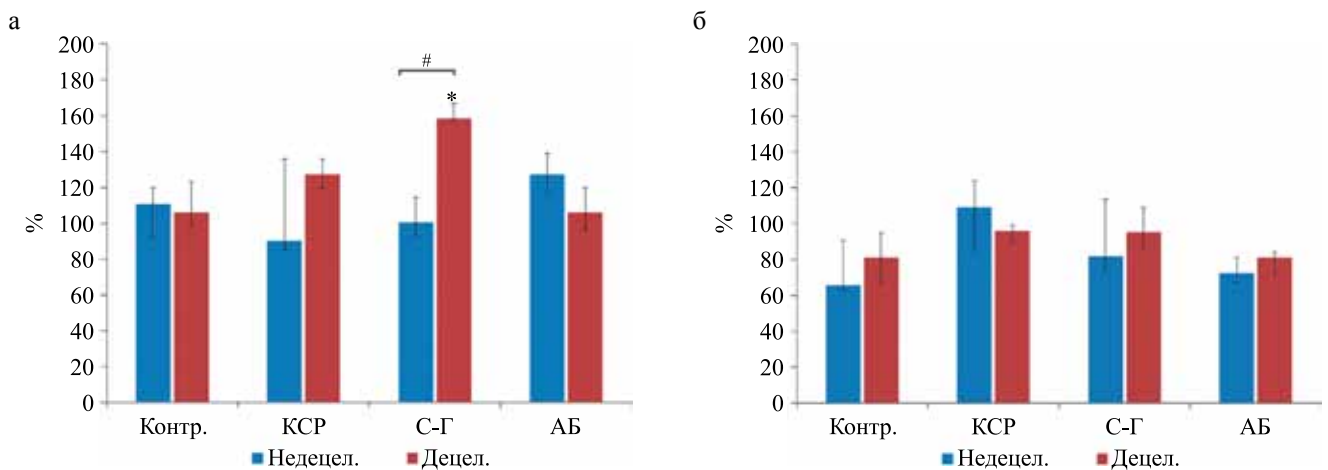


Рис. 3. Значения удлинения до разрыва исследованных образцов при растяжении: а – в окружном направлении; б – в продольном направлении. * – $p < 0,05$ в сравнении с контролем; # – $p < 0,05$, сравнение между недецеллюляризованными и децеллюляризованными образцами внутри одной группы

Fig. 3. Values of the elongation to break of the investigated specimens stretching: а – in the circumferential direction; б – in the longitudinal direction. * – $p < 0.05$ in comparison with the native control; # – $p < 0.05$ comparison between non-cellular and decellularized samples within the same group

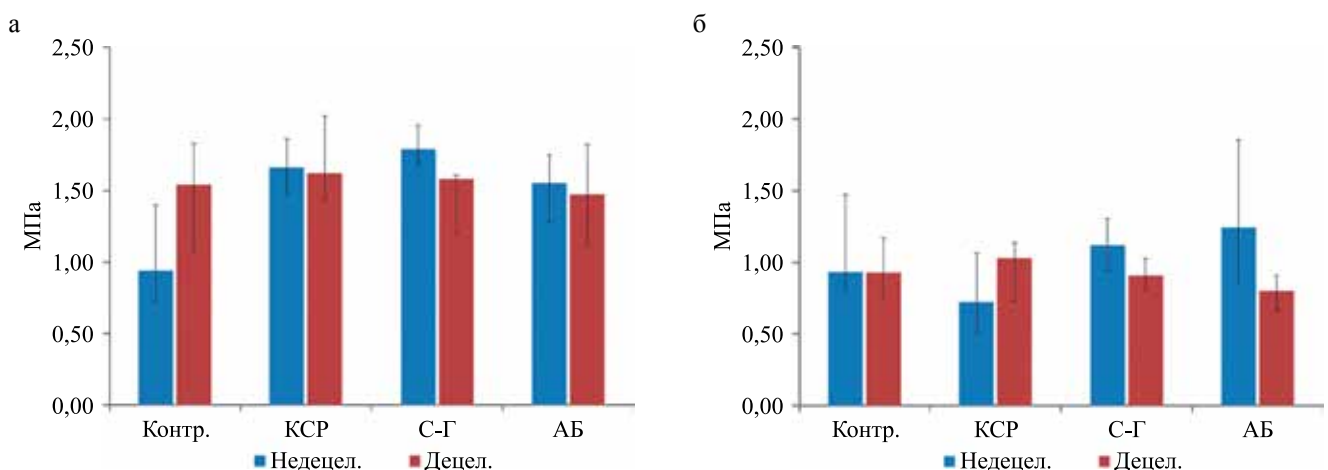


Рис. 4. Значения модуля Юнга для исследованных образцов: а – растяжение в окружном направлении; б – растяжение в продольном направлении

