DOI: 10.15825/1995-1191-2018-1-86-95

КОМПЛЕКСНАЯ МОБИЛЬНАЯ КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СЕГМЕНТОВ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ В ПОЛИДИМЕТИЛСИЛОКСАНЕ

С.Е. Лаук-Дубицкий[1], Т.А. Астрелина[1], А.А. Федюнин[1], И.А. Бурков[2], Е.М. Кильдюшов[5], С.В. Лищук[1], И.А. Новиков[3], А.В. Пушкарев[2], В.А. Брумберг[1], А.В. Шакуров[2], Д.П. Самчук[4], И.В. Кобзева[1], Ю.Б. Сучкова[1], В.А. Никитина[1], Т.В. Карасева[1], А.Ю. Бушманов[1], А.С. Самойлов[1]

[1] ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, Российская Федерация
[2] ФГБОУ ВПО «Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана», Москва, Российская Федерация
[3] ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней», Москва, Российская Федерация
[4] ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва, Российская Федерация
[5] ГБУ «Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Российская Федерация

Цель: на примере сегментов подвздошной артерии посмертного донора разработать щадящий режим криоконсервации сразу после изъятия биоткани с использованием полидиметилсилоксана в качестве хладо-теплоносителя и опосредованного криопротектора. **Материалы и методы.** Изъято 11 сегментов подвздошных артерий от посмертного донора и разбито на 4 группы, включая контрольную. С предварительным математическим моделированием охлаждения и размораживания, а также опытами с тканеэквивалентным фантомом сегмента артерии было проведено одинарное и повторное криоконсервирование по выездной модели – сегменты 1–2-й группы на пластиковых подложках опускали в полидиметилсилоксан и охлаждали со скоростью 180 °С/мин до –75 °С в криоконтейнере с сухим льдом. Дополнительно проводили стационарное криоконсервирование сегментов 3-й группы со скоростью 1,6 °С/мин в контейнере с полидиметилсилоксаном, помещенным в морозильник при –80 °С. Сегменты размораживали путем погружения в полидиметилсилоксан при +24 °С и затем оценивали с помощью гистологического исследования и сканирующей электронной микроскопии с лантаноидным контрастированием, содержание кремния в тканях оценивалось с использованием химического микроанализа на энергодисперсионном спектрометре. Осуществляли ограниченные биомеханические испытания сегментов с оценкой анизотропии их структуры. **Результаты.** Не выявлено значимых морфологических различий между сегментами контроля и группами криоконсервации за исключением сегмента с медленным охлаждением. **Заключение.** Комплексная мобильная криоконсервация может позволить увеличить эффективность изъятия большого объема биоткани для возможного последующего использования при изготовлении биопротезов кровеносных сосудов или после децеллюляризации, а также в качестве тканеспецифичных матриксов при создании клеточно-инженерных конструкций кровеносных сосудов.

Ключевые слова: криоконсервация, полидиметилсилоксан, сегменты подвздошной артерии, посмертный донор, имплантация.

Для корреспонденции: Лаук-Дубицкий Станислав Евгеньевич. Адрес: 123182, Москва, Волоколамское ш., 30. Тел. (999) 820-05-84. E-mail: sld-fmbc@yandex.ru

For correspondence: Lauk-Dubitsky Stanislav Evgenievich. Address: 30, Volokolamskoie sh., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. (999) 820-05-84. E-mail: sld-fmbc@yandex.ru

COMPLEX APPROACH FOR PORTABLE CRYOPRESERVATION OF SEGMENTS OF BLOOD VESSELS WITH POLYDIMETHYLSILOXANE

S.E. Lauk-Dubitsky[1], T.A. Astrelina[1], A.A. Fedyunin[1], I.A. Burkov[2], E.M. Kildyushov[5], S.V. Lischuk[1], I.A. Novikov[3], A.V. Pushkarev[2], V.A. Brumberg[1], A.V. Shakurov[2], D.P. Samchuk[4], I.V. Kobzeva[1], Yu.B. Suchkova[1], V.A. Nikitina[1], T.V. Karaseva[1], A.Yu. Bushmanov[1], A.S. Samoilov[1]

[1] Federal Medical and Biophysical Center n.a. A.I. Burnazyan, Moscow, Russian Federation
[2] The Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russian Federation
[3] State Research Institute of Eye Diseases of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation
[4] Research Institute of Biomedical Chemistry n.a. V.N. Orekhovich, Moscow, Russian Federation
[5] Bureau of Forensic Medical Examination of the Moscow City Health Department, Moscow, Russian Federation

Aim. To develop a safe protocol for cryopreservation of segments of iliac arteries straight after their retrieval from post-mortem donor with the use of polydimethylsiloxane as a coolant and cryoprotectant. **Materials and methods.** Eleven segments of iliac arteries were retrieved from post-mortem donor and divided into four groups including control. Based on preliminary heat and cold transfer mathematical modeling and tests with tissue-equivalent phantom arterial segments were placed on plastic mounts and cryopreserved by following protocol: groups 1 and 2 were immersed in polydimethylsiloxane and cooled rapidly at 180 °C/min to –75 °C. Group 3 segments were cryopreserved at 1,6 °C/min in PDMS – filled cryo-container placed in the freezer at –80 °C. All segments were defrosted by immersion in PDMS at +24 °C and then examined for morphology changes by histological methods and SEM. EDS analysis with the use of AzTech software also was performed for Si – content evaluation. Restricted biomechanical tests were conducted for group 2 segments. **Results.** There were no significant morphological differences between segments of the control and cryopreserved groups except for the segment with slow cooling. **Conclusion.** Mobile cryopreservation may allow increasing the efficiency of retrieval of a large number of donor tissues for possible later use in the processing of bioprostheses of blood vessels; or, after decellularization, as well as tissue-specific matrices for tissue-engineering blood vessels.

