УДК 616-77
DOI 10.17802/2306-1278-2025-14-4-58-67

ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ *IN VITRO*: КАК ПРЕОДОЛЕТЬ ДЕФИЦИТ МОДЕЛЬНОГО ОБЪЕКТА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ?

Н.В. Боярская[1, 2], О.И. Скорцану[1], Д.В. Смирнова[2], Н.М. Юдинцева[2], Н.С. Гончарова[1], Е.М. Коробченко[1], Ж.А. Матакаева[1], К.Б. Лапшин[1], О.М. Моисеева[1], А.Б. Малашичева[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Аккуратова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; [2] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, Тихорецкий пр., 4, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194064

Основные положения

• Эндотелиальные клетки легочной артерии – это дефицитный модельный объект. Нашей задачей было отработать методику выделения клеток с катетера Сван–Ганца, описанную в литературе. Однако по этой методике клеток получено не было. Мы разработали альтернативную методику выделения клеток из крови, полученной из просвета легочной артерии при проведении катетеризаций правых отделов сердца, и продемонстрировали пригодность этой методики для рутинного получения культур эндотелиальных клеток от пациентов с легочной артериальной гипертензией.

Цель	Получение культур эндотелиальных клеток легочной артерии в качестве модельного объекта для изучения легочной аортальной гипертензии и других заболеваний малого круга кровообращения. Эндотелий обеспечивает целостность сосудистой стенки, а нарушения эндотелиальной функции играют важную роль в развитии различных патологических процессов. Получение культур эндотелиальных клеток из фрагментов различных сосудов человека – это достаточно хорошо отработанный и широко используемый метод. Однако он имеет ограничения, которые касаются доступности биологического материала определенных групп пациентов. Так, при изучении патогенеза легочной гипертензии фрагменты легочной артерии практически недоступны исследователю, так как оперативное вмешательство для данной патологии не является рутинным методом лечения.
Материалы и методы	Получение клеток с баллона катетера Сван–Ганца было проведено в соответствии с описаниями в литературе, дополнительно были опробованы альтернативные диссациаторы ткани (коллагеназа 2 типа, трипсин) и разные адгезионные среды (фибронектин, полилизин, матригель, гиалуроновая кислота, желатин). Выделение клеток из крови из просвета легочной артерии и из периферической (кубитальной) вены проводили, разделяя кровь на фракции и отмывая интересующие клетки по протоколам, описанным в литературе.
Результаты	В данной работе опробовали получение эндотелиальных клеток легочной артерии пациентов с легочной артериальной гипертензией методом снятия клеток с баллона катетера Сван–Ганца при катетеризация правых отделов сердца. Метод снятия с катетера показал свою непригодность для использования в рутинной лабораторной практике. В качестве альтернативы мы разработали метод получения эндотелиальных клеток из крови, отобранной из просвета легочной артерии при проведении катетеризации.
Заключение	Выделение эндотелиальных клеток из крови, забранной из просвета легочной артерии во время катетеризации правых отделов сердца, показало пригодность данного способа для рутинного получения культур эндотелиальных клеток от пациентов с ЛАГ.
Ключевые слова	Эндотелий легочной артерии • Методика выделения эндотелия • Легочная гипертензия • Катетеризация правых отделов сердца

Поступила в редакцию: *03.05.2025;* ***поступила после доработки:*** *07.06.2025;* ***принята к печати:*** *11.07.2025*

Для корреспонденции: *Надежда Владимировна Боярская, boyarskaya_nv@almazovcentre.ru, адрес: ул. Аккуратова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341*
Corresponding author: *Nadezhda V. Boyarskaya, boyarskaya_nv@almazovcentre.ru; address: 2, Akkuratova St., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341*

ENDOTHELIAL CELLS OF THE PULMONARY ARTERY IN VITRO: HOW TO OVERCOME THE DEFICIENCY OF A MODEL OBJECT IN THE STUDY OF PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION?

N.V. Boyarskay[1, 2], O.I. Skortsanu[1], D.V. Smirnova[2], N.M. Yudintseva[2], N.S. Goncharova[1], E.M. Korobchenko[1], Zh.A. Matakaeva[1], K.B. Lapshin[1], O.M. Moiseeva[1], A.B. Malashicheva[2]

[1] Federal State Budgetary Institution "Almazov National Medical Research Centre" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Akkuratova St., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341; [2] Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, 4, Tikhoretsky Ave., Saint Petersburg, Russian Federation, 194064

Highlights

• The endothelial cells of the pulmonary artery are a deficient model object. Our task was to work out the method of cell isolation from the Swan–Ganz catheter described in the literature. However, no cells were obtained using this technique. We have developed an alternative technique for isolating cells from blood obtained from the lumen of the pulmonary artery during right heart catheterization, and demonstrated the suitability of this technique for routine production of endothelial cell cultures from patients with pulmonary arterial hypertension.

