

УДК 616.126.3 – 089.843:547.962.9



Попандопуло А. Г., Петрова М. В.

*Государственное учреждение «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В. К. Гусака Национальной академии медицинских наук Украины», Донецк, Украина*

e-mail: pag.lctc@mail.ru

# БЕСКЛЕТОЧНЫЙ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЙ МАТРИКС КАК ОСНОВА ТКАНЕИНЖЕНЕРНОГО ТРАНСПЛАНТАТА СЕРДЕЧНОГО КЛАПАНА

## РЕЗЮМЕ

Часто протезирование сердечного клапана является единственно возможным способом сохранить жизнь пациенту. Используемые в настоящее время механические протезы не способны к полноценному выполнению своих функций в организме, поскольку для их изготовления используют неживые материалы. На смену им приходят живые тканеинженерные трансплантаты. Тканевой инженеринг подразумевает реконструкцию жизнеспособной ткани с использованием аутологичных клеток, подсаженных на соединительнотканый матрикс, предварительно очищенный от клеток донорской ткани.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** тканеинженерный трансплантат, экстрацеллюлярный матрикс, аутологичные клетки.

Терминальная стадия заболеваний клапанного аппарата сердца в значительной степени является причиной высоких показателей смертности. По данным ВОЗ, на 2008 г. в мире от сердечно-сосудистых заболеваний умерло 17,5 млн чел., что составляет 30% всех смертельных случаев [8]. Часто единственно возможным выходом из ситуации является функциональная замена ткани или органа. Именно поэтому производство долгосрочно функционирующих кардиоваскулярных имплантатов – общая цель для исследователей и клиницистов в области сердечно-сосудистой хирургии. Тем не менее замена сердечного клапана на механический или биологический протез имеет множество нерешенных вопросов.

Так, используемые в настоящее время механические протезы не способны к полноценной адаптации к физиологическому окружению (такому как изменение давления, прочностные показатели), поскольку для их изготовления используют неживые материалы [23]. По той же причине они не способны к росту и развитию в организме, что делает невозможным их применение в детской хирургии сердца. Кроме того, применение механического протеза может быть причиной возникновения тромбозомболических явлений, что влечет за собой необходимость пожизненного применения антикоагуляционной терапии [17, 18, 23].

Долговечность же биологических протезов зависит от возраста, активности процессов дегенерации и кальцификации, приводящих к деструкции ткани [17]. Другой не менее важной проблемой трансплантации биологических клапанов сердца является недостаточное количество живого материала, имеющего потенциал к росту и регенерации.

Начиная с конца прошлого столетия учеными всего мира проведено множество исследований, направленных на то, чтобы определить возможность использования принципов тканевой инженерии для изготовления клапанных субстанций с тромборезистентным покрытием и жизнеспособным интерстицием, обладающих возможностью развития и роста [10, 14, 16, 25]. Результаты ряда экспериментов демонстрируют возможность конструирования жизнеспособных кардиоваскулярных структур путем перенесения клеток на синтетические полимеры, коллаген или ксеногенные скаффолды [23].

В то же время существует гипотеза, согласно которой тканевая инженерия имеет возможность получить более совершенный протез – живой, способный к росту, адаптивный, аутологичный и функционально оптимально настраиваемый. Суть данной гипотезы в использовании децеллюлированных ксеногенных сердечных клапанов,

которые должны обладать значительно сниженной антигенностью и быть идеальными для репопуляции протеза клетками реципиента для создания живой аутологичной ткани [26].

Успешность получения аутологичного жизнеспособного сердечно-сосудистого заменителя зависит от трех основных элементов: аутологичных клеток, подходящих по своей природе (фенотипически и функционально); матрикса как временного носителя, который дает тканевую прочность, до тех пор, пока не будет синтезирован экстрацеллюлярный матрикс аутологичными клетками; возможности формирования ткани и достижения полного развития в условиях *in vitro*, близких к физиологическим [23]. Использование для этих целей ксеногенного экстрацеллюлярного матрикса позволит в максимально сжатые сроки получить натуральную, живую основу – с требуемой тканевой архитектурой и необходимого размера, способную к росту и преобразованию в условиях *in vivo*. Помимо уже оговоренных выше преимуществ такого матрикса, он к тому же имеет меньшую себестоимость, что делает его более доступным для пациентов.