Key words: cryopreservation, the polydimethylsiloxane segments are the iliac artery, post-mortem donor, implantation.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных проблем в современной сердечно-сосудистой хирургии остается нехватка функционально надежных сосудистых протезов среднего и малого диаметра (7 мм и менее), необходимых для протезирования артерий и вен при заболеваниях периферической сосудистой системы [14]. Так, использование криоконсервированных сосудистых биопротезов приводит к неудовлетворительным отдаленным результатам, а синтетические сосудистые протезы (ImpraInc., USA; Gore-Tex, USA; Vitagraft, Japan и др.) остаются в рамках фундаментальных и экспериментальных исследований ввиду сложности их соответствия естественным сосудам с учетом их гемодинамики, низкой тромборезистентностью и биосовместимостью в отдаленном периоде после трансплантации. Альтернативой для этих типов протезов могут стать тканеинженерные кровеносные сосуды на основе тканеспецифичных матриксов – децеллюляризированных сегментов артерий посмертного донора, полученные с помощью технологий тканевой инженерии [12, 13]. Использование вышеупомянутых тканеспецифичных матриксов может быть более эффективным при разработке протокола криоконсервации донорской ткани сразу после ее изъятия [8–11, 15]. Однако общепринятые протоколы криоконсервации не в полной мере соответствуют этому, так как используют жидкий азот (–196 °C) и токсичные криопротекторные смеси (VS55-65, USA; DP6, USA), требующие точного дозирования и дополнительных этапов отмывания. В настоящем исследовании для создания протокола криоконсервации донорских кровеносных сосудов было выбрано в качестве хладо- и теплоносителя с потенциальными криопротекторными свойствами низковязкое силиконовое масло – полидиметилсилоксан (ПДМС), дополнительно опробованное в предыдущих опытах. ПДМС широко используется в медицине и фармакологии, обладает гидрофобностью, биосовместимостью и химической инертностью [3–6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Математическое моделирование охлаждения и нагрева аллотрансплантата в ПДМС

Расчет охлаждения и размораживания сосуда проведен в приложении CFX программного комплекса Ansys 17.0 Academic с использованием метода итерационных приближений для расчета основных уравнений гидро- и термодинамики (уравнения неразрывности, Навье-Стокса и теплопроводности) в элементах малых размеров, на которые была разбита исходная расчетно-геометрическая модель. В данном расчете использовано 3 домена – домена текучей среды (ПДМС), сосуда и полой пластиковой трубки. Вместо расчета движения доменов относительно друг друга посчитано течение среды с аналогичной скоростью вокруг сосуда на трубке.

Тестирование криоконсервации со скоростью 1,5 °С/минуту

Был подготовлен пластиковый контейнер с портом в крышке (12 × 8 × 4 см – Д/Ш/Г), который крепился на 4 пластиковых ножках по углам на высоте 6 см от полки морозильника. В контейнер заливали 200 мл ПДМС-5 (вязкость 5 Сст, температура стеклования –120 °С, температура вспышки –38 °С, марка Spectrogen-5, Спектропласт, Россия) и помещали его в камеру морозильника при –80 °С. В порт крышки монтировали выносной щуп термодатчика LogTag TREL-8 (LogTag Recorders, США) с погружением на глубину 23 мм, равную примерной глубине расположения сегмента кровеносного сосуда, сам термодатчик помещали в пенопластовый бокс. Измерение изменений температуры в этой точке было условно обозначено как тканеэквивалентный фантом. По прошествии полутора часов щуп вынимали из контейнера и производили обработку данных в программном комплексе LogTag Analyzer 2.8.

Изъятие сегментов кровеносных сосудов от посмертного донора

Изъято 11 сегментов кровеносных сосудов в виде аортоподвздошного сегмента с двух сторон (длина 2 см, внутренний диаметр 8–10 мм, толщина стенок ~2 мм) от одного посмертного донора старшей возрастной группы в течение 5 часов после констатации смерти мозга. Изъятие сосудов происходило в рамках трансплантации при мультиорганном донорстве печени после их отбраковки по невостребованности в хирургическом отделении координации донорства органов и (или) тканей человека ФГБУ «ГНЦ РФ ФМБЦ имени А.И. Бурназяна». После отсечения сегменты не использовались в качестве медицинского изделия для трансплантации человеку или лабораторным животным и после проведения исследований были утилизированы в патанатомическом отделении. После изъятия проводили морфометрию и оценку состояния стенок сосудов. Критериями исключения из эксперимента являлись: малая длина, бифуркации, атеросклеротические и иные повреждения, бляшки, кальцинации на более чем 40% площади интимы сосуда. Все основные эксперименты с материалом проводили за период от 1 до 3 часов. Сегменты рандомизировано разделены на 4 группы: 1-я и 2-я группы (n = 2 для каждой) – однократная и повторная криоконсервация соответственно, третья группа (n = 3) – криоконсервация со скоростью 1,5 °С/мин в лабораторных условиях и 4-я группа – нативные сегменты (контроль).

Опыт однократной и повторной криоконсервации с использованием выездной модели

Для криоконсервации сегментов кровеносных сосудов сразу после их изъятия была создана выездная модель. Применялся криоконтейнер (18 × 20 × 20 см – Ш/Г/В), наполненный сухим льдом (757 г, гранулы по 1 г, 2 см в длину), и пластиковая емкость (на 500 мл) с ПДМС-5. Для контроля за температурой растворов и упаковки во время перевозки использовался термодатчик LogTag TREL-8 с выносным щупом (LogTag Recorders, США). Четыре сегмента группы 1 и 2 помещались на одноразовые стерильные полые подложки из пластика длиной 18 см и с диаметром, меньше диаметра сосудов в среднем на 15%, на другой конец подложки надевалась силиконовая трубка длиной 3 см, так чтобы большая ее часть оставалась за пределами подложки. Охлаждение всех сегментов проходило путем опускания подложки в емкость с ПДМС-5 в криоконтейнере и перемещения по его объему плавными круговыми движениями (2–3 оборота в секунду), упираясь в дно емкости и охватывая всю ее площадь, в течение 35 сек. Для размораживания подложку с сегментами помещали в пластиковую емкость с ПДМС-5 (500 мл, 24 °С) и держали там при постоянном перемешивании в течение 5 мин. После этого два сегмента 2-й группы были криоконсервированы повторно по аналогичной схеме. Сегмент группы контроля помещался в стерильный контейнер (100 мл) с Кустодиолом (Dr. F. Koehler Chemie, Германия).