Fig. 4. Values of Young's modulus for the studied samples: а – stretching in the circumferential direction; б – stretching in the longitudinal direction

возрастает, но без достоверного отличия от значений нативной группы контроля. После длительного хранения в спиртосодержащих (КСР и С-Г) и водных (АБ) растворах основные изменения механических свойств также проявились при растяжении материала стенки аорты в окружном направлении. Практически все данные по механическим свойствам при продольном растяжении остались на уровне контрольных значений соответствующих подгрупп (децеллюляризованных и недецеллюляризованных). Подобная анизотропия биомеханических свойств в соединительно-тканном каркасе стенки аорты объясняется особенностями трехмерной ориентации волокон СТК, обеспечивающей эффективную компенсацию внутрисосудистого давления жидкости для дальнейшего активного продвижения крови. Ранее было показано, что основная масса эластиновых волокон в стенке аорты расположена в среднем слое в составе эластиновых ламелей, которые расположены преимущественно в окружном направлении. Ориентация же коллагеновых волокон направлена к оси сосуда под углом приблизительно 45° , в интима и адвентиции направление более продольное [31–33].

При проведении испытаний на одноосное растяжение мы получали кривую удлинения–напряжения для каждого образца. График такой кривой состоит из 3 частей: область с низким модулем упругости, линейная область и область текучести или разрыва. Область с низким модулем упругости возникает из-за распрямления спиралевидных коллагеновых волокон согласно направлению прилагаемого усилия. Линейная область (состоит из двух частей) возникает в результате прямого растяжения фибрилл коллагена в ткани. Область разрыва кривой удлинения–напряжения связана с непосредственным повреждением фибрилл [33]. При определении величины прочности на разрыв изначально фиксируют максимальное значение прилагаемого усилия, после которого идет разрушение образца. Фактически это зависит от того, как много и, главным образом, какого качества коллагеновые волокна имеются в ткани.

Вероятнее всего, существенное возрастание прочности материалов при хранении в спиртосодержащих растворах связано с изменением структуры молекул основных белков СТК – коллагена и эластина. Известно, что под влиянием спиртов изменяется трехспиральная структура коллагена, а также соотношение гидрофильных и гидрофобных сайтов белковых молекул [34].

Деформативную способность материала отражают показатели относительного удлинения при растяжении. На данный показатель оказывают влияние структура и волокнистый состав ткани [35]. Из полученных нами результатов следует, что относительное удлинение материала при растяжении в окружном направлении во всех экспериментальных группах

остается на уровне контрольных значений за исключением подгруппы С-Г. В данном случае показатель деформативной способности выше, чем у недецеллюляризованного аналога (С-Г.Н), в 1,58 раза. Это можно объяснить влиянием компонентов раствора С-Г (глицерина как пластификатора) на структурную организацию волокон СТК стенки аорты. В работах некоторых исследователей отмечаются схожие изменения биомеханических свойств материалов, хранившихся в растворах глицерина [36].

Модуль Юнга характеризует жесткость материала [36]. Вне зависимости от направления растяжения величины данного показателя во всех экспериментальных группах после хранения в исследуемых растворах достоверно не отличаются от показателей нативной ткани. При этом они имеют явную тенденцию к увеличению, что указывает на повышение жесткости ткани. Сравнение величин модуля Юнга при окружном и продольном растяжении внутри групп с одинаковым типом обработки тканей демонстрирует значимые различия в средних величинах. Этот факт также объясняется специфическим расположением различных волокон СТК в стенке аорты [31].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Децеллюляризация стенки аорты свиньи детергентным методом с последующим «влажным» хранением образцов в исследованных растворах в течение 50 суток достоверно не ухудшает упруго-эластические свойства материала. Отмечается небольшое повышение жесткости исследованного материала при растяжении в окружном направлении.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (N: 121031300224-1).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Horke A, Tudorache I, Laufer G, Andreas M, Pomar JL, Pereda D et al. Early results from a prospective, single-arm European trial on decellularized allografts for aortic valve replacement: the ARISE study and ARISE Registry data. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2020; 58 (5): 1045–1053. doi: 10.1093/ejcts/ezaa100. PMID: 32386409; PMCID: PMC7577293.
2. Arabkhani B, Bekkers JA, Andrinopoulou ER, Roos-Hesselink JW, Takkenberg JJM, Bogers AJJC. Allografts in aortic position: Insights from a 27-year, single-center prospective study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2016; 152 (6): 1572–1579. doi: 10.1016/j.jtcvs.2016.08.013; PMID: 27842683.
3. Демидов ДП, Астапов ДА, Богачев-Прокофьев АВ, Железнев СИ. Оценка качества жизни после про-

