

Изучение внеклеточного матрикса свиных сердечных клапанов, прошедших этап децеллюляризации

М.В. ПЕТРОВА, И.Ю. МОКРИК, Д.Л. ЮДИЦКИЙ

ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака НАМН Украины», г. Донецк

Study of Extracellular Matrix of Pig Heart Valves Passed a Decellularization Stage

M.V. PETROVA, I.YU. MOKRIK, D.L. YUDITSKY

V.K. Gusak Institute of Urgent and Recovery Surgery
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Donetsk, Ukraine

Ежегодно в мире проводится около 275 000 операций по протезированию сердечных клапанов. При этом наряду с механическими протезами применяются биологические заменители сердечных клапанов и сосудов. Материалы, используемые при их изготовлении, не должны вызывать хроническое воспаление; не проявлять канцерогенный эффект; не подвергаться кальцификации; сохранять физико-химические свойства, обеспечивающие функционирование имплантатов (в том числе сохранять адгезивность для клеток реципиента).

Данное исследование было посвящено оценке целостности и физиологической интактности внеклеточного матрикса, полученного в ходе децеллюляризации сердечных клапанов.

В работе использовали сердечные свиные клапаны, прошедшие обработку апоптоз-вызывающим раствором (раствор ЭДТА («Sigma», США) в концентрации 10 мМ) в течение 2-х суток. По истечении данного времени экспозиции образцы тщательно отмывали в среде, содержащей соли в концентрации, близкой к физиологической, и подвергали дальнейшему гистологическому анализу. Серийные гистологические срезы толщиной 5 мкм изготавливали по стандартной методике и затем окрашивали по Вергофу для оценки состояния эластических волокон, а также производилась постановка ШИК-реакции с целью исследования состояния коллагеновых волокон.

Согласно результатам гистологического анализа в области аорты и фиброзного кольца наблюдается ШИК-положительная реакция, которая наиболее интенсивно выражена в области створки клапана. После окраски эластических волокон по Вергофу участок стенки аорты имел темно-бордовый цвет, в области створки клапана – малиновый.

Результаты гистологического анализа дают основание полагать, что физиологическая целостность внеклеточного матрикса в ходе децеллюляризации сердечных клапанов не нарушена. Матрикс сохраняет свои физико-химические свойства, поэтому пригоден для дальнейшего использования в качестве каркаса сердечно-сосудистого протеза.

Annually about 275,000 surgeries on prosthesis of heart valves are performed. Herewith the biological substitutes of heart valves and blood vessels are used along with mechanical prostheses. The materials used during their production shall not cause a chronic inflammation, not to show a carcinogenic effect, not to be exposed to calcification; but preserve physical and chemical properties providing implants functioning (including preserving the adhesion for recipient cells).

This investigation was directed to evaluation of integrity and physiological intactness of extracellular matrix obtained during decellularization of heart valves.

In the work we used pig heart valves treated with apoptosis-caused solution (solution EDTA (Sigma, USA) with 10 mM concentration) during 2 days. After the exposure the samples were thoroughly washed in a medium containing salts in concentration close to physiological one and underwent further histological analysis. Serial histological sections of 5 μm thickness were made by standard methods and then stained according to Verhoeff to evaluate the state of elastic fibers, as well as PAS-reaction was performed to study the state of collagen fibers.

According to the results of histological analysis in aorta and fibrous ring the observed PAS-positive reaction was most intensively expressed in the valve leaflet. After staining of elastic fibers the aortic wall had a maroon color in the valve leaflet it was crimson.

The results of histological analysis allow suggesting that the physiological integrity of the extracellular matrix during decellularization of heart valves is not affected. Matrix preserved its physical and chemical properties, therefore was applicable for the further use as a framework for cardiovascular prostheses.