Опыт криоконсервации со скоростью 1,5 °С/минуту в лабораторных условиях

Опыт с так называемым тканеэквивалентным фантомом повторен с тремя сегментами подвздошной артерии из 3-й группы. Использовали крепление сосудов, аналогичное выездной модели. В пластиковый контейнер с 200 мл ПДМС-5 устанавливали две подпорки для размещения сегментов на пластиковой подложке на требуемой глубине

(2,3 см от поверхности). Охлаждение происходило в камере морозильника при температуре –80 °С в течение 80 мин.

Морфологические исследования сегментов кровеносных сосудов всех групп

После размораживания по одному сегменту из всех групп отмывали в физиологическом растворе и подготавливали к исследованию на СЭМ (EVO LS10, Carl Zeiss, Германия) с использованием набора для лантаноидного контрастирования «BioREE» (Глаукон, Россия). Наблюдения велись в режиме низкого вакуума (EP, 70 Па), при ускоряющем напряжении от 20 до 25 кВ и токе на образце 400–520 пА (LaB6). Оценку структурной целостности сегментов проводили в течение 1 часа после обработки. По одному сегменту из контроля и третьей группы проверяли на содержание кремния в разрезе с помощью химического микроанализа с использованием энергодисперсионного спектрометра X-max-50 (Oxford instruments, Великобритания). Гистологическое исследование с окрашиванием гематоксилином-эозином проводили для образцов из 2, 3 и 4-й групп.

Ограниченное биомеханическое тестирование сегмента сосуда 2-й группы и контроля

Сегмент 2-й группы и группы контроля подвергали биомеханическим испытаниям с оценкой механической анизотропии их структуры. Сегменты помещали на столик экспериментального стенда (патент RU106372/U1) и делали косой поперечный срез. Далее совершали три прокола с внутренней стороны в трех направлениях: продольном, поперечном и диагональном. Проколы совершали сапфировым плунжером односторонне скошенной клиновидной формы диаметром 0,5652 мм с программируемой постоянной скоростью подачи (0,06 мм/мин) и системой оценки усилия, передаваемого на сегмент с регистрацией данных (5 значений/сек; разрешение 0,02 гс). Данные разрушающего усилия плунжера по мере его прохождения через структуры сосуда (динамическая вязкость) и интегральное вязкое сопротивление суммы разрушенных слоев при заданной скорости вдавливания, близкое к величине предельной устойчивости образца, обрабатывались на ПК.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Математическое моделирование охлаждения и нагрева аллотрансплантата в ПДМС

В ходе расчетов (рис. 1) выявили, что сосуд в ПДМС охлаждается до –65 °С за 35 сек (180 °С/мин), скорость преодоления критической температуры для клеток с +20 до –40 °С составила 15 сек (240 °С/мин), размораживание сосуда до 0 °С происходило за 12 сек (420 °С/мин).

Тестирование криоконсервации со скоростью 1,5 °С/минуту

Скорость охлаждения тканеэквивалентного фантома составила 1,6 °С/мин, что согласуется со скоростями при программируемой криоконсервации биологических тканей.

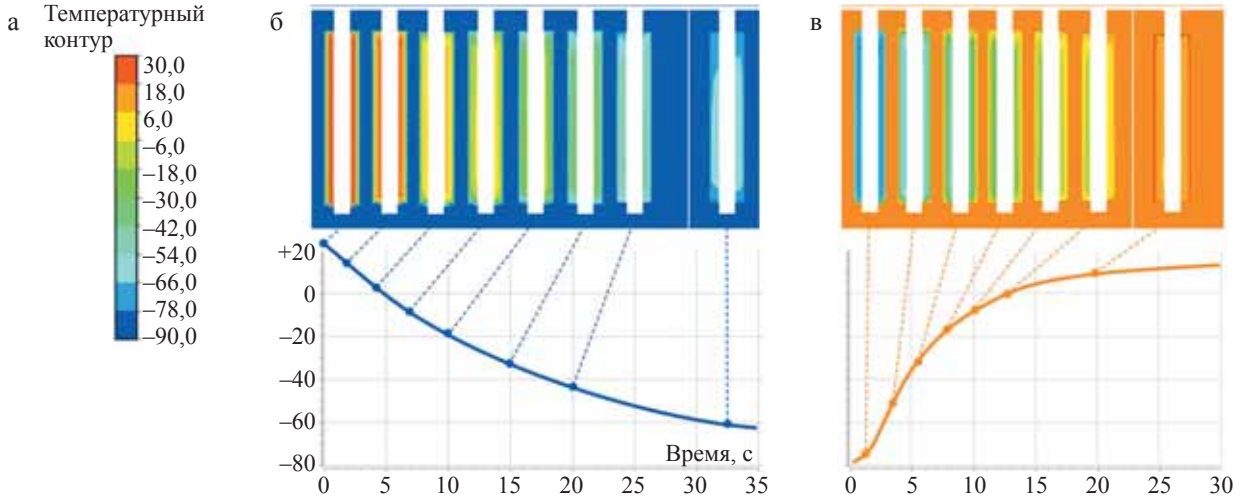

Рис. 1. Математическое моделирование охлаждения и нагрева сосуда в объеме ПДМС: а – температурный контур с цветными градациями; б, в – графики изменения температуры во времени при охлаждении и нагреве, а также значения температуры сосудов согласно контуру

Fig. 1. Mathematical modeling of heat and cool transfer in the blood vessel immersed in PDMS: a – temperature contour with color gradations; б, в – graphs of temperature change over time during cooling-heating and temperature of the vessels according to the temperature contour

Морфологические исследования сегментов всех групп

Согласно СЭМ, во всех сегментах встречались некротические и атеросклеротические поражения, вызванные аутолизом, в нативном сегменте (рис. 2) выявлены локальные очаги тромбообразования. На поверхности наружного слоя сегмента 1-й группы (рис. 3), однократно криоконсервированного, обнаружены единичные клетки – эритроциты, существенная разница с нативным сегментов визуально не наблюдалась. В сегменте 2-й группы (рис. 4), двукратно криоконсервированном, выявлена компактизация эластиновых и коллагеновых волокон (диаметр пор 100 мкм), поверхность заполнена осколками пластиковой подложки. Значительно отличался от остальных групп сегмент 3-й группы (рис. 5), криоконсервированный со скоростью 1,5 °С/мин, его адвентиция была рыхлая и складчатая; наблюдались повреждения на внешнем слое, вызванные внеклеточной нуклеацией льда, интима отсутствовала, эндотелий денудированный.