Экстрацеллюлярный матрикс рассматривается в соответствии со значением его роли в поддержании структуры и трехмерной формы соответствующего органа. Он играет роль своего рода динамического соединения с резидентной клеточной популяцией. Фенотип данной популяции, включая генетический профиль, белковый состав, функциональность, зависит от условий микроокружения (ниши), включающего такие факторы, как концентрация кислорода, pH, механические силы и биохимию среды [5, 11]. В свою очередь резидентные клетки секретируют соответствующие молекулы, при помощи которых осуществляется эффективное функционирование и коммуникация с соседними клеточными популяциями.

Помимо роли матрикса в развитии и поддержании гомеостаза, он может быть использован в качестве индуктивного скаффолда, способствующего ремоделирующему ответу после хирургической операции. Механизм данного ответа лежит в высвобождении латентных пептидов, являющихся митогенами и хемоаттрактантами для эндогенных стволовых, а также прогениторных клеток, модуляции врожденного иммунного ответа и обеспечения тканеспецифичных молекулярных стимулов для поддержания фенотипа и функции клеток [11].

Матричный скаффолд, изготовленный путем децеллюляризации, способен к поддержанию и стимуляции соответствующего клеточного фенотипа в течение репопуляции через посредство презентации лигандов и биологически активных молекул, необходимых резидентным и мигрирующим клеткам для самоорганизации в функциональные группы для формирования нормальной структуры и функционирования [11, 27].

В состав межклеточного матрикса входят несколько основных классов белковых молекул: протеогликаны – представленные белками, соединенными с полисахаридами – гликозаминогликанами; фибриллярные белки двух функциональных типов: преимущественно структурные (семейства коллагена и эластина) и преимущественно адгезивные (семейства фибронектина или ламинина) [9]. Все выше перечисленные белки относятся к группе белково-углеводных комплексов.

Коллаген – основной структурный фибриллярный белок межклеточного матрикса, найденный у всех многоклеточных живых организмов. В организме человека он составляет от 25 до 33% общего количества белка, т.е. порядка 6% массы тела. Коллагены секретируются как соединительнотканью клетками, так и различными другими типами клеток. Известно свыше 25 разных коллагеновых  $\alpha$ -цепей, каждая из которых кодируется своими генами [7]. Разные комбинации этих генов подвергаются экспрессии в разных тканях. Таким образом, преобладание определенного типа коллагена определяется той ролью, которую коллаген играет в конкретном органе или ткани. Одним из важных свойств коллагеновых волокон является их механическая прочность [29]. Так, например,

интерстиций миокарда состоит из сети коллагеновых волокон, преимущественно I и II типов. Жесткость мышцы сердца определяется коллагеном I типа (80% коллагена миокарда), а эластичность – коллагеном III типа (10% коллагена сердца), остальные типы коллагена (II, IV-VI) в норме представлены в незначительном количестве [28]. Коллагены синтезируются из проколлагенов, причем этот процесс происходит в фибробластах миокарда, которые продуцируют и такие протеины экстрацеллюлярного матрикса, как фибронектин [12, 13].

Способность соединительнотканых структур восстанавливать форму после механического воздействия связана с сетью эластических волокон, основой которых являются белки семейства эластина. Эластин – гидрофильный белок, синтезируемый фибробластами и гладкими мышечными клетками, содержащий в своем составе около 750 аминокислот. Для эластина характерно наличие двух производных аминокислот – десмозина и изодесмозина, которые участвуют в стабилизации молекулярной структуры эластина и придании ему способности к растяжению, эластичности [7, 27]. Подобно коллагену, в его молекулу входит необычно много пролина и глицина. Однако эластин не гликозилирован и содержит мало гидроксипролина и гидроксислизина.