Aim	Obtaining cultures of pulmonary artery endothelial cells as a model object. The endothelium ensures the integrity of the vascular wall, and disorders of endothelial function play an important role in the development of various pathological processes. Obtaining endothelial cell cultures from fragments of various human vessels is a fairly well-developed and widely used method. However, it has limitations that relate to the availability of biological material for certain groups of patients. Thus, when studying the pathogenesis of pulmonary hypertension, fragments of the pulmonary artery are practically inaccessible to the researcher, since surgical intervention for this pathology is not a routine method of treatment.
Methods	The cells were obtained from the balloon of the Swan–Ganz catheter in accordance with the descriptions in the literature, alternative tissue dissociators and different adhesive media were additionally tested. The isolation of cells from the blood from the lumen of the pulmonary artery and from the peripheral (cubital) vein was carried out by dividing the blood into fractions and washing the cells of interest according to the protocols described in the literature.
Results	In this work, we tested the production of pulmonary artery endothelial cells in patients with pulmonary arterial hypertension by removing cells from the balloon of the Swan-Ganz catheter during right heart catheterization. The catheter removal method has shown its unsuitability for use in routine laboratory practice. As an alternative, we have developed a method for obtaining endothelial cells from blood taken from the lumen of the pulmonary artery during catheterization.
Conclusion	Isolation of endothelial cells from blood taken from the lumen of the pulmonary artery during right heart catheterization showed the suitability of this method for routine production of endothelial cell cultures from patients with pulmonary arterial hypertension.
Keywords	Pulmonary artery endothelium • Endothelial isolation technique • Pulmonary hypertension • Right heart catheterization.

Received: *03.05.2025;* ***received in revised form:*** *07.06.2025;* ***accepted:*** *11.07.2025*

Список сокращений

КПОС – катетеризация правых отделов сердца
ЛАГ – легочная артериальная гипертензия
ФСБ – фосфатно-солевой буфер
ЦЭКЛА – циркулирующие эндотелиальные клетки легочной артерии человека
ЭКЛА – эндотелиальные клетки легочной артерии человека

Введение

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) – это сосудистое заболевание легких, при котором, за счет ремоделирования легочных артерий, повышается легочное сосудистое сопротивление. Оно приводит к быстрому развитию правожелудочковой сердечной недостаточности и преждевременной смерти пациентов [1, 2]. Высокая смертность и стоимость комбинированной терапии актуализирует поиск новых подходов персонализированного лечения на основе изучения патогенеза заболевания и механизмов его прогрессирования [3]. Ключевыми клеточными элементами, участвующими в патогенезе ЛАГ, считаются эндотелиальные клетки легочной артерии [4–11]. Изучение эндотелиальных клеток легочной артерии пациентов позволит получить дополнительную информацию о характере метаболических нарушений, данные о патогенезе ЛАГ, обозначить новые подходы к стратификации риска и выбору оптимальной специфической терапии, а также наметить новые потенциальные мишени для терапевтического воздействия.

Легочная артерия состоит из трех слоев: эндотелиальных клеток, выстилающих внутреннюю поверхность артерии, внутренних, гладкомышечных клеток, и адвентиции – покрывающей сосуд [12]. Эндотелиальные клетки имеют специфический фенотип: они округлы, выстилают поверхность по типу «брусчатки», экспрессируют поверхностные маркеры, специфичные для эндотелиальных клеток, такие как CD34, CD146, CD31, Flk-1 и CD105 [13, 14]. Культура *in vitro* эндотелиальных клеток легочной артерии (ЭКЛА) является ценной моделью для исследований ЛАГ и других сосудистых заболеваний легких и сосудов малого круга кровообращения.

Выделение эндотелиальных клеток легочной артерии (ЭКЛА), полученных при операциях на сердце, рутинная и хорошо отработанная методика [13]. Однако она имеет ограничения, которые касаются доступности биологического материала определенных групп пациентов. Так, при изучении патогенеза ЛАГ фрагменты легочной артерии практически недоступны исследователю, так как оперативное вмешательство для данной патологии не является рутинным методом лечения. Катетеризация правых отделов сердца (КПОС) при ЛАГ – более частая процедура. Данные литературы [15, 16] указывали на возможность выделения ЭКЛА с баллона катетера при КПОС, и было принято решение отработать данную методику. Мы опробовали методику, непосредственно описанную в цитируемых работах, и также модифицировали ее несколькими способами, однако это не привело к получению клеточной культуры *in vitro*. В качестве альтернативы мы разработали методику получения циркулирующих эндотелиальных клеток из крови (ЦЭКЛА), полученной из просвета легочной артерии при проведении КПОС, и продемонстрировали пригодность этой методики для рутинного получения культур эндотелиальных клеток от пациентов с ЛАГ.

Материалы и методы

Послеоперационные катетеры Сван–Ганца и образцы крови были получены в ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России в соответствии с положениями Хельсинкской декларации; исследование одобрено местным комитетом по этике Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова. Клетки пупочного канатика человека (HUVEC) были получены из образцов, предоставленных ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, по протоколу Jaffe et al. [17].

Выделение клеток ЭКЛА с баллона катетера

Выделение проводили согласно опубликованной методике [15, 16] при катетеризации правых отделов сердца. КПОС – это широко распространенная диагностическая процедура [18–22], которая представляет собой проведение катетера с баллоном через периферические артерии или вены в правые отделы сердца, где происходит расширение баллона и его заклинивание в полости легочной артерии (рис. 1). Протокол [15, 16] описывает удаление и очистку эндотелиальных клеток легочной артерии, которые прилипают к наконечникам баллонов катетеров Сван–Ганца, когда они вклиниваются в легочную артерию во время катетеризации правых отделов сердца и остаются прилипшими к сдувшемуся баллону после удаления из тела пациента. Для выделения клеток извлеченный катетер в стерильных условиях передают в лабораторию, баллон на катетере раздувают и соскребают возможные клетки. Осадок промывают, осаждают центрифугированием, лизируют эритроциты, сортируют при помощи

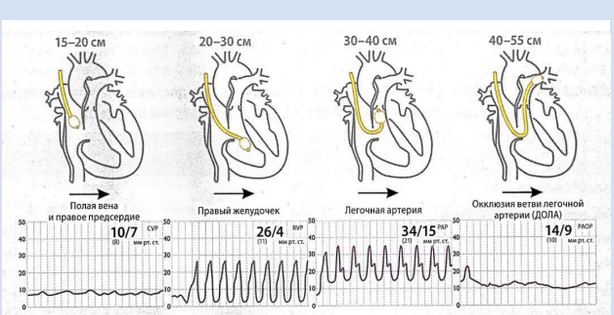

Рисунок 1. Катетеризация правых отделов сердца (желтым обозначен катетер Сван–Ганца с баллоном). (В.В. Кузьков, М.Ю. Киров «Инвазивный мониторинг гемодинамики в интенсивной терапии и анестезиологии: монография», Изд-е второе, перераб. и доп. Архангельск: Северный государственный медицинский университет, 2015. – 392 с.)