Качественный химический микроанализ (рис. 6) выявил, что у сегмента 3-й группы кремний в большей степени локализовался по краям среза, тогда как у нативного сегмента его большая концентрация наблюдалась в толще ткани, проникновение ПДМС в слои сосуда не наблюдалось. Общее количество кремния у нативного образца несколько выше, чем у криоконсервированного.

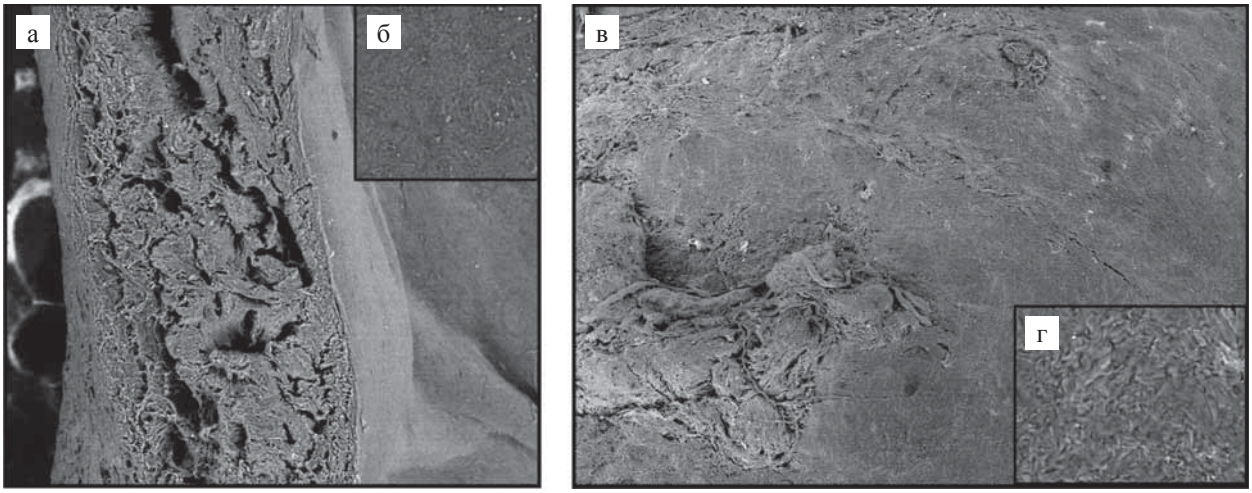

Рис. 2. Сегмент 4-й группы, контроль (СЭМ): а – поперечный срез стенки сосуда и увеличенный фрагмент – б; в – внутренняя поверхность сосуда и увеличенный фрагмент – г

Fig. 2. The segment of the 4th group, control (SEM): a – outer layer with cut and enlarged fragment – б; в – inner layer and enlarged fragment – г

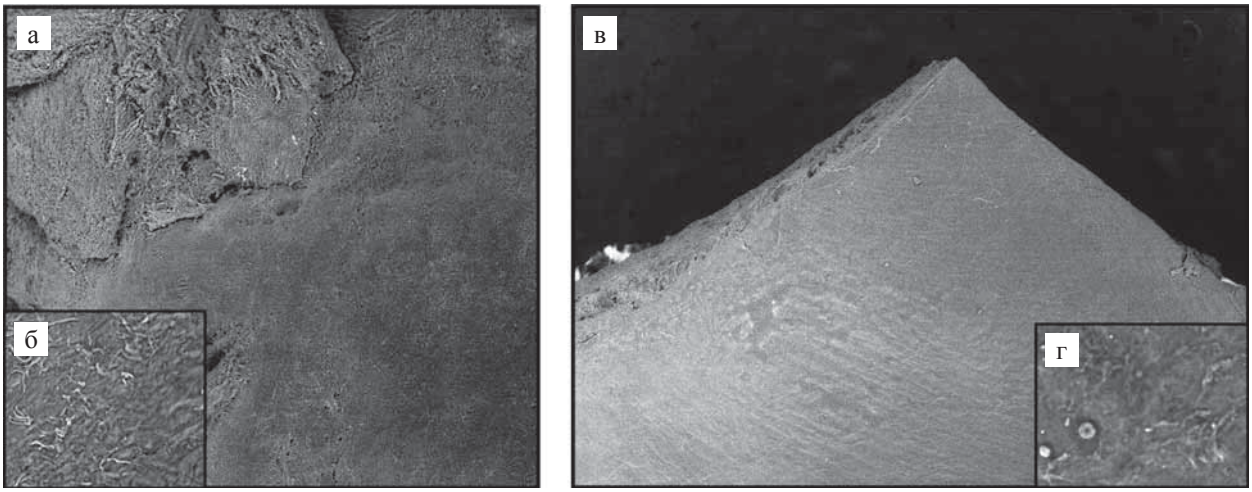

Рис. 3. Сегмент 1-й группы, криоконсервация (СЭМ): а – внутренняя поверхность сосуда и увеличенный фрагмент – б; в – внешняя поверхность сосуда и увеличенный фрагмент – г

Fig. 3. The segment of the 1st group, cryopreservation (SEM): a – inner layer and enlarged fragment – б; в – outer layer and enlarged fragment – г