- тезирования аортального клапана биологическими протезами у пациентов пожилого возраста. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017; 21 (3): 40–47. Demidov DP, Astaspov DA, Bogachev-Prokophiev AV, Zheleznev SI. Quality of life after aortic valve replacement with biological prostheses in elderly patients. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2017; 21 (3): 40–47. [In Russ, English abstract]. doi: 10.21688/1681-3472-2017-3-40-47.
4. Спиридонов СВ, Одинцов ВО, Щетинко НН, Мозгова ЕА, Гринчук ИИ, Островский ЮП. Аортальные аллогraftы в мировой кардиохирургии: исторические аспекты внедрения в клиническую практику и обзор результатов использования. *Медицинский журнал*. 2015; 1: 55–67. Spiridonov SV, Odintsov VA, Shchetinko NN, Mozgova EA, Hrynychuk II, Ostrovsky YuP. Aortic allografts in the world cardiac surgery: historical aspects of clinical implementation, and review of implantation outcomes. *Medical Journal*. 2015; 1: 55–67. [In Russ, English abstract].
 5. Fioretta ES, von Boehmer L, Motta SE, Lintas V, Hoerstrup SP, Emmert MY. Cardiovascular tissue engineering: From basic science to clinical application. *Exp Gerontol*. 2019; 117: 1–12. doi: 10.1016/j.exger.2018.03.022. PMID: 29604404.
 6. VeDepo MC, Detamore MS, Hopkins RA, Converse GL. Recellularization of decellularized heart valves: Progress toward the tissue-engineered heart valve. *J Tissue Eng*. 2017 Aug 25; 8: 2041731417726327. doi: 10.1177/2041731417726327. PMID: 28890780; PMCID: PMC5574480.
 7. Cebotari S, Tudorache I, Ciubotaru A, Boethig D, Sarikouch S, Goerler A et al. Use of fresh decellularized allografts for pulmonary valve replacement may reduce the reoperation rate in children and young adults: Early report. *Circulation*. 2011; 124 (11 SUPPL. 1): 115–124. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.012161. PMID: 21911800.
 8. Argento G, Simonet M, Oomens CW et al. Multi-scale mechanical characterization of scaffolds for heart valve tissue engineering. *J Biomech*. 2012; 45: 2893–2898.
 9. Одаренко ЮН, Рутковская НВ, Рогулина НВ, Стасев АН, Кокорин СГ, Казан ЕС, Барбараш ЛС. Анализ 23-летнего опыта использования ксеноаортальных эпоксиобработанных биопротезов в хирургии митральных пороков сердца. Исследование факторов реципиента с позиций влияния на развитие кальциевой дегенерации. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2015; (4): 17–25. Odarenko YuN, Rutkovskaya NV, Rogulina NV, Stasev AN, Kokorin SG, Kagan ES, Barbarash LS. Analysis of 23-year experience epoxy treated xenoaortic bioprosthesis in surgery mitral heart disease. Research factors of recipients by positions of influence on the development of calcium degeneration. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2015; (4): 17–25. [In Russ, English abstract] doi: 10.17802/2306-1278-2015-4-17-25.
