

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ • ORIGINAL ARTICLES

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АНГИОГЕНЕЗА В РЕГУЛЯЦИИ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ИШЕМИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Шевченко Ю.Л.¹, Крайнюков П.Е.^{2,3}, Кокорин В.В.*^{1,2}

DOI: 10.25881/20728255_2023_18_1_14

¹ ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова», Москва² ФКУ «Центральный военный клинический госпиталь им. П.В. Мандрыка», Москва³ ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва

Резюме. Изложен материал, позволяющий сформировать или дополнить представление о роли ангиогенеза в регуляции структурных изменений соединительной ткани при хронической хирургической патологии ишемического генеза. Рассмотрена значимость и эффективность использования биоинженерных конструкций (мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток) их роль и влияние на процесс регенерации соединительной ткани.

Модель ишемической патологии соединительной ткани *in vivo* — механическое повреждение пяточного энтезоорганоконструкта (патент на изобретение №2779405) — позволила понять механизм непосредственной стимуляции неоангиогенеза путем активации проангиогенных факторов при локальной интеграции меченных мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток.

Цель. Изучить роль и влияние неоангиогенеза на процесс регенерации структурных элементов соединительной ткани при хронической хирургической патологии ишемического генеза путем морфологического исследования структур периастикулярных тканей.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 30 крысах-самцах стока Вистар, массой 200–300 г; разделенных на две равные группы — основную (n = 15) — имплантировали меченные мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, выделенные из интраабдоминального висцерального жира из стромально-васкулярной фракции и контрольную (n = 15) — процесс заживления протекал естественным путем. Моделирование острого механического пяточного энтезита выполнялось в условиях операционной с применением наркоза и соблюдением правил асептики и антисептики. Культивирование культуры клеток осуществляли при достижении конfluence — 80%, в эксперименте применяли клетки третьего пассажа, имплантированные в зону энтезоорганоконструкта, смоделированного острого механического пяточного энтезита. Пересаженные культуры помечались путем трансфекции конструкции с зеленым флуоресцирующим белком (GFP) в лентивирусном векторе.

На 1, 15, 30, а также 60-е сутки осуществляли вывод животных из эксперимента и последующие морфологические исследования: гистологическое, морфометрическое, иммуногистохимическое.

Результаты. Репарация соединительной ткани, как в основной, так и в контрольной группе наступала к 30-м суткам. Однако фиброзный регенерат области оперативного вмешательства основной группы (n=15) отличался структурированностью и упорядоченностью коллагеновых волокон, а также стабильностью и плотностью вновь образованных сосудов, сгруппированных преимущественно в зоне дефекта, в четырехкратно преобладающем количестве, начиная с 15 суток.

На основании полученных данных был установлен принципиально важный факт — в репаративном процессе непосредственное участие принимали пересаженные клетки с фибро- и хондрогенным дифференцировочным потенциалом. Данное обстоятельство дополняет представления об участии пересаженных ММСК в восстановительных процессах, сформировавшиеся на сегодняшний день, поскольку демонстрирует их непосредственное участие в процессе регенерации *in vivo*, а не только в искусственных культуральных условиях.

Ключевые слова: энтез, энтезопатия, неоангиогенез, регенерация, эксперимент, периастикулярная соединительная ткань, биоинженерия, омикс, клеточные технологии.

ANGIOGENESIS ROLE IN THE REGULATION STRUCTURAL CHANGES OF CONNECTIVE TISSUE IN CHRONIC SURGICAL PATHOLOGY ISCHEMIC GENESIS (EXPERIMENTAL STUDY)

Shevchenko Yu.L.¹, Kraynyukov P.E.^{2,3}, Kokorin V.V.*^{1,2}¹ Pirogov National Medical and Surgical Center, Moscow² P.V. Mandryka Central Military Clinical Hospital, Moscow³ RUDN University, Moscow

Abstract. The article presents the material that allows to form or supplement the idea of the role of angiogenesis in the regulation of structural changes in connective tissue in chronic surgical pathology of ischemic genesis. The significance and effectiveness of the use of bioengineered structures (mesenchymal multipotent stem cells), their role and influence on the process of connective tissue regeneration are considered.