Еще одна группа веществ, входящих в структуру матрикса, – гликопротеины («неколлагеновые белки») – класс соединений белков с олигосахаридами (гексозаминами, гексозами, фукозами, сиаловыми кислотами). Гликопротеины входят в состав как волокон, так и аморфного вещества [3, 5, 15, 19]. Фибронектин – главный поверхностный гликопротеин фибробласта. В межклеточном пространстве он связан главным образом с интерстициальным коллагеном. Полагают, что фибронектин обуславливает адгезию, миграцию, рост и дифференцировку клеток, обеспечивая взаимодействие клеток с матриксом. Ламинин – ключевой компонент базальной мембраны из семейства крупных адгезивных гликопротеинов, состоящий из трех полипептидных цепочек, связанных между собой дисульфидными соединениями, а также с коллагеном V типа и поверхностными рецепторами клеток. Также как и фибронектин, он отвечает за адгезию, миграцию, рост и дифференцировку клеток [3, 7, 22].

Волокна и клетки соединительной ткани заключены в аморфный компонент, или основное вещество. Эта гелеобразная субстанция представляет собой метаболическую, интегративно-буферную многокомпонентную среду, которая окружает клеточные и волокнистые структуры соединительной ткани, нервные и сосудистые элементы. В состав компонентов основного вещества входят ряд органических и неорганических соединений, в том числе растворимые предшественники коллагена и эластина, протеогликаны, гликопротеины и комплексы, образованные ими. Все эти вещества находятся в постоянном движении и обновлении. Гликозаминогликаны – мукополисахаридные соединения, линейные полимеры, построенные из повторяющихся дисахаридных единиц. Они проницаемы для кислорода и CO<sub>2</sub>, но предохраняют органы от проникновения чужеродных тел и белков. Гликозаминогликаны участвуют в формировании волокнистых структур соединительной ткани и их механических свойствах, в репаративных процессах соединительной ткани, в регуляции роста и дифференцировке клеток. Среди гликозаминогликанов наиболее распространена в соединительной ткани гиалуроновая кислота [3, 22].

Стоит отметить, что в целом структурные и функциональные молекулы экстрацеллюлярного матрикса относятся к классу высококонсервативных белков (аминокислотный состав данных белков имеет небольшую вариабельность среди различных видов), что почти полностью объясняет отсутствие иммунного ответа после ксенотрансплантации [11].

Таким образом, важное и достаточное условие отсутствия иммунного ответа на ксенотрансплантат – это отсутствие его клеточной составляющей, поскольку именно клеточные элементы ксенографта являются основным его индуктором [24].

В настоящее время разработано ряд методов предтрансплантационной обработки трансплантатов, обеспечивающих гибель клеток донора без использования кросс-сшивающих агентов и последующее заселение клеток реципиента перед имплантацией. Считается, что такой подход, помимо снижения выраженности иммунного ответа, будет также способствовать снижению кальцификации (внутриканевому отложению солей кальция) [2]. Согласно данному предположению, рецеллюляризация трансплантата клетками реципиента может положительно влиять на нормализацию кальциевого и фосфорного обмена в ткани и ее репарацию. Кроме того, увеличение долговечности пересаженного клапана также зависит от того, насколько быстро тканеобразующие клетки реципиента проникнут в матрикс донорского клапана, образуют там популяцию и приступят к созданию собственного матрикса. В этом случае можно рассчитывать на самообновление биопротеза и его дальнейшее развитие *in vivo*, сочетаемое с развитием и ростом организма [5].