Figure 1. Right heart catheterization (yellow indicates a Swan-Ganz catheter with a balloon). (V.V. Kuzkov, M.Yu. Kirov "Invasive monitoring of hemodynamics in intensive care and anesthesiology: monograph", Second edition, revised and additional. Arkhangelsk: Northern State Medical University, 2015. – 392 p.)

специфических эндотелиальных поверхностных маркеров и анализируют различными методами, либо культивируют в эндотелиальной среде.

Мы повторили этот протокол следующим образом: извлеченный баллон Сван–Ганца помещали в 15 мл пробирку с 5 мл культуральной среды в стерильных условиях операционной и передавали для выделения. Далее опробовали разные ферментные диссациаторы тканей: трипсин (15400–054, Thermo Fisher Scientific, Gibco, США), коллагеназу II типа (LS004177, Worthington Biochemical Corporation part of Thermo Fisher Scientific, США), механическое отделение от баллона. Культивирование проводили на чашках Петри, 6-, 24-, 96-луночных планшетах (Corning Incorporated, США). В качестве адгезивного покрытия для культурального пластика использовали 0,01% фибронектин (F0895, Fibronectin From Human Plasma Solution, Sigma-Aldrich, США), 0,01% полилизин (P4707, Poly-L-lysine solution, Sigma-Aldrich, США), 1% матригель (354234, Matrigel® Basement Membrane Matrix, LDEV-free, Corning, США), 0,2% гиалуроновую кислоту (924474, Hyaluronic Acid Merck, Sigma-Aldrich, США) и 0,2% желатин (G1890-100G, Sigma Aldrich, США). Выделенные клетки содержали в инкубаторе до 1,5–2 месяцев при температуре 37 ºС и 5% CO_2 в эндотелиальной среде (1001, Endothelial Cell Growth Base Media, Cell Application Inc., США) с добавлением 1% пенициллина/стрептомицина (15140-122, Thermo Fisher Scientific, Gibco, США), питательную среду меняли 2 раза в неделю.

Магнитная сортировка

Сортировку проводили с помощью CD31 MicroBead Kit, human (130-091-935, Miltenyi Biotec, Германия) согласно протоколу производителя.

Получение клеток ЦЭКЛА из периферической крови

Кровь отбирали при КПОС через катетер из просвета легочной артерии после раздува баллона и заклинивания в легочной артерии и передавали в лабораторию. Свежеотобранную (12–24 часа) кровь разделяли на фракции с помощью реагента «Фиколл раствор» (1.2.8.1, БиолоТ, Россия). Фракцию с клетками отделяли, промывали фосфатно-солевым буфером (P071-1/B-60201, НПП «Панэко», Россия), осаждали и ресуспендировали в эндотелиальной культуральной среде (1001, Endothelial Cell Growth Base Media, Cell Application Inc., USA) и помещали на предварительно подготовленный 6-луночный планшет (Corning Incorporated, USA). Планшет подготавливали либо, покрывая 0,01% фибронектином (F0895 Fibronectin From Human Plasma Solution, Sigma-Aldrich (0,1 mg/ml), США), либо смачивая 0,2% желатином (G1890-100G, Sigma Aldrich, USA), на который вносили среду с клетками. Далее культивировали согласно ранее опубликованному протоколу [23, 24]. Культивирование клеток проводили в инкубаторе при 37 ºС и 5% CO_2, смена среды происходила в щадящем режиме, заменяли только половину среды, 2 раза в неделю. Клетки ЦЭКЛА проявляются на 10–21 сутки после выделения. У части пациентов во время КПОС была отобрана также кровь из периферической (кубитальной) вены, выделение производили по тому же протоколу.

Иммуноцитохимическая окраска

В полученных ЦЭКЛА оценивали содержание эндотелиальных маркеров CD31/PECAM и фактора фон Виллибранда – vWF. Полученные клетки сравнивали с эндотелиальными клетками пупочного канатика человека (HUVEC). Клетки культивировали на покровных стеклах, фиксировали в течение 30 минут в 4% растворе параформальдегида при комнатной температуре. После фиксации клетки пермеабилизировали 0,1% раствором Triton X-100 (T8787, Sigma, USA) в течение 10 минут и промывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ) с последующим блокированием в 1% растворе бычьего сывороточного альбумина (A9418, Sigma, USA) в течение 1 часа. Инкубацию клеток с первичными антителами против CD31 (PECAM-1) (14-0311-82, eBioscience™, Thermo Fisher Scientific, Invitrogen, USA, 1:250) и vWF (ab9378, Abcam, USA, 1:250) проводили во влажной камере в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем клетки трижды промывали ФСБ в течение 5 минут и инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с Alexa546 (anti-Mouse IgG, A-11003, Thermo Fisher Scientific, Invitrogen, USA, 1:1000) и конъюгированными с Alexa588 (anti-Rabbit IgG, A-11008, Thermo Fisher Scientific, Invitrogen, USA, 1:1000). Покровные стекла с клетками трижды промывали ФСБ и окрашивали с использованием рабочего раствора с DAPI (A mounting medium with DAPI that is optimized for fluorescence microscopy with ibidi µ-Slides and µ-Dishes, 50011, Ibidi GmbH, Германия). Визуализацию и анализ проводили с помощью конфокального микроскопа Olympus FV3000 (Olympus Corporation, Япония) при 40-кратном увеличении и соответствующего программного обеспечения.