 10. Lisy M, Kalender G, Schenke-Layland K, Brockbank KGM, Biermann A, Stock UA. Allograft Heart Valves: Current Aspects and Future Applications. *Bio-preserv Biobank*. 2017; 15 (2): 148–157. doi: 10.1089/bio.2016.0070. PMID: 28151005.
 11. Brockbank KGM, Lightfoot FG, Song YC, Taylor MJ. Interstitial ice formation in cryopreserved homografts: A possible cause of tissue deterioration and calcification *in vivo*. *J Heart Valve Dis*. 2000; 9 (2): 200–206. PMID: 10772037.
 12. Бритиков ДВ, Лаук-Дубицкий СЕ, Серов РА, Хугаев ГА. Морфологическая оценка новой методики криосохранения клапанных и сосудистых аллогraftов. *Анналы хирургии*. 2019; 24 (1): 16–23. Britikov DV, Lauk-Dubitsky SE, Serov RA, Khugaev GA. Morphological evaluation of new method of valve and vascular allografts cryopreservation. *Russian Annals of Surgery*. 2019; 24 (1): 16–23. [In Russ, English abstract] doi: 10.24022/1560-9502-2019-24-1-16-23.
 13. Hickey E, Langley SM, Allemby-Smith O, Livesey SA, Monro JL. Subcoronary allograft aortic valve replacement: parametric risk-hazard outcome analysis to a minimum of 20 years. *Ann Thorac Surg*. 2007; 84 (5): 1564–1570. doi: 10.1016/j.athoracsur.2007.02.100. PMID: 17954063.
 14. Островский ЮП, Юдина ОА, Муратов РМ, Спиридонов СВ. Технология изготовления и методика использования криосохраненных аллогraftов в хирургии пороков аортального клапана. Минск: Беларуская навука (2016), 229 с. Ostrovskij JuP, Judina OA, Muratov RM, Spiridonov SV. Tehnologija izgotovleniya i metodika ispol'zovanija kriosohranennyh allograftov v hirurgii porokov aortal'nogo klapana. Minsk: Belaruskaja nauka (2016), 229. ISBN 978-985-08-1955-0.
 15. Gatto C, Giurgola L, D'Amato Tothova J. A suitable and efficient procedure for the removal of decontaminating antibiotics from tissue allografts. *Cell Tissue Bank*. 2013; 14 (1): 107–115. doi: 10.1007/s10561-012-9305-5. PMID: 22407218.
 16. Васильева МБ, Красильникова АА, Кузнецова ЕВ, Лунина МВ, Самойлова ЛМ, Русакова ЯЛ и др. Исследование альтернативных биоцидных сред для влажного хранения аллогенного материала для протезирования элементов сердечно-сосудистой системы. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2018; 22 (4): 95–102. Vasilyeva MB, Krasilnikova AA, Kuznetsova EV, Lunina MV, Samoylova LM, Rusakova YaL et al. Alternative biocidal solutions for storage of allogeneic vascular grafts used for the replacement of cardiovascular elements. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2018; 22 (4): 95–102. [In Russ, English abstract] doi: 10.21688/1681-3472-2018-4-95-102.
 17. Журавлева ИЮ. Биоцидная композиция для асептического хранения консервированного протезного материала из тканей животного происхождения. Патент РФ на изобретение RU 2580621C1. Бюлл. № 10 (от 10.04.2016). Zhuravleva IYu. Biotsidnaya kompozitsiya dlya asepticheskogo khraneniya konservirovannogo proteznogo materiala iz tkaney zhivotnogo proiskhozhdeniya. Patent RF na izobretenie RU 2580621C1. Byull. No 10 (ot 10.04.2016).