На сегодняшний день в мире разработано множество методов по децеллюляризации ткани. Все их можно объединить в две основные группы: методы, предполагающие использование веществ, вызывающих некроз, и методы, реализующие процесс децеллюляризации путем индукции апоптотической гибели клеток. Первая группа позволяет достичь необходимого эффекта в полной мере за относительно непродолжительный период времени. Данные методики реализуются за счет использования осмотического шока дистиллированной водой; выдержки в криопротекторной смеси; обработки нуклеазами (ДНК-азы, РНК-азы), протеолитическими ферментами (трипсин), различными поверхностно активными веществами (*Triton X-100*, дигитонин) для разрушения клеточных мембран [5, 15]. При воздействии *Triton X-100* и трипсина достигается практически полное отсутствие клеток на матриксе. Тем не менее оба способа обработки деструктивны по отношению к эластическим волокнам матрикса, что влечет за собой потерю тканями возможности к растяжению. В меньшей интенсивности, но все же оказывают они пагубное влияние и на коллагеновые волокна, отвечающие в большей степени за прочность матрикса клапана, особенно важную во время диастолы. Кроме того, и трипсин, и *Triton X-100* отрицательно воздействуют на состояние гликозаминогликанов, что приводит к деформации клапана и, как следствие, к нарушению реализации им своих функций. Фибронектин, играющий ключевую роль в процессах клеточной миграции и пролиферации, также подвержен деструктивному влиянию трипсина и *Triton X-100*. Применение же химических агентов для удаления клеточных элементов влияет на плотность коллагеновых волокон, снижая ее и увеличивая межфибрилярные пространства, что напрямую связано с развитием недостаточности клапана после трансплантации [2, 15, 20].

У второй группы методов (апоптоиндуцирующие), несмотря на большие временные затраты, необходимые для их реализации, есть свои безусловные преимущества. К ним, прежде всего, причисляют возможность сохранения целостности внеклеточного матрикса, что, безусловно, является приоритетным требованием в условиях использования матрикса в качестве временной основы для клеток реципиента, дающей тканевую прочность до возможности выполнения данной функции вновь синтезированным аутологичным матриксом [1, 5].

Еще одной очень важной задачей является избежание кальцификации графта в постимплантационном периоде [2]. Под кальцификацией в данном случае подразумевается образование кальцийсодержащих отложений на поверхности или в толще имплантируемых изделий. Данный процесс играет положительную роль в восстановительной хирургии костных тканей, когда кальцификации подвергаются имплантированные конструкции (штифты, протезы суставов и др.) Но в случае кальцификации кардиоваскулярных трансплантатов это приводит к потере функциональных свойств протезов и необходимости повторных операций [4].

При исследовании причин и течения процесса кальцификации необходимо учитывать состав кальцийсодержащих отложений и их локализацию, которая бывает внутренней и внешней [24]. В первом случае отложения располагаются в толще материала, например внутри коллагенового волокна (внутрифибрилярно), а при внешней локализации отложения формируются в межфибрилярном пространстве или на поверхности материалов. Существенную роль в месторасположении отложений играют механические нагрузки, которым подвержен имплантат. Так, фосфаты кальция, как правило, обнаруживаются в местах интенсивных механических нагрузок независимо от типа биоматериала протеза. Это обусловлено, по-видимому, изменением энергетических характеристик поверхности при динамических нагрузках и появлением областей с возросшей внутренней энергией. При использовании для изготовления протезов материалов естественного происхождения возможно разрыхление структуры материала и повреждение самих волокон. Это сопровождается образованием так называемых «ловушек» для клеток или макрокомплексов, содержащих кальций, что в последующем стимулирует появление мест кристаллизации [6].