Результаты

Получение клеток с баллона катетера

Снятие клеток с баллона было опробовано в трех вариантах. Общим для каждого варианта было раздувание баллона в культуральной среде в самом начале процесса, все первичные процедуры проводились на раздутом баллоне. Было проведены выделения в разных условиях: 1) клетки с баллонов выделяли при помощи трипсина; 2) клетки с баллонов выделяли при помощи коллагеназы; 3) клетки

выделяли с помощью механического воздействия. Во всех случаях при нескольких выделениях в данный процесс был внесен дополнительный этап сортировки магнитными частицами, сшитыми с антителами к CD31 для более точного отбора клеток из среды.

В первом варианте (5 баллонов) раздутый баллон помещался в раствор 5х трипсина на 5 минут при 37 ºС, после чего трипсин нейтрализовали культуральной средой, баллон омывался средой и полученную жидкость центрифугировали 15 минут при 300 g, промывали минимальным количеством ФСБ, повторяли откручивание при тех же условиях, отбирали супернатант и, смешав осадок с культуральной средой, вносили на пластик, покрытый 0,2% желатином. Изначально использовали 6ти-луночные планшеты, но были также опробованы и 24-луночные и 96-луночные планшеты.

Во втором варианте (5 баллонов) диссоциацию клеток проводили коллагеназой 2 типа в концентрации 5 мг на 10 мл среды, инкубировали 15 минут при 37 ºС, после чего отмывали культуральной средой по схеме, описанной выше, и также вносили на культуральный пластик, покрытый 0,2% желатином.

Третий вариант заключался в механическом смывании и счищении клеток с баллона с помощью омывания баллона и скребка для снятия клеток с пластика (9 баллонов).

Далее среду откручивали один раз 15 минут при 300 g, убирали супернатант и растворенный в эндотелиальной среде осадок вносили на культуральный пластик, покрытый 0,2% желатином. Была также предпринята попытка культивировать клетки с использованием различных покрытий: 0,01% полилизин, 1% матригель, 0,01% фибронектин, 0,2% гиалуроновая кислота.

Было проведено 19 выделений, ни одно не увенчалось успехом, клетки получены не были.

Получение ЦЭКЛА из артериальной крови, полученной при КПОС

Поскольку мы не получили культуры по опубликованной методике, было принято решение попробовать получить клетки из крови, непосредственно находящейся в легочной артерии после заклинивания баллона при проведении КПОС.

В течение года было получено 39 образцов артериальной крови, отобранной в процессе КПОС из легочной артерии. Для 28 пациентов кроме артериальной крови дополнительно отбиралась кровь из периферической (кубитальной) вены. Кровь отбирали через катетер Сван–Ганца в момент заклинивания баллоном легочной артерии. Выделение клеток проводили следующим образом (рис. 2): свежеотобранную (12–24 часа) кровь разделяли на фракции с помощью реагента «Фиколл раствор» (БиолоТ, Россия). К 20 мл фиколла наслаивали 20 мл разбавленной 1:1 в ФСБ крови. Смесь помещали в центрифугу и откручивали 40 минут при 400 g, далее отбирали необходимую фракцию в новую стерильную пробирку. Фракцию с клетками доводили фосфатно-солевым буфером до 50 мл и центрифугировали 10 минут при 300 g. Супернатант удаляли, осадок ресуспендировали в 3 мл культуральной среды и помещали на предварительно подготовленный 6-луночный планшет (Corning Incorporated, USA). В 7 случаях планшет подготавливали с помощью 0,01% фибронектина на 1–4 часа, после его отбирали и вносили среду с клетками. В остальных случаях в качестве адгезивного покрытия использовали 0,2% желатин, на который вносили среду с клетками. Культивирование клеток проводили в инкубаторе при 37 ºС и 5% CO_2, смена среды происходила в щадящем режиме, заменяли только половину среды, 2 раза в неделю.

Из 39 полученных образцов в 16 случаях появились клетки. По нашим наблюдениям, покрытие культурального пластика 0,2% желатином приводило к более эффективному появлению колоний по сравнению с покрытием 0,01% фибронектина. Клетки имели более характерный тип роста: клетки округлые, компактно расположены (рис. 2). Клетки появлялись после выделения на 10–21 день. Если клетки не появлялись через 2–3 недели, то более длительное культивирование (до 2 месяцев) не давало результата. Рост клеток до 70–80% конфлюэнтности продолжался до 4–5 недель.

Для подтверждения фенотипа клеток легочного эндотелия часть образцов была окрашена на эндотелиальные маркеры CD31 и vWF, окраска показала наличие эндотелиальных маркеров на клетках (рис. 3).

Из 28 образцов периферической крови только в 2 случаях были выделены клетки, они появились на 10 день культивирования, однако рост колоний остановился через неделю и в течение месяца изменений не было, дальнейшее культивирование мы посчитали нецелесообразным.