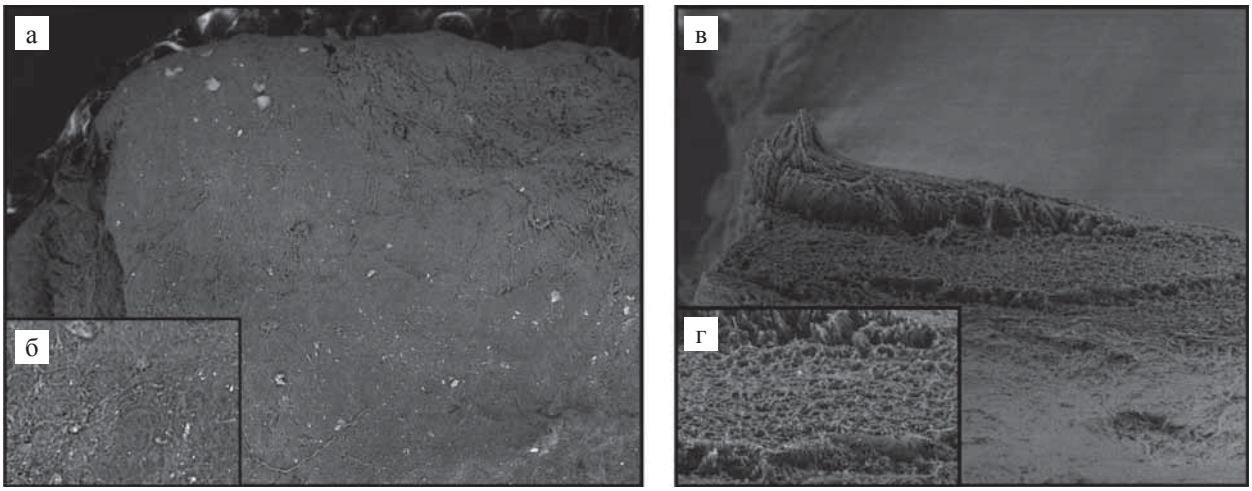

Рис. 4. Сегмент 2-й группы, повторная криоконсервация (СЭМ): а – внешняя поверхность со срезом и увеличенный фрагмент – б; в – поперечный срез и увеличенный фрагмент среза – г

Fig. 4. The segment of the 2nd group, repeated cryopreservation (SEM): a – outer layer with cut and enlarged fragment – б; в – inner layer with cut and enlarged fragment of cut – г

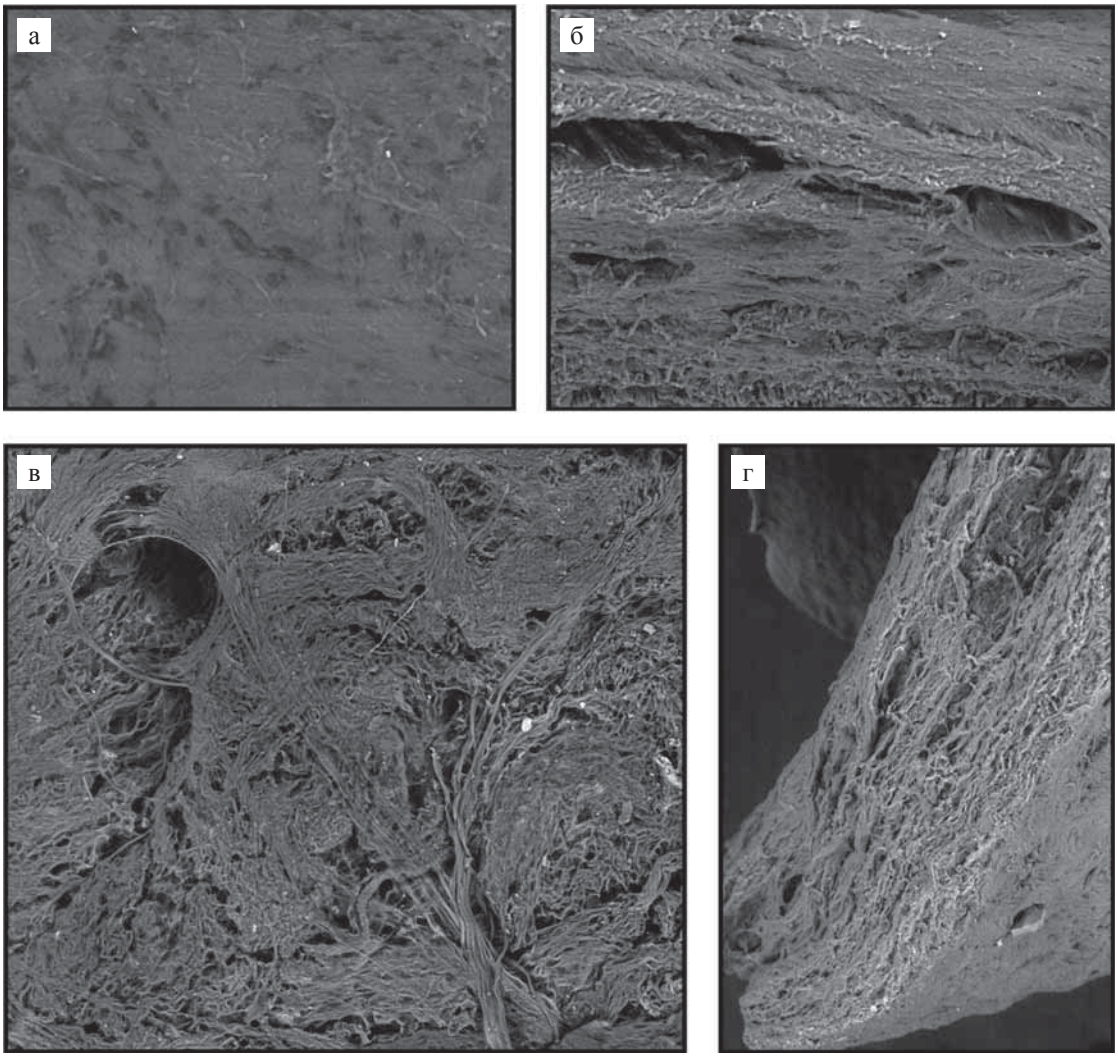

Рис. 5. Сегмент 3-й группы, стационарная криоконсервация (СЭМ): а – увеличенный фрагмент внешней поверхности; б – срез сегмента; в – внутренняя поверхность; г – внутренняя поверхность со срезом

Fig. 5. The segment of the 3rd group, stationary cryopreservation (SEM): a – outer layer; б – cut of outer layer; в – inner layer; г – inner layer with cut