The model of ischemic pathology of connective tissue *in vivo* — mechanical damage of the calcaneal entesesorganocomplex (patent for an invention №2779405) — allowed us to understand the mechanism of direct stimulation of neoangiogenesis by activating proangiogenic factors with local integration of labeled mesenchymal multipotent stem cells.

Purpose. To research the role and influence of neoangiogenesis on the process of regeneration of structural elements of connective tissue in chronic surgical pathology of ischemic genesis, by morphological examination of the structures of periarticular tissues.

Materials and methods. The experimental study was performed on 30 male Wistar stock rats weighing 200–300 g; divided into two equal groups — the main one (n=15) — labeled multipotent mesenchymal stem cells isolated on the basis of intraabdominal visceral fat from the stromal vascular fraction and the control one (n=15) were implanted — the healing process proceeded naturally. Modeling of acute mechanical calcaneal enthesitis was performed in the operating room, with the use of anesthesia and compliance with the rules of asepsis and antiseptics. Cell culture was cultured when confluence was reached — 80%, in the experiment, cells of the third passage implanted in the zone of the entesesorganocomplex, simulated acute mechanical calcaneal enthesitis, were used. Transplanted cultures were labeled by transfection of a construct with a green fluorescent protein (GFP) in a lentiviral vector.

On the 1st, 15th, 30th, and 60th days, animals were removed from the experiment and subsequent morphological studies were carried out: histological, morphometric, immunohistochemical.

Results. Connective tissue repair, both in the main and in the control group, occurred by the 30th day. However, the fibrous regenerate of the surgical intervention area of the main group (n=15) differed in the structuring and ordering of collagen fibers, as well as the stability and density of newly formed vessels grouped mainly in the defect zone, in a fourfold predominant amount, starting from 15 days.

Based on the data obtained, a fundamentally important fact was established — transplanted cells with fibro- and chondrogenic differentiation potential were directly involved in the reparative process. This circumstance complements the ideas about the participation of transplanted MMSCs in regenerative processes that have been formed to date, since it demonstrates their direct participation in the regeneration process *in vivo*, and not only in artificial cultural conditions.

Keywords: enthesitis, enthesopathy, neoangiogenesis, regeneration, experiment, periarticular, connective tissue, bioengineering, omix, cellular technologies.

* e-mail: kokorinvv@yandex.ru

Введение

Последние годы существенно возрос интерес к основному структурному компоненту всех органов и тканей живых организмов — соединительной ткани, как в норме, так и при патологии. Новые инженерные решения позволили рассмотреть с других ракурсов парадигмы протекающих в ней патологических процессов. Однако осознать их значимость еще только предстоит.

Такие биологические процессы как регенерация и деградация, протекают в любой период жизни человека. Взаимодействия, раскрывающие механизм запуска той или иной системы, на сегодняшний день, пока остаются недоступны нашему пониманию в полной мере. Однако проведенные исследования достоверно указывают на скрытый потенциал соединительной ткани во всех анаболических процессах.

Наглядным примером ключевой роли соединительной ткани является образование зиготы массой 5×10^{-9} г из яйцеклетки диаметром 0,15 мм, которая оплодотворяется спермием диаметром 0,005 мм и приводит к рождению доношенного плода средней массой 3400 г и размером 500 мм. Трудно представить масштабность происходящих процессов, НО! итогом является увеличение массы примерно в миллиард раз! основу которой составляет соединительная ткань.

Вместе с тем, соединительная ткань и система кровообращения образуются в процессе эмбриогенеза из одного мезодермального листка, что объясняет их неотъемлемую связь между собой и непосредственное влияние друг на друга в развитии и последующей жизни макроорганизма.

В нашем исследовании мы столкнулись с важной ролью ангиогенеза в регуляции структурных изменений соединительной ткани при хронической хирургической патологии ишемического генеза, как одной из составных частей сложного механизма репарации.

Ангиогенез — высокорегулируемый многокомпонентный процесс, задействующий огромное количество клеток организма: для передачи сигналов, активации, пролиферации, дифференцировки, а также, межклеточной коммуникации. Скоординированное выполнение и интеграция подобных сложных сигнальных программ имеет решающее значение для физиологического ангиогенеза при нормальном росте, развитии, физической нагрузке и при заживлении ран, в то время как их нарушение критически связано с многими основными заболеваниями человека, такими как рак, сердечно-сосудистыми заболеваниями, нарушением зрения и др.

