

Мини-обзоры

Тканевая инженерия тонкой кишки

Волков А.В.

Синдром короткой кишки – заболевание, возникающее при резекции большей части тонкой кишки при ее некрозе в результате ишемии (тромбоз мезентериальных сосудов, некротический язвенный колит), пороках развития, опухолем поражении (тотальный полипоз кишечника), травмах и заболеваниях с аутоиммунным компонентом патогенеза (неспецифический язвенный колит, болезнь Крона). Заболевание сопровождается синдромом неполного всасывания (мальабсорбции), дефицитом поступления в организм основных питательных веществ и минералов. Критической длиной сохранившегося кишечника принято считать от 0,5 до 2 метров. Однако даже потеря более половины его длины приводит к тем или иным серьезным осложнениям (диарея, полифекалия, боли в животе, метеоризм, потеря массы тела, гипопропротеинемия, отеки, судороги, остеопороз и др.). Основная часть пациентов хорошо поддается консервативной терапии (диета, пищевые комплексы). Пациенты, страдающие тяжелой формой недуга вынуждены пожизненно получать специальные питательные смеси и растворы парентерального питания. В результате этого они испытывают выраженный дискомфорт, социальную дезадаптацию, что может привести даже к суицидальным попыткам. Помочь людям, страдающим синдромом тонкой кишки в настоящее время можно только путем удлинения функциональной части кишки. В клинической практике применяют суживающую энтеропластику, антиперистальтическую аутотрансплантацию или трансплантацию кишечного сегмента. Все эти операции направлены на увеличение всасывающей поверхности кишки. Со стороны самой кишки происходят адаптивные изменения, направленные на увеличение площади поверхности соприкосновения с пищевым комком. Крипты становятся более ветвистыми и увеличиваются в размере, что увеличивает поверхность всасывания. Однако это не приводит к полной компенсации, и заболевание прогрессирует за счет хронического дефицита питательных веществ [1, 2, 4–7].

В последние десятилетия наблюдается значительный прогресс в реконструктивной хирургии и регенеративной медицине в связи с появлением технологий неоорганогенеза и тканевой инженерии. Исследования по разработке технологий, с помощью которых можно было бы получить функционирующую кишку *de novo*, берут свое начало с работ Когана (1979). Исследовалась возможность использования синтетических трубчатых конструкций для восполнения длины тонкой кишки. Трубка из синтетического материала “Дакрон” имплантировалась кроликам после поперечного рассечения кишки. Было отмечено, что синтетические материалы действовали как мосты, по которым с краев интактной кишки происходила эпителизация и колонизация фибробластами. Авторы предполагают, что последние могли дифференцироваться в миофибробласты и участвовать в формировании мышечной стенке. Сосудистая сеть развивалась из аркад тощекишечных сосудов и брюшины. Однако основным недостатком подобных конструкций оказалась их ригидность, отсутствие перистальтики и рубцевание, что приводило к стенозам и кишечной непроходимости у лабораторных животных [11].

Понимание того, что матрица-носитель должна быть деградируемой, привело к использованию в эксперименте

материалов, созданных на основе полимеров органических кислот (полигликолат, полилактат) и естественных биоматериалов на основе коллагена, которые после выполнения своей функции элиминировались в организме. Внимание ученых было обращено на подслизистую основу кишки, которая, кроме того, что является естественным кишечным образованием, обладает ещё и достаточной плотностью и прочностью. Подслизистая основа тонкой кишки содержит оптимальное сочетание белков адгезии, таких, как ламинин, интегрин и коллаген I, III, IV, V типов, а также ростовые факторы (FGF-2, VEGF) и другие, биологически активные вещества поддерживающие пролиферацию и дифференцировку клеток. В качестве тестирования этого материала использовалась методика «заплаты». Вместо участка резецированной стенки кишки накладывалась «заплата» (12 см²) из бесклеточной подслизистой основы и окутывалась сальником или брюшиной. Через 2 недели отмечалась активная миграция в биоматериал фибробластов и образование сосудистой сети внутри матрицы. К 4-й неделе происходила эпителизация «заплаты» за счет разрастания эпителия с неизмененных участков кишечной стенки и формирование примитивного мышечного слоя. К 6-ти неделям происходила полная эпителизация кишечной стенки и частичная деградация биоматериала. На 12-й неделе можно было обнаружить небольшой толщины мышечный слой по всей поверхности «заплаты», а к 24 неделям происходило полное восстановление кишечной стенки [3, 4, 7–10, 21].