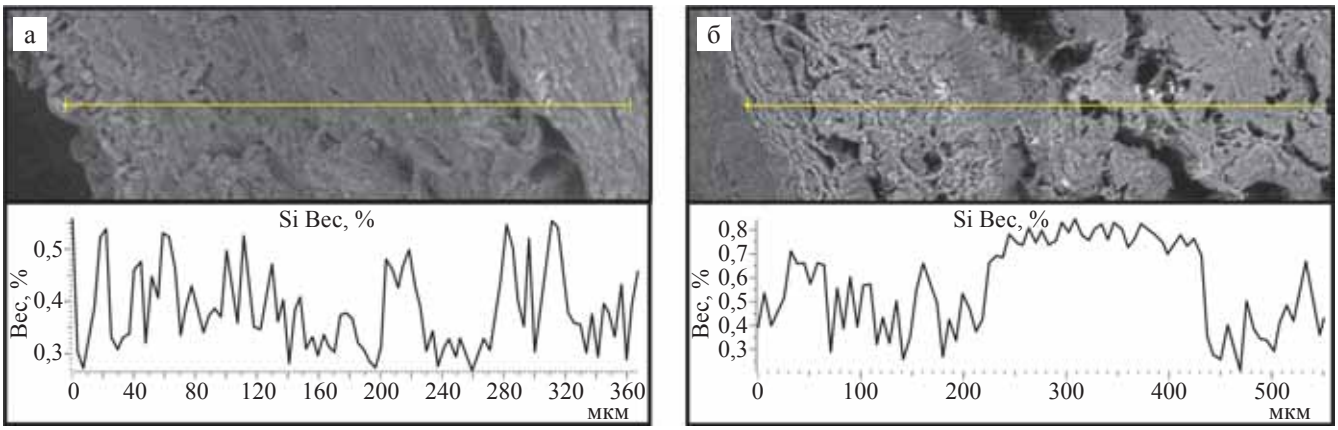

Рис. 6. Содержание кремния в образце 3-й (а) и 4-й (б) групп по данным химического микроанализа вдоль линии профиля (желтая) по данным ЭДС спектрометра на базе СЭМ

Fig. 6. EDS analysis for the silicon content in the sample of the 3rd (a) and the 4th (б) group made in AZtec software

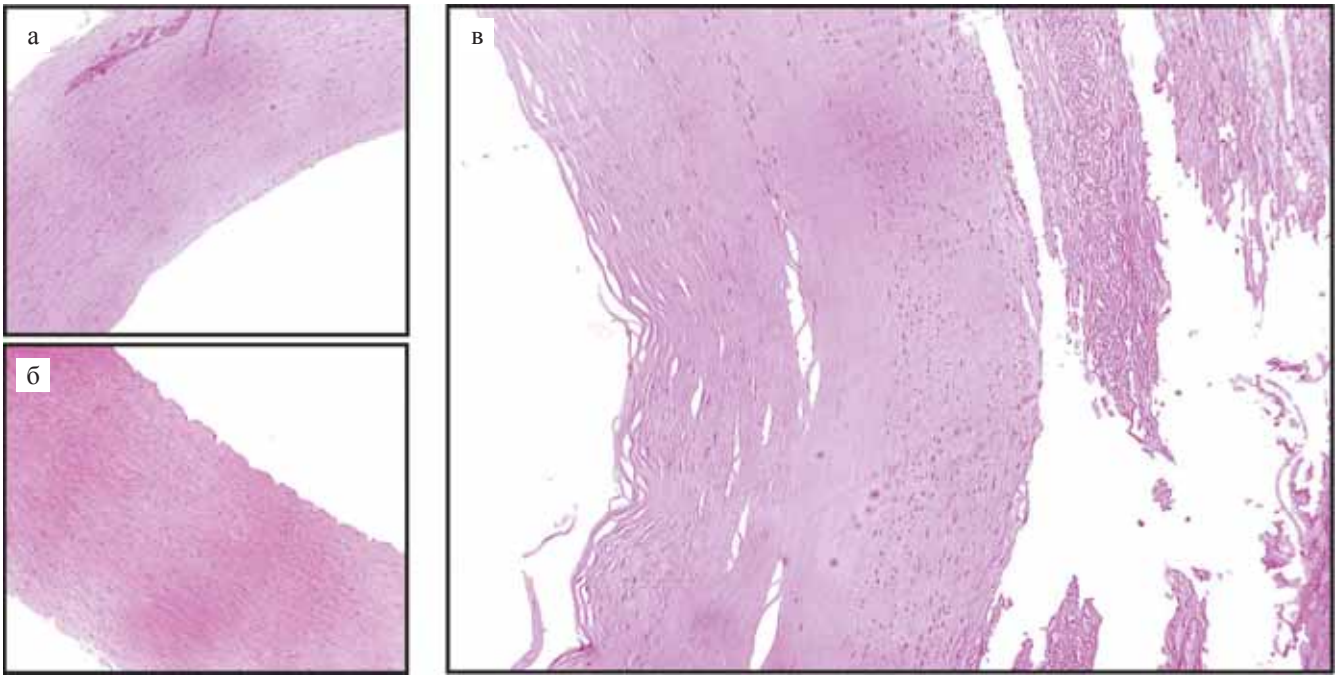

Рис. 7. Гистологическиие препараты образцов 1–3 (окраш. гематоксилин-эозином; ×50): а – нативный образец (контроль); б – однократная криоконсервация (группа 1); в – стационарная криоконсервация (группа 3)

Fig. 7. Histology of segments of groups 1–3 (hematoxylin-eosin, ×50): а – native (control); б – single cryopreservation; в – repeated cryopreservation

Гистологический анализ (рис. 7) показал отсутствие значимой разницы между сегментами 1, 2 и 4-й групп, но сегмент 3-й группы имел значительно поврежденный экстрацеллюлярный матрикс, наблюдалось отслаивание отдельных оболочек, выявлены обширные некротические очаги в области интимы, медии и адвентиции, лишенные клеток области, их ядра имели пикнотическую морфологию; структурные компоненты матрикса денатурированы.

Ограниченное биомеханическое тестирование сегмента сосуда 2-й группы и контроля

У нативного и криоконсервированного сегментов пиковые показатели и общий уровень усилия (рис. 8), необходимого для прокалывания слоев сосуда, значительно отличались при проколах в продольном и диагональном направлении, при поперечном проколе показатели сравнимы, однако количество разрывов ткани было меньше у криоконсервированного сегмента при всех проколах.