Расстройство регуляции ангиогенеза — широко наблюдаемое явление при различных заболеваниях человека. Исследователями выделено более 70 нозологических форм, причиной которых служит нарушение образования сосудов, и этот перечень постоянно растет [1].

При таких заболеваниях как ишемическая болезнь сердца (ИБС), заболевание периферических артерий (ЗПА), инфаркт миокарда (ИМ) и ишемия головного

мозга недостаточное образование стабильных и проницаемых кровеносных сосудов является основной причиной стойкого повреждения и отсутствия естественной регенерации ишемизированной ткани [2; 3].

Современная медицина отводит ключевую роль коррекции нарушений регионарного кровообращения в этиопатогенетическом лечении подавляющего большинства хирургических болезней.

Однако остаются нерешенными вопросы, неотъемлемо связанные с филогенетическим развитием организма, в ходе которого сформировались особые анатомические структуры, исходно имеющие недостаточную васкуляризацию, без выраженного магистрального кровотока, где для обеспечения нормальной функции чрезвычайно важно состояние микроциркуляции.

Нарушение кровообращения в этих тканях вследствие различных повреждающих факторов (воспаления, травм, инфекции, аутоиммунных и генетических изменений), восстановить, на сегодняшний день, традиционными методами ангиохирургии не представляется возможным.

Именно по этой причине, все больше и больше современных исследователей обращают свой взор в сторону биоинженерии и генно-клеточных технологий, которые обладают высоким регенераторным потенциалом, в том числе неоангиогенеза и ауторепарации, отводя в будущем им ведущую роль в лечении заболеваний.

Одной из самых сложных задач в тканевой инженерии является не только неоваскуляризация, без которой питательные вещества, необходимые для регенерации, не доставляются к тканям-мишеням, но и формирование достаточной плотности, стабильного функционирующего сосудистого русла, необходимого для снижения гибели клеток, обеспечивающего поступление питательных и защитных факторы в течение длительного времени.

Ангиогенез должен быть завершен при определенной плотности и в течение соответствующего периода времени, чтобы предотвратить некроз клеток. Неспособность решить эту проблему приводит к ухудшению функциональности ткани по сравнению с нативной, значительно снижая жизнеспособность клеток [4].

Наиболее яркой иллюстрацией служит опыт коронарной хирургии у пациентов, которым в силу различных причин невозможно выполнить аорто-коронарное шунтирование, в этих случаях лечебного эффекта удается добиться с помощью дополнительной стимуляции экстракардиальной реваскуляризации [5].

На сегодняшний день заболевания соединительной ткани, не поддающиеся пониманию их развития, не имеют патогенетического лечения. Ярким примером служит — иммобилизирующий интерстициальный фиброз сердца — самостоятельная патология и одна из главных причин развития хронической сердечной недостаточности. Гипотетически структура заболевания тесно связана с измененными физическими свойствами межклеточной соединительной ткани, а именно, чрезмерным ее

уплотнением, что препятствует нормальному функционированию кардиомиоцитов и по сути приводит к их «иммобилизации», изменениям соединительнотканного каркаса миокарда и в итоге к угнетению его работы.

Расшифровка молекулярных и структурных основ «перестройки» соединительной ткани сердца и собственно миокарда при фиброзе является ключом к пониманию патогенетических основ развития некурабельной сердечной недостаточности, не связанной или связанной с ишемическими изменениями сердца.

До настоящего времени технологии лечения «неподающихся пониманию» заболеваний осуществляются в основном по пути донорства тканей и органов. Поврежденные ткани в организме человека, способность которых к ауторегенерации остается нераскрытой, заменяются исключительно донорскими органами.

Однако множество проблем, связанных с этим разделом медицины: постоянные ограничения на донорство органов (поиск подходящего донора, возраст, пол, географические данные, группа крови, иммунные реакции, токсичность органов и др.), длительный прием иммуносупрессивных препаратов, восстановление, ограниченный доступ групп населения к современным технологиям и многое другое — также не позволяют считать этот метод перспективным [6].