Попытки использования бесклеточной подслизистой основы кишки в виде трубчатых конструкций не привели к таким же хорошим результатам, как при использовании методики наложения “заплаты”. Только к 6-й неделе происходила 40%-ная эпителизация конструкции. Медленная регенерация эпителия за счет области анастомозов интактной кишки приводила к её истощению и разрастанию преимущественно соединительной ткани, что приводило к образованию стенозов. Потеря герметичности конструкции происходила в результате лизиса участков матрицы, не защищенных эпителиальной выстилкой от пищеварительных ферментов [3, 4].

Пионерами современного этапа создания тканеинженерных конструкций считается исследовательская группа J.P. Vacanti (Boston, USA). В 1998 году ею была создана первая модель тканеинженерной тонкой кишки, в состав которой в качестве основы входила биodeградируемая матрица из PGA (poly lactic-acid-co-lysine acid) и кишечный эпителий [13]. Кишечный эпителий обладает самой высокой потенцией к регенерации и содержит кроме каемчатых эпителиальных клеток еще и большое количество регионарных стволовых – бескаемчатых энтероцитов. Бескаемчатые энтероциты могут быть получены из слизистой и успешно культивированы *in vitro*. У 7-ми дневных крыс-доноров забрали образцы кишечного эпителия и культивировали до достижения достаточного количества клеточной массы [18]. Трубчатая структура – матрица, была создана из нетканного материала на основе PGA. Эпителиальные клетки были нанесены на биоматрицу и внедрены в сальник крыс-реципиентов. Через 10 недель в сальнике было обнаружено кистозное образование, стенку которого составлял мышечный слой и кишечный эпителий, образовавший примитивные складки и ворсинки. Формирование

мышечного слоя авторы связывают с дифференцировкой фибробластоподобных клеток, входящих в состав жировой ткани сальника. Кисту анастомозировали с тонкой кишкой, и она функционировала на протяжении всей жизни животного. В результате эксперимента была показана возможность получения полноценного кишечного сегмента методом тканевой инженерии [12–17, 19].

В дальнейшем, исследования были направлены на оценку функции искусственного кишечного сегмента. Так, было показано отсутствие формирования нервных окончаний и межмышечных нервных ганглиев кишки, что, по всей видимости, не будет способствовать активной перистальтике. Неогенез лимфатических сосудов наблюдали уже к 10-й неделе после графтинга. Кроме того, было отмечено появление лимфоидной ткани в виде фолликулов, содержащих CD3+, CD32+, CD 56+, CD68+ клетки [20]. При моделировании синдрома короткой кишки у крыс с последующим подключением к пищеварению созданной в сальнике искусственной кишки наблюдалось увеличение массы животных по сравнению с контролем, а также повышение концентрации витамина B12 в крови. Также было отмечено увеличение продолжительности жизни животных, что в совокупности свидетельствует об участии вновь созданного кишечного сегмента в пищеварении и всасывании питательных веществ [22].