Для понимания механизма кальцификации биоматериалов необходимо выявить факторы, влияющие на этот процесс. Целенаправленные экспериментальные исследования проводятся в условиях *in vitro* и *in vivo*. Ни те, ни другие методы не дают полной и четкой картины: в первом случае аппроксимировать данные из условий *in vitro* на организм недостаточно корректно, а во втором – многокомпонентная среда живого организма затрудняет оценку одного выделенного фактора [2]. Но интерес представляет тот факт, что ткань с погибшими в результате некроза клетками подвергается данному процессу быстрее, поскольку погибшие клетки являются необходимым условием, приводящим к локальному изменению концентрации кальция, фосфатов, белков, липидов, ферментов. Это вызывает отложение растворимых форм фосфатов кальция, а при определенных условиях переход их в нерастворимые [21].

Такие широко применяемые способы децеллюляризации, как энзиматическая обработка, гипотонический шок, обработка детергентом додецилсульфатом натрия, наряду с эффективной децеллюляризацией совершенно не подавляют кальцификацию. Кроме того, после их применения, отмечается повреждение структурных белков тканевого матрикса.

Наиболее широкое распространение получил метод децеллюляризации с использованием бескальциевого раствора с этилендиаминтетрауксусной кислотой (*ЭДТА*). Он позволяет избежать повреждения тканевого матрикса в процессе его децеллюляризации обработки, а также, впоследствии, его дегенерации вследствие кальцификации [1]. *ЭДТА* – хелат, способный связывать ионы кальция, вследствие чего взаимодействие между кадгеринами нарушается и физическое соединение клеток в единую ткань ослабляется. Это приводит к диссоциации клеток. В то же время более высокие концентрации *ЭДТА*, согласно литературным данным, способны инициировать процесс апоптоза [5, 9]. Кроме того, являясь хелатором кальция, магния и ряда других ионов металлов *ЭДТА* используется для подавления накопления кальция и фосфатов в митохондриях в процессе клеточной гибели. Однако стоит отметить, что этот способ децеллюляризации не позволяет достичь полного удаления погибших клеток из толщи матрикса. Очевидно, это связано с тем, что клетки могут мигрировать с поверхности обрабатываемой ткани в ее толщу в результате отрицательного хемотаксиса. Тем не менее, данный вид децеллюляризации обработки индуцирует апоптотическую гибель клеток донора в трансплантатах, позволяя со временем полностью реализоваться процессу в условиях *in vivo* с участием макрофагов [5].