В последние годы из-за пандемии COVID-19 в некоторых странах количество операций по трансплантации сократилось на 50%, выживаемость в первый год составила 20%, средний срок ожидания — два года. Неудивительно, что восстановление структур и функции органов естественным путем является очевидным приоритетом современной медицины [7].

Цель исследования

Изучить роль и влияние неоангиогенеза на процесс регенерации структурных элементов соединительной ткани при хронической хирургической патологии ишемического генеза, путем морфологического исследования структур периартикулярных тканей.

Материалы и методы исследования

Эксперимент выполнен на 30 крысах-самцах стока Вистар массой 200–300 г (питомник «Рапполово», г. Санкт-Петербург), распределенных по 15 особей на 2 исследуемых группы: основную ($n = 15$) и контрольную ($n = 15$). Всем особям под наркозом в условиях операционной с соблюдением правил асептики и антисептики, выполнено оперативное моделирование острого механического пяточного энтезита (патент на изобретение №2779405). В основной группе имплантировали меченные мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, а в группе контроля процесс заживления протекал естественным путем.

Содержание и работу с лабораторными животными осуществляли в соответствии с требованиями приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации

от 23.08.2010 г. №708н «Об утверждении правил лабораторной практики». Выведение животного из эксперимента, осуществляли путем летальной дозы наркоза (Золетил 100, Virbac).

Этапы экспериментального исследования

Культивирование мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток: ММСК выделяли из интраабдоминального висцерального жира и полученной на его основе стромально-васкулярной фракции, которые помещали в стерильную пробирку, наполненную солевым раствором Дульбекко (Биолот, Россия). В условиях культурального бокса, с соблюдением условий асептики и антисептики биоматериал тщательно измельчали хирургическим инструментом, экспозиция в течение 10 мин. до визуально различимого расслоения полученной суспензии. Верхний маслянистый слой и нижний слой раствора удаляли. Средний слой помещали в равный объем 0,1% раствора коллагеназы (Биолот, Россия), ферментативную обработку проводили при температуре 37 °С на магнитной мешалке. Фермент инактивировали через 40 мин. равным объемом среды ДМЕМ (Биолот, Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, Gibco, США). Центрифугировали в течение 10 мин. при 500 g (LMC-4200R, BioSan, Латвия), супернатант удаляли. Осадок ресуспензировали в лизирующем буфере для разрушения эритроцитов (155 мМ NH_4Cl , 10 мМ KHCO_3 , 1 мМ ЭДТА). Спустя 10 мин. центрифугировали, осадок ресуспензировали в среде ДМЕМ, заключительный раз центрифугировали для удаления следов рабочих растворов. С помощью микроскопа AxioLab. A1 (Carl Zeiss Microscopy, Германия) осуществляли подсчет живых клеток в камере Горяева при окрашивании 0,4% раствором трипанового синего (Биолот, Россия). ММСК помещали в культуральные флаконы T-25 с адгезивным покрытием в плотности 1200 клеток/см². Культивирование осуществляли в CO_2 -инкубаторе при температуре 37°C, 5% CO_2 в условиях абсолютной влажности в питательной среде ДМЕМ с добавлением 10% ЭТС, 2 мг/мл L-глутамин (Биолот, Россия), 50 мкг/мл гентамицина (Биолот, Россия). Смену среды производили на следующий день после посева клеток, далее — дважды в неделю.

При достижении ММСК 80% конфлюэнтности осуществляли пассаж культуры. Для этого питательную среду удаляли из культуральных флаконов, клетки промывали солевым раствором Дульбекко без Ca^{2+} и Mg^{2+} (Биолот, Россия) для удаления следов сыворотки. Во флаконы вносили по 2 мл 0,25% раствора трипсина-ЭДТА, инкубировали 10 мин. при 37 °С. Фермент инактивировали равным объемом полной питательной среды, центрифугировали суспензию в течение 10 мин. при 500 g. Подсчет живых клеток производили в камере Горяева при окрашивании 0,4% раствором трипанового синего, клетки помещали в культуральные флаконы T-25 с адгезивным покрытием в плотности 1200 клеток/см². В эксперименте использовали клетки третьего пассажа, путем имплантации в зону меха-

нического повреждения пяточного ЭОК, с последующим его морфологическим исследованием.