18. Lichtenberg A, Tudorache I, Cebotari S, Ringes-Lichtenberg S, Sturz G, Hoeffler K et al. In vitro re-endothelialization of detergent decellularized heart valves under simulated physiological dynamic conditions. *Biomaterials*. 2006; 27 (23): 4221–4229. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.03.047. PMID: 16620956.
19. Cheung DT, Weber PA, Grobe AC, Shomura Y, Choo SJ, Luo HH et al. A new method for the preservation of aortic valve homografts. *J Heart Valve Dis*. 2001; 10 (6): 728–734. PMID: 11767178.
20. Yao Q, Zheng YW, Lan QH, Kou L, Xu HL, Zhao YZ. Recent development and biomedical applications of decellularized extracellular matrix biomaterials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019 Nov; 104: 109942. doi: 10.1016/j.msec.2019.109942. PMID: 31499951.
21. Taylor DA, Sampaio LC, Ferdous Z, Gobin AS, Taite LJ. Decellularized matrices in regenerative medicine. *Acta Biomater*. 2018 Jul 1; 74: 74–89. doi: 10.1016/j.actbio.2018.04.044. PMID: 29702289.
22. Theodoridis K, Müller J, Ramm R, Findeisen K, Andree B, Korossis S et al. Effects of combined cryopreservation and decellularization on the biomechanical, structural and biochemical properties of porcine pulmonary heart valves. *Acta Biomater*. 2016; 43: 71–77. doi: 10.1016/j.actbio.2016.07.013. PMID: 27422199.
23. Boekema BKHL, Boekstijn B, Breederveld RS. Evaluation of saline, RPMI and DMEM/F12 for storage of split-thickness skin grafts. *Burns*. 2015; 41 (4): 848–852. ISSN 0305-4179, <https://doi.org/10.1016/j.burns.2014.10.016>.
24. Ranawat AS, Vidal AF, Chen CT, Zelken JA, Turner AS, Williams RJ 3rd. Material properties of fresh cold-stored allografts for osteochondral defects at 1 year. *Clin Orthop Relat Res*. 2008; 466 (8): 1826–1836. doi: 10.1007/s11999-008-0311-7. PMCID: PMC2584258.
25. Ziza V, Canaud L, Gandet T, Molinari N, Alonso W, Chastan R, Branchereau P, Picard E. Outcomes of cold-stored venous allograft for below-knee bypasses in patients with critical limb ischemia. *J Vasc Surg*. 2015; 62 (4): 974–983. doi: 10.1016/j.jvs.2015.04.437. PMID: 26141692.
26. Wollmann LC, Suss PH, Kraft L, Ribeiro VS, Noronha L, da Costa FDA, Tuon FF. Histological and Biomechanical Characteristics of Human Decellularized Allograft Heart Valves After Eighteen Months of Storage in Saline Solution. *Biopreserv Biobank*. 2020; 18 (2): 90–101. doi: 10.1089/bio.2019.0106. PMID: 31990593.
27. Nam J, Choi SY, Sung SC, Lim HG, Park SS, Kim SH, Kim YJ. Changes of the Structural and Biomechanical Properties of the Bovine Pericardium after the Removal of α -Gal Epitopes by Decellularization and α -Galactosidase Treatment. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2012; 45 (6): 380–389. doi: 10.5090/kjtcs.2012.45.6.380. PMID: 23275920; PMCID: PMC3530722.
28. Gilbert TW. Strategies for tissue and organ decellularization. *J Cell Biochem*. 2012; 113: 2217–2222. doi: 10.1002/jcb.24130. PMID: 22415903.
29. McKee CT, Last JA, Russell P, Murphy CJ. Indentation versus tensile measurements of Young's modulus for soft biological tissues. *Tissue Eng Part B Rev*. 2011; 17 (3): 155–164. doi: 10.1089/ten.TEB.2010.0520. PMID: 21303220; PMCID: PMC3099446.
30. Sokolis DP, Kefaloyannis EM, Kouloukoussa M, Marinou E, Boudoulas H, Karayannacos PE. A structural basis for the aortic stress – strain relation in uniaxial tension. *Journal of Biomechanics*. 2006; 39 (9): 1651–1662. doi: 10.1016/j.jbiomech.2005.05.003.
31. Yu X, Wang Y, Zhang Y. Transmural variation in elastin fiber orientation distribution in the arterial wall. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018; 77: 745–753. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.08.002. PMID: 28838859; PMCID: PMC5696052.
32. Sugita S, Matsumoto T. Multiphoton microscopy observations of 3D elastin and collagen fiber microstructure changes during pressurization in aortic media. *Biomech Model Mechanobiol*. 2017; 16 (3): 763–773. doi: 10.1007/s10237-016-0851-9. PMID: 27878400.
33. Silver FH, Horvath I, Foran DJ. Viscoelasticity of the vessel wall: the role of collagen and elastic fibers. *Crit Rev Biomed Eng*. 2001; 29 (3): 279–301. doi: 10.1615/critrevbiomedeng.v29.i3.10. PMID: 11730097.
34. Резцова МА, Кудрявцева ЮА. Современные подходы к химической модификации белков в биологических тканях, последствия и применение. *Биоорганическая химия*. 2018; 44 (1): 22–37. Rezvova MA, Kudryavtseva JuA. Sovremennye podhody k himicheskoy modifikacii belkov v biologicheskikh tkanjah, posledstviya i primenenie. *Bioorganicheskaya khimiya / Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2018; 44 (1): 22–37. doi: 10.7868/S0132342318010025.
35. Михайлова ИП, Манченко АА, Бызов ДВ, Сандомирский БП. Физико-механические свойства девитализированных ксеноимплантатов на основе перикарда, створок аортального клапана и артерий. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2015; 25 (4): 311–328. Mikhailova IP, Manchenko AA, Byzov DV, Sandomirsky BP. Fiziko-mehanicheskie svojstva devitalizirovannyh ksenoimplantatov na osnove perikarda, stvorok aortal'nogo klapana i arterij. *Problemy kriobiologii i kriomeditsiny*. 2015; 25 (4): 311–328.
36. Van Doormaal TP, Sluijs JH, Vink A, Tulleken CA, van der Zwan A. Comparing five simple vascular storage protocols. *Journal of Surgical Research*. 2014; 192 (Issue 1): 200–205. doi: 10.1016/j.jss.2014.05.001.

Статья поступила в редакцию 6.07.2021 г.
The article was submitted to the journal on 6.07.2021