Таким образом, к настоящему времени показано, что создание функциональных сегментов тонкой кишки в эксперименте возможно. Оптимальным материалом для матрицы может служить бесклеточная подслизистая основа тонкой кишки. Искусственная кишка, подобно естественной, способна участвовать в пищеварении и всасывании питательных веществ из ее просвета. Через определенное время, в ней образуются скопления лимфоидной ткани в виде фолликулов, которые содержат В-, Т- и NK-клетки. Однако отсутствие нервной ткани в толще мышечной стенки может привести к низкой перистальтической активности сегмента и замедлению продвижения пищевого комка, что благоприятно для всасывания, но может вызвать явления непроходимости. Несмотря на имеющиеся недостатки, созданный с помощью технологий тканевой инженерии сегмент тонкой кишки продлевает жизнь и значительно улучшает её качество у лабораторных животных с моделью синдрома короткой кишки. Известно, что даже незначительные по размерам отрезки функционирующей поверхности слизистой оболочки кишки играют огромную роль в улучшении состояния организма при этой патологии. Это обстоятельство позволяет предположить, что пациенты, страдающие данным заболеванием, в недалёком будущем могут надеяться на облегчение страданий, благодаря внедрению новых технологий регенеративной биомедицины.

ЛИТЕРАТУРА:

- Chen M.K., Beierle E.A. Animal models for intestinal tissue engineering. *Biomaterials* 2004; 25: 1675–81.
- Kim S.S. et al. Effects of anastomosis of tissue-engineered neointestine to native small bowel. *J Surg Res* 1999; 87: 6–13.
- Wang Z. et al. Experimental assessment of small intestinal submucosa as a small bowel graft in a rat model. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 1596–601.
- Chen M.K., Badylak S.F. Small bowel tissue engineering using small intestinal submucosa as a scaffold. *J Surg Res* 2001; 99: 352–8.
- Thompson J.S. Management of the short bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 1994; 23: 403–20.
- Lykins T.C. Comprehensive modified diet simplifies nutrition management. *J Am Diet Assoc* 1998; 98: 309–15.
- Reyes J. et al. Pediatric intestinal transplantation: historical notes, principles and controversies. *Pediatr Transplant* 2002; 6: 193–207.
- Cogen M.A. Use of vascularized abdominal wall pedicle flaps to grow small bowel neomucosa. *Surgery* 1982; 91: 293–300.
- Thompson J.S. et al. Comparison of techniques for growing small bowel neomucosa. *J Surg Res* 1984; 36: 401–6.
- Bragg I.E., Thompson J.S. The influence of serosal patch size on the growth of small intestinal neomucosa. *J Surg Res* 1986; 40: 426–31.
- Thompson J.S. Neomucosal growth in serosa lined intestinal tunnels. *J Surg Res* 1990; 49: 1–7.
- Harmon J.W. et al. Fate of Dacron prostheses in the small bowel of rabbits. *Surg Forum* 1979; 30: 365–6.
- Choi R.S. et al. Studies of brush border enzymes, basement membrane components, and electrophysiology of tissue-engineered neointestine. *J Pediatr Surg* 1998; 33: 991–7.
- Kaihara S. et al. Long-term follow-up of tissue-engineered intestine after anastomosis to native small bowel. *Transplantation* 2000; 69: 1927–32.
- Organ G.M. et al. Transplantation of enterocytes utilizing polymer-cell constructs to produce a neointestine. *Transplant Proc* 1992; 24: 3009–11.
- Grikscheit T.C. et al. Tissue-engineered colon exhibits function in vivo. *Surgery* 2002; 32: 200–4.
- Grikscheit T.C., Vacanti J.P. Tissue-engineered stomach from autologous and syngeneic tissue. *J Surg Res* 2002; 107: 277–8.
- Evans G.S. et al. The development of a method for the preparation of rat intestinal epithelial cell primary cultures. *J Cell Sci* 1992; 101: 219.
- Tavakkolizadeh A. et al. Tissue-engineered neomucosa: morphology, enterocyte dynamics, and SGLT-1 expression topography. *Transplantation* 2003; 75: 181–5.
- Perez A. et al. Tissue-engineered small intestine. *Transplantation* 2002; 74: 5: 619–23.
- Demirbilek S. et al. Using porcine small intestinal submucosa in intestinal regeneration. *Pediatr Surg Int* 2003; 19: 588–92.
- Grikscheit T.C. et al. Tissue-engineered small intestine improves recovery after massive small bowel resection. *Ann Surg* 2004; 240: 748–54.