Трансфекция ММСК. Для объективизации эксперимента пересаживаемые ММСК метили путем трансфекции конструкции с GFP в лентивирусном векторе.

Для получения рекомбинантных лентивирусов проводили ко-трансфекцию с использованием кальций-фосфатного метода тремя плазмидами (оболочечная, упаковочная и векторная) пакующей линии клеток НЕК293Т.

Для сборки лентивируса использовали следующие плазмиды: pCMV-VSV-G (оболочечная плаزمид, plasmid ID №8454), psPAX2 (упаковочная плазмид, plasmid ID №12260) и EF.GFP (векторная плазмид, plasmid ID №17616).

Клетки НЕК293Т культивировали в 10 см культуральной чашке до плотности монослоя 70%. Трансфекцию проводили через 2 часа после смены культуральной среды трансфекционной смесью: 10,14 мкг векторной плазмиды, 3,51 мкг оболочечной плазмиды, 6,63 мкг упаковочной плазмиды, 293 мкл буфера TE 0,1x (10 mM Трис, 1 mM ЭДТА pH 8,0), 151 мкл воды MilliQ, 50 мкл 2,5 M раствора CaCl₂, 506 мкл 2x раствора HBS (0,280 M NaCl, 0,1 M Hepes, 0,0015 M Na₂HPO₄, pH 7,12). Через 6–8 часов после трансфекции меняли культуральную среду на свежую.

Сбор вирусного супернатанта проводили 3 раза через каждые 12 часов. Супернатанты объединяли и хранили при 4 °С. По завершению сбора супернатанты центрифугировали в течение 5 мин. при 1500 об/мин. и фильтровали через нейлоновый фильтр (Biofil®) с размером пор 0,22 мкм.

Концентрирование рекомбинантных лентивирусных частиц проводили методом ультрацентрифугирования в ультрацентрифуге Optima™ L-90K (Beckman Coulter, Inc.) с ускорением 26000 об/мин. в течение 2 часов при температуре 4 °С. Осадок рекомбинантного лентивируса ресуспендировали в 2 мл культуральной среды, содержащее переносили в криобирку и хранили в низкотемпературном морозильнике DW86L.628 (Haier Medical and Laboratory Products Co, Ltd) при -80 °С.

Гистологическое исследование. Изготовление гистологических препаратов осуществлялось по стандартной схеме для костной ткани, включая этап декальцинации (Микроскопическая техника, 1996), которую проводили по схеме: исследуемые фрагменты костной ткани декальцинировали в растворе «Софтидек» (Биовитрум, Россия) при соотношении объема объекта и объема декальцинирующей жидкости 1:50. Смену раствора производили каждые 24 час., одновременно проверяя степень декальцинации при помощи иглы. После завершения декальцинации образцы промывали водопроводной водой в течение 30 мин. Гистологическую проводку, заливку и микротомию при толщине срезов 5 мкм осуществляли по стандартной методике. Препараты окрашивали обзорными красителями (гематоксилином и эозином) и по Маллори.

Морфометрическое исследование. В целях объективизации полученных результатов было проведено морфометрическое исследование микрофотографий 30 продольных срезов пяточных костей. Всю площадь срезов фотографировали при световой микроскопии при увеличении 100 (объектив HC PL FLUOTAR 10x/0,30 PH1, площадь фотографии 2048x1536 пикселей). Каждому изображению присваивали порядковый номер с формированием серии из 10 микрофотографий на каждый микропрепарат. Затем в выбранных полях зрения проводили оценку частоты встречаемости в полях зрения (в шт.) новообразовавшихся кровеносных сосудов в области энтезиса. Результаты морфометрического исследования анализировали с помощью программы Excel программного пакета Microsoft Office 2010 по трём временным точкам: 15, 30, 60 суток после проведения операции.

Иммуногистохимическое исследование. При помощи моноклональных антител выявляли маркерный белок в костно-хрящевых регенератах. Для исследования были использованы антитела к GFP (Green Fluorescents Protein) — ab290 (Abcam, Великобритания). Для детекции продукта реакции применяли методику EnVision™/HRP (Dako, Дания) с соответствующим набором реактивов. Затем, гистологические срезы декальцинированных образцов подвергали демаскировке антигенов высокотемпературной обработкой в цитратном буфере. После, с реакцией с первичными антителами, выполняли визуализацию продукта реакции с помощью реагентов DAB-kit (Dako, Дания). Продукт реакции характеризовался коричневым цитоплазматическим окрашиванием.