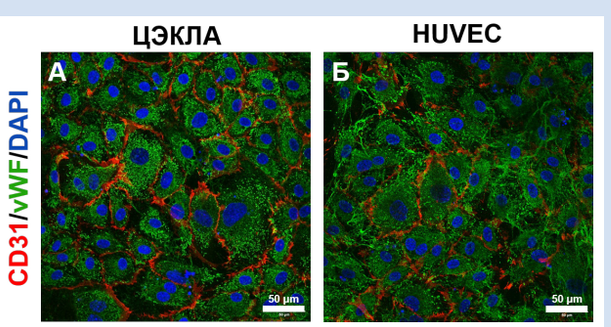

Рисунок 2. Клетки ЦЭКЛА, выделенные из периферической крови на 16–20 сутки: *A, B* – адгезия на желатине, *C* – адгезия на фибронектине

Figure 2. cPAEC cells isolated from peripheral blood on day 16-20: *A, B* – adhesion on gelatin, *C* – adhesion on fibronectin

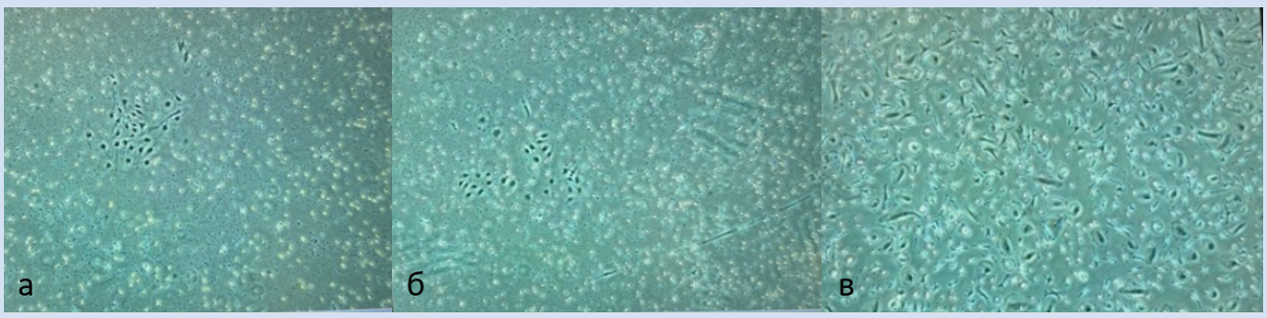

Рисунок 3. Конфокальная микроскопия (репрезентативные изображения) демонстрирует CD31-положительный (красный цвет, рецептор клеточной поверхности) и vWF-положительный (зеленый цвет, тельца Вейбеля–Паладе внутри цитозоля) ЦЭКЛА (*A*) и HUVEC (*B*). Окрашивание ядер проводили с использованием «A mounting medium with DAPI that is optimized for fluorescence microscopy with ibidi µ-Slides and µ-Dishes» (DAPI, синий цвет)

Figure 3. Confocal microscopy (representative images) demonstrates cd31 T-positive (color red, cell surface receptor) and PV-positive (color green, Weibel–Palade corpuscles inside the cytosol) cPAEC (*A*) HUVEC (*B*). The nuclei were described using a "DAPI deposition medium optimized for fluorescence microscopy using ibidi micro slides and micro plates" (DAPI, blue color)

Обсуждение

Изучение клеточных и молекулярных механизмов патогенеза и прогрессирования ЛАГ является важным вкладом в поиски персонализированного лечения этого заболевания [1–3]. Эндотелиальные клетки легочной артерии – это ключевые элементы, участвующие в патогенезе ЛАГ [4–11]. Их доступность для исследователя ограничена, поэтому мы изучили возможность получения клеточного материала с катетеров Сван–Ганца при катетеризации правых отделов сердца. По данным литературы [15, 16] было показано, что это возможно. Мы повторили описанные эксперименты, расширили методику выделения, но не получили положительных результатов, ни разу не удалось снять клетки с катетера Сван–Ганца. Трудно предположить с чем связан этот результат, возможно имеют место какие-то расхождения в методике проведения катетеризации, так как сам катетер стандартен и навряд ли влияет на прилипание клеток в процессе операции. Либо это связано с индивидуальными особенностями пациентов.

Однако в процессе экспериментов возникла идея отбирать кровь из легочной артерии в процессе заклинивания катетером просвета сосуда, что дало положительные результаты. Около 40% выделений из крови привело к культивированию ЦЭКЛА. Мы полагаем, что это может быть связано с возможностью клеток крови скапливаться около точки заклинивания и давать объем достаточный для культивирования. Либо ток крови при заклинивании начинает «выбивать» эндотелиальные клетки со стенок артерии, что также позволяет собрать их для культивирования. Эти предположения связаны с количеством успешных выделений (только около 40%), остальные выделения нерезультативны. Однако и такое увеличение доступа исследователя к клеткам повышает возможность изучения клеточных и молекулярных механизмов ЛАГ.

Заключение

Мы довели до рутинного применения метод получения ЦЭКЛА из артериальной крови, отобранной в легочной артерии при заклинивании при катетеризации правых отделов сердца. Результативность метода ~40%, но учитывая большую частоту проведения КПОС доступность модельных эндотелиальных клеток становится выше.

Получение клеток со стенок баллона Сван–Ганца не было успешным. Выделение клеток из периферической крови не дало ожидаемого результата.

Конфликт интересов

Н.В. Боярская заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.И. Скорцану заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.В. Смирнова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.М. Юдинцева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.С. Гончарова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.М. Коробченко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ж.А. Матакаева заявляет об отсутствии конфликта интересов. К.Б. Лапшин заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.М. Моисеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Б. Малашичева заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа поддержана грантом РНФ 23-15-00318 «Изучение вазореактивного резерва сосудов малого круга кровообращения с целью разработки алгоритма рациональной терапии легочной артериальной гипертензии», рук. О.М. Моисеева.