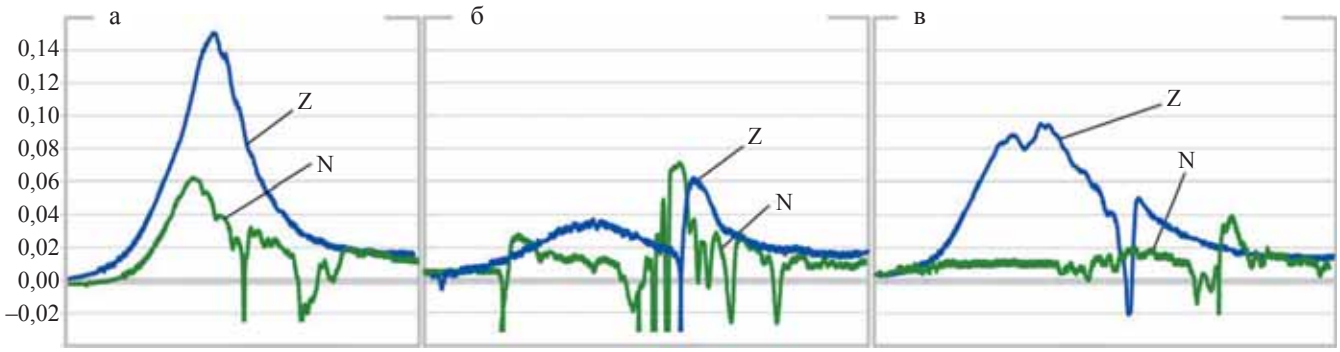

Рис. 8. Биомеханическое тестирование образцов (N – нативного и Z – подвергавшегося криоконсервации). Динамическая вязкость, 10^{12} с·кгс/м^3 от глубины: а – прокол индентором продольно; б – прокол индентором поперек; в – прокол индентором диагонально

Fig. 8. Biomechanical testing. Dynamic viscosity, 10^{12} s·kgs/m^3/time/depth: a – indenter puncturing (longitudinally); б – indenter puncturing (across); в – indenter puncturing (diagonally)

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты моделирования охлаждения и размораживания аллотрансплантата в ПДМС показали, что была достигнута скорость охлаждения ниже, чем в предыдущих опытах в условиях лаборатории с заливанием ПДМС на сосуд в контейнере (240 и 550 °С/мин), однако в выездной схеме практически не наблюдали снижения скорости охлаждения из-за уменьшения разности температур ПДМС и сосуда, градиент температур в самом сосуде выражен слабее, температурные поля однородны, что может указывать на более безопасную криоконсервацию и равномерный фронт охлаждения. В то же время на практике скорость охлаждения может быть выше за счет интенсификации перемещения сосуда по объему ПДМС. Более холодные участки на концах сосуда объясняются большим контактом с хладоносителем. Скорость размораживания сосуда, в два и более раз превышающая скорости охлаждения и его равномерность, благотворно влияет на эффект рекристаллизации и снижает термоупругие напряжения в ткани. Проведенные морфологические и биомеханические исследования подтверждают эти результаты, так, СЭМ и гистологический анализ с окрашиванием гематоксилином не выявили существенных различий между нативными и криоконсервированными сегментами, что может свидетельствовать о минимальных повреждениях, индуцированных кристаллизацией воды в сосудах, а также о сохранении клеточного компонента, помимо этого, не наблюдается разрыхления пучков коллагеновых волокон, при этом использование лантаноидного контрастирования для СЭМ позволило избежать дегидратации сегментов, что положительно сказалось на информативности методики. Разница в вязкоэластических свойствах при проколах в трех направлениях, как по пиковым показателям, так и по общему уровню интегрального усилия, может быть обусловлена тем, что во время криоконсервации в ПДМС происходит компактизация и упрочнение коллагеновых волокон и процесс гликации за счет равномерной и быстрой дегидратации ткани при низких температурах, в т. ч. за счет гидрофобности ПДМС, этот эффект можно также наблюдать в сегменте сосуда, криоконсервированного повторно. Что касается практически полного отсутствия разрывов ткани, характерного для нативного сегмента, то это может объясняться распределением разрушающей нагрузки не на отдельные волокна коллагена, а на сшитые комплексы волокон у криоконсервированного сегмента. Также разница в продольном направлении согласуется с данными литературы, по которым при одноосном растяжении замороженные ткани перикарда были прочнее нативных. Однако помимо этих причин следует брать в расчет выраженные признаки аутолиза в нативном сегменте, ограниченность метода и недостаточное количество проколов в сегментах, в связи с чем требуется проведение дополнительных тестов и оценки эластичности ткани.

Результаты опыта по повторной криоконсервации позволяют говорить о перспективности данной методики, ввиду того что не было выявлено значимых отличий у нативного и дважды криоконсервированного сегмента. Однако скорость повторного охлаждения, возможно, отличается от первичного, ввиду изначального покрытия сосуда ПДМС, возможной компактизации волокон и дегидратации, что требует дальнейшего изучения. Также наличие большого количества осколков в просвете сосуда и риск повреждения ими указывает на то, что оператору следует менять пластиковую подложку при повторной заморозке либо использовать вместо нее силиконовую трубку. Несмотря на это, крепление сосудов на подложках не давало спадаться их стенкам и застывать в неестественном положении, обеспечивая поддерживающий каркас для более

равномерного охлаждения, чем при двустороннем контакте с ПДМС. При применении подобных подложек ПДМС остается только на внешней поверхности сосуда и не требует отмывки, особенно с учетом широкого использования гидрофобных синтетических сосудистых протезов.