Анализ данных выполнен на персональном компьютере с использованием приложения Microsoft Excel и пакета статистического анализа данных Statistica 10 for Windows (StatSoft Inc., USA). Для описания количественных переменных использовалась медиана. Оценку различия между группами производили при помощи критерий Мана Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Обсуждение и выводы

Проведение эксперимента на участке пяточного энтезоорганоконструкса при моделировании механической энтезопатии не является случайным выбором. Энтез по своему строению практически лишен сосудов, является наиболее бескровным органом, что, по нашему мнению, наиболее соответствует структуре патологических процессов, протекающих в соединительной ткани при ее недостаточной васкуляризации, а структурные элементы энтезиса филогенетически устойчивы к условиям ишемии.

Заболевания соединительной ткани имеют как ишемическую, так и неишемическую природу, однако объединить данные, этиопатогенетически не связанные патологические процессы может средний зародышевый листок — мезодерма, которая определяет развитие и функционирование клеток соединительной ткани в процесс эмбрио- и онтогенеза.

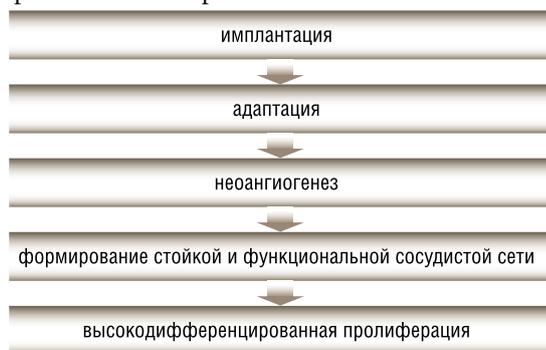
Систему кровообращения необходимо рассматривать в парадигме многоуровневой системы регуляции организма, общепринятые функции которой являются только одной из видимых сторон структур многогранной соединительнотканной системы, мезодермальное развитие которых является объединяющим для понимания общности систем.

Присутствующая во всех тканях и структурах организма система кровообращения является неотъемлемой частью клеточной «сигнальной» системы, участвует в рецептивно-обратной связи, реагируя на любые воздействия внешних и внутренних факторов, регулирует гомеостаз, и, конечно же, участвует в процессах как стимуляции регенерации, репарации, в том числе и неогенез, так и дегенеративных процессах при ее угнетении.

Многие хирургические болезни патогенетически связаны с нарушением микроциркуляции. Ишемия является естественным фактором стимуляции ангиогенеза, физиологическим процессом, от которого зависит по какому пути пойдет развитие заболевания. Так, например, если острая фаза заболевания по ряду причин переходит в хроническую, то уменьшается стимуляция факторов ангиогенеза и, соответственно, наступает фаза адаптации тканей и клеток к условиям ишемии, что ведет к тому, что патологические процессы поврежденных тканей, развившиеся и протекающие в этих условиях, затягиваются на долгие годы, а одной из причин, ведущих к этому, является недостаточная плотность и устойчивость сформированной сосудистой сети.

Остается неизученной проблема имплантации биоинженерных конструкций, которая заключается не только в выборе носителя или источника клеточного материала, но и периоде их адаптации к новым условиям роста, который невозможен без стойкой функциональной сосудистой сети.

Процесс нашего эксперимента схематично можно изобразить таким образом:



На сегодняшний день существует проблема культивирования клеток *in vitro*. Из-за отсутствия стандартизированных питательных сред клетки утрачивают ряд специфических маркеров, поэтому каждая исследовательская группа разрабатывает свою, имеющую ряд преимуществ и недостатков. Возможно предположить, что в будущем идеальным условием культивирования

биоинженерной конструкции будет непосредственно ткань живого организма.