Информация об авторах

Боярская Надежда Владимировна, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории заболеваний с избыточной кальцификацией федерального

Author Information Form

Boyarskaya Nadezhda V., Junior Researcher at the Research Laboratory of Vascular Biology, Federal State Budgetary Institution "Almazov National Medical Research Centre"

государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6402-770X

of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6402-770X

Скорцану Ольга Игоревна, лаборант-исследователь научно-исследовательского отдела федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID**-0009-0005-5388-8474.

Skortsanu Olga I., Laboratory Researcher at the Research Laboratory of Arrhythmology, Federal State Budgetary Institution “Almazov National Medical Research Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0009-0005-5388-8474

Смирнова Дарья Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-5175-3772

Smirnova Darya V., Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-5175-3772

Юдинцева Наталия Михайловна, кандидат биологических наук ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7357-1571

Yudintseva Natalia M., Cand.Sc. (Biology), leading researcher at the Laboratory of Cellular Biotechnologies, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7357-1571

Гончарова Наталья Сергеевна, кандидат медицинских наук старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела некоронарогенных заболеваний сердца федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6954-7096

Goncharova Natalia S., Cand.Sc. (Medicine), Senior Researcher at the Research Laboratory of Non-Coronary Heart Diseases, Federal State Budgetary Institution “Almazov National Medical Research Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6954-7096

Коробченко Елизавета Михайловна, клинический ординатор, лаборант-исследователь научно-исследовательского отдела некоронарогенных заболеваний сердца федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6081-1559

Korobchenko Elizaveta M., Junior Researcher at the Research Laboratory of Non-Coronary Heart Diseases, Federal State Budgetary Institution “Almazov National Medical Research Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6081-1559

Матакаева Жанета Альбековна, заведующая отделением анестезиологии-реанимации с палатами реанимации и интенсивной терапии №1 федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0007-7398-2948

Matakayeva Zhaneta A., Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care Unit with Intensive Care Units No. 1, Federal State Budgetary Institution “Almazov National Medical Research Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0009-0007-7398-2948

Лапшин Кирилл Борисович, заведующий отделением анестезиологии-реанимации с палатами реанимации и интенсивной терапии №14 федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7337-0972.

Lapshin Kirill B., Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care Unit with Intensive Care Units No. 14, Federal State Budgetary Institution “Almazov National Medical Research Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7337-0972

Моисеева Ольга Михайловна, доктор медицинских наук, профессор главный научный сотрудник, руководитель научно-исследовательского отдела некоронарогенных заболеваний сердца федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7817-3847

Moiseeva Olga M., Grand PhD in Medical sciences, Professor, Chief researcher, Head of the Research Laboratory of Non-Coronary Heart Diseases, Federal State Budgetary Institution “Almazov National Medical Research Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7817-3847

Малашичева Анна Борисовна, доктор биологических наук главный научный сотрудник, заведующая лабораторией регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

Malashicheva Anna B., Grand PhD in Biological sciences, Head of the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

Вклад авторов в статью

БНВ – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ данных исследования, написание и корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

СОИ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

СДВ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ЮНМ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ГНМ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

КЕМ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МЖА – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ЛКБ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МОМ – вклад в концепцию исследования, анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МАБ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

BNV – contribution to the concept and design of the study, data analysis, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SOI – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SDV – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

YuNM – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

GNM – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KEM – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MJA – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

LKB – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MOM – contribution to the concept of the study, data analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MAB – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Humbert, M., Sitbon, O., Guignabert, C., Savale, L., Boucly, A., Gallant-Dewavrin, M., McLaughlin, V., Hoeper, M. M., & Weatherald, J. (2023). Treatment of pulmonary arterial hypertension: Recent progress and a look to the future. The Lancet. Respiratory Medicine, 11(9), 804–819. https://doi.org/10.1016/S2213-2600(23)00264-3

2. Ruopp, N. F., & Cockrill, B. A. (2022). Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension: A Review. JAMA, 327(14), 1379–1391. https://doi.org/10.1001/jama.2022.4402

3. Evans, C. E., Cober, N. D., Dai, Z., Stewart, D. J., & Zhao, Y.-Y. (2021). Endothelial cells in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. The European Respiratory Journal, 58(3), 2003957. https://doi.org/10.1183/13993003.03957-2020

4. Awad, K. S., Wang, S., Dougherty, E. J., Keshavarz, A., Demirkale, C. Y., Yu, Z. X., Miller, L., Elinoff, J. M., & Danner, R. L. (2024). BMPR2 Loss Activates AKT by Disrupting DLL4/NOTCH1 and PPARγ Signaling in Pulmonary Arterial Hypertension. International Journal of Molecular Sciences, 25(10), 5403. https://doi.org/10.3390/ijms25105403

5. Schupp, J. C., Adams, T. S., Cosme, C., Raredon, M. S. B., Yuan, Y., Omote, N., Poli, S., Chioccioli, M., Rose, K.-A., Manning, E. P., Sauler, M., DeIuliis, G., Ahangari, F., Neumark, N., Habermann, A. C., Gutierrez, A. J., Bui, L. T., Lafyatis, R., Pierce, R. W., … Kaminski, N. (2021). Integrated Single-Cell Atlas of Endothelial Cells of the Human Lung. Circulation, 144(4), 286–302. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.052318

6. Singh, N., Eickhoff, C., Garcia-Agundez, A., Bertone, P., Paudel, S. S., Tambe, D. T., Litzky, L. A., Cox-Flaherty, K., Klinger, J. R., Monaghan, S. F., Mullin, C. J., Pereira, M., Walsh, T., Whittenhall, M., Stevens, T., Harrington, E. O., & Ventetuolo, C. E. (2023). Transcriptional profiles of pulmonary artery endothelial cells in pulmonary hypertension. Scientific Reports, 13(1), 22534. https://doi.org/10.1038/s41598-023-48077-6