Криоконсервация с фантомом с последующей проверкой на нативном аллотрансплантате показала, что в случае с тканями медленные скорости охлаждения приводят к значительным повреждениям сосудов, а длительный контакт с ПДМС может приводить к побочным эффектам во время дегидратации, что согласуется с ранее проведенными опытами по хранению сосудов в ПДМС во время низкотемпературного банкирования [1]. Зоны холодового цитолиза и расслаивание в сегменте 3-й группы могут быть объяснены значительным осмотическим эффектом и кристаллизацией льда, а также дегидратацией ткани, которая в этом случае приводила к денатурации коллагеновых волокон и разрыву их цепей. Таким образом, несмотря на то что свойства ПДМС позволяют моделировать широкий диапазон скоростей охлаждения в зависимости от упаковки сосудов, быстрое охлаждение в его объеме более безопасно и перспективно, в т. ч. с учетом последующей децеллюляризации. Результаты опытов полностью согласуются с ранее проведенными экспериментами по стационарной криоконсервации аллотрансплантатов в ПДМС в условиях ламинарного потока [1, 2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, схема криоконсервации по выездной модели не только не уступает ранее опробованной стационарной схеме с иммерсионным охлаждением в ПДМС, но и превосходит ее по равномерности фронта охлаждения. Использование этой схемы может позволить в ближайшей перспективе снизить финансовые и временные затраты на увеличение пула донорских тканей различных типоразмеров с минимизацией рисков развития тепловой ишемии (равной 2 часам для сосудов) без использования жидкого азота и токсичной криопротекции. Дополнительно показана перспективность данной схемы для безопасной повторной криоконсервации, следует продолжить дальнейшее изучение этой возможности, так как ее актуальность не ставится под сомнение, особенно с учетом постоянного риска срыва трансплантаций, приводящих к негодности готовых аллотрансплантатов. Вопрос улучшения вязкоэластических свойств криоконсервированной ткани и ее структурной стабилизации стоит изучить отдельно с проведением тестирования на других экспериментальных стендах.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Лаук-Дубицкий СЕ, Астрелина ТА и др.* Новый метод комплексной криоконсервации и радиационной стерилизации сосудистых аллотрансплантатов человека для тканевой инженерии. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2015; 11 (4): 624–632. *Lauk-Dubitsky SE, Astrelina TA et al.* A novel comprehensive approach for human vascular allografts cryopreservation and radiation sterilization for the tissue engineering industry. *Saratov Journal of Medical Scientic Research*. 2015; 11 (4): 624–632 [In Russ, English abstract].
2. *Лаук-Дубицкий СЕ, Астрелина ТА и др.* Оценка применения полидиметилсилоксана низкой вязкости для криоконсервации и радиационной стерилизации сосудистых аллографтов человека. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2016; 12 (4): 662–670. *Lauk-Dubitsky SE, Astrelina TA et al.* Application evaluation of a polydimethylsiloxane low-viscosity for cryopreservation and radiation sterilization of human cadaveric vascular allografts. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2016; 12 (4): 662–670 [In Russ, English abstract].
3. *Li H, Li X, Luo C et al.* Icephobicity of polydimethylsiloxane-b-poly (fluorinated acrylate). *Thin. Solid. Films*. 2014; 573: 67–73.
4. *Wypych G.* PDMS polydimethylsiloxane. In Handbook of Polymers (Second Edition). *Chem. Tec. Publishing*. 2016: 340–344.
5. *Fujie H, Oya K, Tani Y et al*. Stem Cell-Based Self-Assembled Tissues Cultured on a Nano-Periodic-Structured Surface Patterned Using Femtosecond Laser Processing. *IJAT*. 2016; 10 (1): 55–61.
6. *Wang K et al*. Functional Modification of Electrospun Poly (ε-caprolactone) Vascular Grafts with the Fusion Protein VEGF–HGFI Enhanced Vascular Regeneration. *Applied Materials & Interfaces*. 2017; 9 (13): 11415–11427.
7. *Jung Y et al.* Scaffold-free, Human Mesenchymal Stem Cell-Based Tissue Engineered Blood Vessels. *Scientific Reports*. 2015; 5: 15116.
8. *Manuchehrabadi N.* Improved tissue cryopreservation using inductive heating of magnetic nanoparticles / Manuchehrabadi N., Gao Z., Zhang J. et al. *Science Translational Medicine*. 2017; 9 (379): eaah4586.
9. *Zhao XT.* Engineering amphiphilic membrane surfaces based on PEO and PDMS segments for improved antifouling performances / Zhao X.T., Su Y.L., Li Y.F. et al. *J. Membr. Sci.* 2014; 450: 111–123.
10. *Lim HM.* Use of decellularized cryopreserved allografts during single ventricle reconstruction results in lower HLA sensitization than standard allograft / Lim H.M. et al. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2017; 36 (4): S77–S78.
11. *Jang TH.* Cryopreservation and its clinical applications / Jang T.H., Park S.C., Yang J.H. et al. *Integrative Medicine Research*. 2017; 6 (1): 12–18.
12. *Севастьянов ВИ.* Клеточно-инженерные конструкции в тканевой инженерии и регенеративной меди-

цине. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2015; 17 (2): 127–130. *Sevastianov VI.* Cell-engineered constructs in tissue engineering and regenerative medicine. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2015; 17 (2): 127–130. (In Russ.) DOI:10.15825/1995-1191-2015-2-127-130.

13. *Глушкова ТВ, Севостьянова ВВ, Антонова ЛВ и др.* Биомеханическое ремоделирование биодеградируемых сосудистых протезов малого диаметра *in situ*. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2016; 18 (2): 99–109. *Glushkova TV, Sevostyanova VV, Antonova LV i dr.* Biomechanical remodeling of biodegradable small-diameter vascular grafts *in situ*. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2016; 18 (2): 99–109. (In Russ.) DOI:10.15825/1995-1191-2016-2-99-109.
14. *Готье СВ, Хомяков СМ.* Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2016 году. IX сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017; 19 (2): 6–26. *Gautier SV, Khomyakov SM.* Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2016 9th report of the National Registry. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2017; 19 (2): 6–26. (In Russ.) DOI:10.15825/1995-1191-2017-2-6-26.
15. *Резник ОН, Кузьмин ДО, Скворцов АЕ, Резник АО.* Биобанки – неоценимый ресурс трансплантации. История, современное состояние, перспективы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (4): 123–132. *Reznik ON, Kuzmin DO, Skvortsov AE, Reznik AO.* Biobanks are an essential tool for transplantation. History, current state, perspectives. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (4): 123–132. (In Russ.) DOI:10.15825/1995-1191-2016-4-123-132.

Статья поступила в редакцию 3.08.2017 г.
The article was submitted to the journal on 3.08.2017

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Подписку на журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» можно оформить в ближайшем к вам почтовом отделении.

Подписной индекс нашего издания в каталоге «**Газеты и журналы**» – **80248**

Ф. СП-1

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

80248 (индекс издания)

количество комплектов

на 2018 год по месяцам

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Куда (почтовый индекс) (адрес)

Кому (фамилия, инициалы)

Ф. СП-1

ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА

ПВ | место | литер

на журнал 80248 (индекс издания)

ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

стоимость	подписки	руб. коп.	количество комплектов
	переадресовки	руб. коп.	

на 2018 год по месяцам

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Куда (почтовый индекс) (адрес)

Кому (фамилия, инициалы)