Заключение

Внедрение биоинженерных технологий и ангиогенных конструкций в клиническую практику требует их разностороннего изучения. Перспективным является применение «Омикс» технологий, которые позволяют получить данные генома, транскриптома, протеома, метаболома и др., то есть позволяют провести подробный анализ большого объема информации и, возможно, проследить процесс преобразования структуры белков и, в дальнейшем, определить некие признаки организма, маркеры, значимые для диагностики и лечения конкретного заболевания. Иначе говоря, омиксные технологии являются одним из главных инструментов геномной и постгеномной медицины. Пока в нашей стране и во всем мире подобная работа идет на уровне научных исследований, поиска. Предполагается, что постгеномная медицина позволит улучшить качество диагностики и прогнозирования течения болезни. Возможно, врач будет формировать индивидуальный набор лекарств, опираясь на «генетический паспорт» пациента. Но пока это совсем новое направление в медицине, ему всего несколько лет, и сегодня методы геномной и постгеномной медицины в стандартные протоколы диагностики и лечения, конечно, не входят [8].

Другой стороной вопроса является применение генотерапевтических препаратов, к которым по-прежнему остается рациональная настороженность относительно их безопасности. Это обусловлено тем, что ангиогенные факторы роста, увеличение эндогенного синтеза которых лежит в основе генопосредованной индукции роста и развития сосудов, теоретически могут являться звеньями патогенеза ряда заболеваний.

Рассматривая в этом ракурсе иммобилизирующий интерстициальный фиброза сердца, мы сталкиваемся с непростыми задачами диагностики и лечения. Предполагаем что для диагностики иммобилизирующего интерстициального фиброза сердца необходимо исследование и создание метаболического профиля пациента, используя поли«омиксные» технологии, который обеспечит контроль эффективности проводимого лечения, а в основе последнего, по-видимому, должен быть положен принцип аутоиммунной саморегуляции, в некоторой степени направленной на подавление реактивности соединительной ткани сердца, но в то же время потенцирующий систему мезодермальных дериватов. Возможно применение технологии ультразвуковой ударно-волновой терапии и биоинженерной имплантации клеток даст положительный эффект за счет уменьшения плотности соединительной ткани, разрыва ее волокон и таргетного потенцирования репаративной регенерации. Однако, все это требует дальнейших исследований [9].

Анализ причин ограниченной эффективности стандартных подходов в лечении больных патологией

соединительной ткани свидетельствует о необходимости подробного изучения этиопатогенетических механизмов с целью совершенствования методов консервативного лечения и хирургических вмешательств с учетом изученных факторов, анатомо-физиологических особенностей, а также с использованием современных достижений регенеративной медицинской биологии [10; 11].

Ангиогенный эффект в ишемизированных тканях при применении генных конструкций реализуется посредством ещё не до конца изученных механизмов. Однако, эффективность этого подхода доказана в ходе проведенных доклинических и клинических исследований и позволяет рассматривать его как безопасный инструмент в комплексном лечении хирургических заболеваний, одним из факторов патогенеза которых является ишемия.

Правильный выбор источника клеток и метода их имплантации играет жизненно важную роль в ангиогенезе [12]. Еще одной серьезной проблемой остается управление дифференцировкой клеток [13], а также понимание необходимых механических и физических стимулов, которые нужно исключительно точно смоделировать.

Современная наука невозможна без эксперимента. Экспериментальная хирургия содержит бесценный опыт фундаментальных знаний, глубокие основополагающие теоретические принципы, позволяющие найти патогенетический подход в лечебной тактике неизученных на сегодняшний день заболеваний [14–16]. Только практическое подтверждение выдвинутых гипотез имеет жизненное право бытия.