7. Zhou, Y., Tabib, T., Huang, M., Yuan, K., Kim, Y., Morse, C., Sembrat, J., Valenzi, E., & Lafyatis, R. (2024). Molecular Changes Implicate Angiogenesis and Arterial Remodeling in Systemic Sclerosis-Associated and Idiopathic Pulmonary Hypertension. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 44(8), e210–e225. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.123.320005

8. Cober, N. D., VandenBroek, M. M., Ormiston, M. L., & Stewart, D. J. (2022). Evolving Concepts in Endothelial Pathobiology of Pulmonary Arterial Hypertension. Hypertension (Dallas, Tex.: 1979), 79(8), 1580–1590. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.18261

9. Guignabert, C., & Dorfmuller, P. (2013). Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension. Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine, 34(5), 551–559. https://doi.org/10.1055/s-0033-1356496

10. Piper, B., Bogamuwa, S., Hossain, T., Farkas, D., Rosas, L., Green, A. C., Newcomb, G., Sun, N., Ovando-Ricardez, J. A., Horowitz, J. C., Bhagwani, A. R., Yang, H., Kudryashova, T. V., Rojas, M., Mora, A. L., Yan, P., Mallampalli, R. K., Goncharova, E. A., Eckmann, D. M., & Farkas, L. (2024). RAB7 deficiency impairs pulmonary artery endothelial function and promotes pulmonary hypertension. The Journal of Clinical Investigation, 134(3), e169441. https://doi.org/10.1172/JCI169441

11. Yu, Q., & Chan, S. Y. (2017). Mitochondrial and Metabolic Drivers of Pulmonary Vascular Endothelial Dysfunction in Pulmonary Hypertension. Advances in Experimental Medicine and Biology, 967, 373–383. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63245-2_24

12. Townsley, M. I. (2012). Structure and composition of pulmonary arteries, capillaries, and veins. Comprehensive Physiology, 2(1), 675–709. https://doi.org/10.1002/cphy.c100081

13. Duong, H. T., Comhair, S. A., Aldred, M. A., Mavrakis, L., Savasky, B. M., Erzurum, S. C., & Asosingh, K. (2011). Pulmonary artery endothelium resident endothelial colony-forming cells in pulmonary arterial hypertension. Pulmonary Circulation, 1(4), 475–486. https://doi.org/10.4103/2045-8932.93547

14. King, J., Hamil, T., Creighton, J., Wu, S., Bhat, P., McDonald, F., & Stevens, T. (2004). Structural and functional characteristics of lung macro- and microvascular endothelial cell phenotypes. Microvascular Research, 67(2), 139–151. https://doi.org/10.1016/j.mvr.2003.11.006

15. Passineau, M. J., Gallo, P. H., Williams, G., Perez, R., & Benza, R. L. (2019). Harvest of Endothelial Cells from the Balloon Tips of Swan-Ganz Catheters after Right Heart Catheterization. Journal of Visualized Experiments, 143, 58353. https://doi.org/10.3791/58353

16. Ventetuolo, C. E., Aliotta, J. M., Braza, J., Chichger, H., Dooner, M., McGuirl, D., Mullin, C. J., Newton, J., Pereira, M., Princiotto, A., Quesenberry, P. J., Walsh, T., Whittenhall, M., Klinger, J. R., & Harrington, E. O. (2020). Culture of pulmonary artery endothelial cells from pulmonary artery catheter balloon tips: Considerations for use in pulmonary vascular disease. The European Respiratory Journal, 55(3), 1901313. https://doi.org/10.1183/13993003.01313-2019

17. Jaffe, E. A., Nachman, R. L., Becker, C. G., & Minick, C. R. (1973). Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. The Journal of Clinical Investigation, 52(11), 2745–2756. https://doi.org/10.1172/JCI107470

18. Bashore, T. M., Balter, S., Barac, A., Byrne, J. G., Cavendish, J. J., Chambers, C. E., Hermiller, J. B., Kinlay, S., Landzberg, J. S., Laskey, W. K., McKay, C. R., Miller, J. M., Moliterno, D. J., Moore, J. W. M., Oliver-McNeil, S. M., Popma, J. J., & Tommaso, C. L. (2012). 2012 American College of Cardiology Foundation/Society for Cardiovascular Angiography and Interventions Expert Consensus Document on Cardiac Catheterization Laboratory Standards Update. Journal of the American College of Cardiology, 59(24), 2221–2305. https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.02.010

19. Hoeper, M. M., Bogaard, H. J., Condliffe, R., Frantz, R., Khanna, D., Kurzyna, M., Langleben, D., Manes, A., Satoh, T., Torres, F., Wilkins, M. R., & Badesch, D. B. (2013). Definitions and diagnosis of pulmonary hypertension. Journal of the American College of Cardiology, 62(25 Suppl), D42-50. https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.10.032

20. Maron, B. A. (2023). Revised Definition of Pulmonary Hypertension and Approach to Management: A Clinical Primer. Journal of the American Heart Association, 12(8), e029024. https://doi.org/10.1161/JAHA.122.029024

21. Sharma, D., Shah, R. J., Sreenivasan, J., Kafle, P., Gupta, R., Levine, A., Lanier, G. M., & Aronow, W. S. (2022). The role of serial right heart catheterization in risk stratification and management of pulmonary arterial hypertension. Expert Review of Cardiovascular Therapy, 20(7), 543–547. https://doi.org/10.1080/14779072.2022.2092095