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*. 2005; 438 (7070): 932–6. doi: 10.1038/nature04478. PMID: 16355210.
- Iyer SR, Annex BH. Therapeutic Angiogenesis for Peripheral Artery Disease: Lessons Learned in Translational Science. *JACC Basic Transl Sci*. 2017; 2(5): 503–512. doi: 10.1016/j.jaccbts.2017.07.012.
- Zhang Y, Wang H, Oliveira R, Zhao C, Popel AS. Systems biology of angiogenesis signaling: Computational models and omics. *WIREs mechanisms of disease*. 2022; 14(4): e1550. doi: 10.1002/wsbm.1550.
- Shokrani H, Shokrani A, Sajadi SM, Seidi F, Mashhadzadeh AH, Rabiee N, Saeb MR, Aminabhavi T, Webster TJ. Cell-Seeded Biomaterial Scaffolds: The Urgent Need for Unanswered Accelerated Angiogenesis. *Int J Nanomedicine*. 2022; 17: 1035–1068. doi: 10.2147/IJN.S353062.
- Шевченко Ю.Л., Борщев Г.Г. Экстракардиальная реваскуляризация миокарда у больных ИБС с диффузным поражением коронарного русла. — М.: Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова, 2022. — 292 с. [Shevchenko YuL, Borshhev GG. E`kstrakardial`naya revaskulyarizatsiya miokarda u bol`ny`x IBS s diffuzny`m porazheniem koronarного русла. М.: Nacional`ny`j mediko-xirurgicheskij Centr im. N.I. Pirogova. 2022. 292 p. (In Russ.)]
- Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, McClinton A, Laurencin CT. Progress in 3D bioprinting Technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*. 2020; 226: 119536. Elsevier. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536.
- Mahfouzi SH, Tali SHS, Amoabediny G. 3D bioprinting for lung and tracheal tissue engineering: criteria, advances, challenges, and future directions. *Bioprinting*. 2021; 21: e00124.
- Терехова А.А., Нелюбина Е.Г., Бобкова Е.Ю., и др. Омиксные технологии: правда или быль? // Парадигма. — 2019. — №2. — С.179–182. [Terexova AA, Nelyubina EG, Bobkova EYu and all. Omikсны`e tehnologii: pravda ili byl`? Paradigma. 2019; 2: 179–182. (In Russ.)]
- Шевченко Ю.Л. Имобилизирующий интерстициальный фиброз сердца. // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. — 2022. — Т.17. — №2. — С.4–10. [Shevchenko YuL. Immobiliziruyushhij intersticial`ny`j fibroz serdca. Vestnik Nacional`ного mediko-xirurgicheskogo Centra im. N.I. Pirogova. 2022; 17(2): 4–10. (In Russ.)]
- Шевченко Ю.Л. Экспериментальное обоснование возможности имплантации эмбриональных кардиомиоцитов в комплексной терапии миокардиальной слабости // Физиология человека. — 1999. — Т.25. — №4. — С.109–117. [Shevchenko YuL. E`kspperimental`noe obosnovanie vozmozhnosti implantatsii e`mbrional`ny`x kardiomiocitov v kompleksnoy terapii miokardial`noj slabosti. Fiziologiya cheloveka. 1999; 25(4): 109–117. (In Russ.)]
- Шевченко Ю.Л. Медико-биологические и физиологические основы клеточных технологий в сердечно-сосудистой хирургии. — СПб.: Наука, 2006. — 263 с. [Shevchenko YuL. Mediko-biologicheskije i fiziologicheskije osnovy` kletochny`x tehnologii v serdechno-sosudistoj xirurgii. Nauka. 2006. 263 p. (In Russ.)]
- Gilpin SE, Wagner DE. Acellular human lung scaffolds to model lung disease and tissue regeneration. *Eur Respir Rev*. 2018; 27: 180021.
- Iravani S, Varma RS. Green synthesis, biomedical and biotechnological applications of carbon and graphene quantum dots. *Environ Chem Lett*. 2020; 1–25. doi: 10.1007/s10311-020-00984-0.
- Кованов В.В. Эксперимент в хирургии. — М.: Мол. Гвардия, 1989. — 237с. [Kovanov VV. E`kspperiment v xirurgii. Mol. Gvardiya. 1989. — 237p. (In Russ.)]
- Шалимов С.А. Руководство по экспериментальной хирургии. — М.: Медицина, 1989. — 270 с. [Shalimov SA. Rukovodstvo po e`kspperimental`noj xirurgii. Shalimov SA, Radzixovskij AP, Kejsevich LV. Medicina. 1989; — 270 p. (In Russ.)]
- Экспериментальная хирургия / Под. ред. Шевченко Ю.Л. — изд. 2-е, доп. — М.: Династия, 2011. — 583 с. [E`kspperimental`naya xirurgiya. Shevchenko YuL., editor. Dinastiya. 2011. — 583 p. (In Russ.)]