22. Vonk Noordegraaf, A., Chin, K. M., Haddad, F., Hassoun, P. M., Hemnes, A. R., Hopkins, S. R., Kawut, S. M., Langleben, D., Lumens, J., & Naeije, R. (2019). Pathophysiology of the right ventricle and of the pulmonary circulation in pulmonary hypertension: An update. The European Respiratory Journal, 53(1), 1801900. https://doi.org/10.1183/13993003.01900-2018

23. Kutikhin, A. G., Tupikin, A. E., Matveeva, V. G., Shishkova, D. K., Antonova, L. V., Kabilov, M. R., & Velikanova, E. A. (2020). Human Peripheral Blood-Derived Endothelial Colony-Forming Cells Are Highly Similar to Mature Vascular Endothelial Cells yet Demonstrate a Transitional Transcriptomic Signature. Cells, 9(4), 876. https://doi.org/10.3390/cells9040876

24. Matveeva, V., Khanova, M., Sardin, E., Antonova, L., & Barbarash, O. (2018). Endovascular Interventions Permit Isolation of Endothelial Colony-Forming Cells from Peripheral Blood. International Journal of Molecular Sciences, 19(11), 3453. https://doi.org/10.3390/ijms19113453

Для цитирования: *Боярская Н.В., Скорцану О.И., Смирнова Д.В., Юдинцева Н.М., Гончарова Н.С., Коробченко Е.М., Матакаева Ж.А., Лапшин К.Б., Моисеева О.М., Малашичева А.Б. Эндотелиальные клетки легочной артерии in vitro: как преодолеть дефицит модельного объекта при изучении легочной артериальной гипертензии? Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2025;14(4): 58-66. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-4-58-66*

To cite: *Boyarskay N.V., Skortsanu O.I., Smirnova D.V., Yudintseva N.M., Goncharova N.S., Korobchenko E.M., Matakaeva Zh.A., Lapshin K.B., Moiseeva O.M., Malashicheva A.B. Endothelial cells of the pulmonary artery in vitro: how to overcome the deficiency of a model object in the study of pulmonary arterial hypertension? Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2025;14(4): 58-66. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-4-58-66*

Комментарий к статье «Эндотелиальные клетки легочной артерии *in vitro*: как преодолеть дефицит модельного объекта при изучении легочной артериальной гипертензии?»

А.Г. Кутихин

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, стр. 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Получение циркулирующих эндотелиальных клеток из периферической крови имеет исключительно важное значение для регенеративной медицины в контексте возможного получения возобновляемых препаратов аутологичных эндотелиальных клеток для терапевтического ангиогенеза. Современные исследования в этом направлении ограничены низкой эффективностью существующих технологических процессов выделения таких клеток из периферической венозной крови. В этом контексте важное фундаментальное и прикладное значение имеет работа Н.В. Боярской с коллегами, в которой представлены результаты выделения циркулирующих эндотелиальных клеток из крови, полученной напрямую из легочной артерии в процессе катетеризации правых камер сердца у 39 пациентов с легочной артериальной гипертензией. Сильной стороной исследования является прямое сравнение эффективности выделения циркулирующих эндотелиальных клеток из артериальной и венозной крови одних и тех же пациентов, а также при химической и механической диссоциации клеток напрямую с катетера Сван-Ганца. Именно такой дизайн исследования позволил убедительно показать принципиальную разницу в эффективности выделения циркулирующих эндотелиальных клеток из артериальной крови (16/39 пациентов, ≈ 40%) и венозной крови либо с катетера Сван-Ганца (ни одного успешного случая выделения). Дополнительно авторами было изучено влияние типа функционального белкового покрытия на формирование колоний эндотелиальных клеток с высокой пролиферативной активностью: в частности, появление таких колоний ускорялось при покрытии культурального пластика 0,2% желатином в сравнении с 0,01% фибронектином. Полученные клеточные культуры обладали каноническим эндотелиальным фенотипом (CD31+ vWF+) при конфокальной микроскопии и достаточно высокой пролиферативной активностью, что указывает на их возможную применимость для регенеративной медицины.

Можно с уверенностью сказать, что результаты этой статьи имеют широкие клинические перспективы. При проведении иных эндоваскулярных процедур (к примеру, чрескожного коронарного вмешательства) становится доступным получение циркулирующих эндотелиальных клеток из крови коронарной артерии; при проведении коронарного шунтирования возможен прямой забор крови из аорты и внутренней грудной артерии. Важными параметрами, влияющими на эффективность выделения циркулирующих эндотелиальных клеток из артериальной крови, являются ее объем (чем большее количество выделенные в градиенте фиколла клеток мононуклеарной фракции крови, тем большая вероятность получения циркулирующих эндотелиальных клеток), тип функционального белкового покрытия культурального пластика (важность которого была показана в описываемой работе), а также состав культуральной среды (параметры которой могут регулироваться как при сравнительном тестировании, так и непосредственно в процессе культивирования). Дальнейшие исследования покажут, возможно ли доведение показателя успешности выделения циркулирующих эндотелиальных клеток из артериальной крови до 80%, скорости получения достаточного для терапевтического введения количества эндотелиальных клеток (вероятно, ≥ 3 × 106) – до ≤ 3 недель, а показателя успешности ангиогенной активности данных клеток в трехмерном гелевом матриксе из основных белков базальной мембраны эндотелия (ламинина, коллагена IV типа, энтактина и перлекана) – до 100%. Вероятно, именно такие показатели были бы относительно приемлемыми для клинической апробации такой технологии.