## ВЫВОДЫ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРЕХМЕРНЫХ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ ТКАНЕВЫХ МАТРИЧНЫХ СКАФФОЛДОВ В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ ДЛЯ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК В ЦЕЛЯХ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТЕЗА СЕРДЕЧНОГО КЛАПАНА – ЭТО ВОЗМОЖНОСТЬ РЕШИТЬ ПРОБЛЕМУ НЕХВАТКИ ДОНОРСКОГО МАТЕРИАЛА, УСКОРИТЬ ПРОЦЕСС РЕГЕНЕРАЦИИ ОРГАНА И УЛУЧШИТЬ КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ПАЦИЕНТА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ. ВАЖНЫМ УСЛОВИЕМ ДЛЯ ЭТОГО ЯВЛЯЕТСЯ ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА, СВОБОДНОГО ОТ КЛЕТОК ДОНОРСКОЙ ТКАНИ И В ТО ЖЕ ВРЕМЯ НЕПОВРЕЖДЕННОГО ДЕЦЕЛЛЮЛИРУЮЩИМИ АГЕНТАМИ, СОХРАНЯЮЩЕГО СВОЮ АРХИТЕКТУРУ, СОСТАВ И ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И, КАК СЛЕДСТВИЕ, СПОСОБНОГО К ПОЛНОЦЕННОМУ ВЫПОЛНЕНИЮ СВОИХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Акатов В.С., Муратов Р.М., Фадеева И.С. и др. Изучение биосовместимости трансплантатов клапанов сердца, девитализированных антикальцинозным способом. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – **V**, №2. – С. 36–41.
2. Акатов В.С., Фесенко Н.И., Соловьев В.В. и др. Подавление кальцификации трансплантатов клапанов сердца путем их девитализации. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – **V**, №1. – С. 41–46.
3. Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А., Котовский Е.Ф. Гистология, цитология и эмбриология. – М.: Медицина, 2003. – С. 315–338.
4. Барбараш Л.С., Барабаш Н.А., Журавлева И. Ю. Биопротезы клапанов сердца: проблемы и перспективы. – Кемерово: Современная отечественная книга, 1994. – 547с.
5. Бокерия Л.А., Муратов Р. М., Скопин И. И. и др. Криосохраненные аллографты в реконструктивной хирургии пороков аортального клапана. – М.: НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2007. – 282 с.
6. Волова Т. Г., Шишацкая Е. И., Мионов П. В. Материалы для медицины, клеточной и тканевой инженерии. – Красноярск: СФУ, 2009. – С.168–170.
7. Орловский П.И., Гриценко В.В., Юхнев А.Д. и др. Искусственные клапаны сердца / Под ред. Академика РАМН Ю.Л.Шевченко. – СПб.: ЗАО «ОЛМА Медиа Групп», 2007. – 448с
8. Всемирная организация здравоохранения. – <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/ru>.
9. Таганович А. Д. и др. Биологическая химия: краткий курс лекций для иностранных учащихся стомфака. – Мн.: БГМУ, 2005. – 119 с.
10. Bader A., Schilling T., Teebken O., Brandes G. Tissue engineering of heart valves – human endothelial cell seeding of detergent acellularized porcine valves. // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 1998. – **14**. – P. 279–84.
11. Badylak S. F., Weiss D. J., Caplan A., Macchiarini P. Engineered whole organs and complex tissues. // The Lancet. – 2012. – **379**, № 9819. – P. 943–952.
12. Czaja M.J., Weiner F.R., Eghbali M. Differential effects of gamma-interferon on collagen and fibronectin gene expression. // J. Biol. Chem. – 1987. – **262**. – P. 1348–1351.
13. Eghbali M. Cardiac fibroblasts: function, regulation of gene expression, and phenotypic modulation. // Basic Res. Cardiol. – 1992. – **87**, № 2. – P. 183–189.
14. Elkins R., Goldstein S., Hewitt C., Walsh S. Recellularization of heart valve grafts by a process of adaptive remodeling. // Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2001. – **13**. – P. 87–92.
15. Grauss R., Hazekamp M., Viet S. et al. Decellularization of rat aortic valve allografts reduces leaflet destruction and extracellular matrix remodeling. // J. Thorac. and Cardiovasc. Surg. – 2003. – **126**. – P. 63–82.
16. Hoerstrup S.P., Sodian R., Daebritz S. et al. Functional living trileaflet heart valves grown in vitro. // Circulation. – 2000. – **102**, № III. – P. 44–49.
17. Kasimir M., Rieder E., Seebacher G., Nigisch A. Decellularisation does not eliminate thrombogenicity and inflammatory stimulation in tissue-engineered porcine heart valves. // J. Heart Valve Dis. – 2006. – **15**, № 2. – P. 278–286.
18. Klopsch C., Steinhoff G. Tissue-engineered devices in cardiovascular. // Eur. Surg. Res. – 2012. – № 49. – P. 44–52.
19. O'Brien M., McGiffin D., Stafford E. Allograft aortic valve implantation: techniques for all types of aortic valve and root pathology // Ann. Thorac. Surg. – 1989. – **48**, № 4. – P. 600–609. ,
20. Rieder E., Seebacher G., Kasimir M. Decellularized porcine and human valve scaffolds differ importantly in residual potential to attract monocytic cells. // Circulation. – 2005. – **111**. – P. 2792–2797.
21. Rosanova I., Michenko B., Zaitsev V. The effect of cells on biomaterials calcification: experiments with diffusion chamber. // J. Biomed. Mater. Res. – 1991. – **25**. – P. 277–280.
22. Ross M., Wojciech P. Histology: A Text and Atlas. – Lippincott Williams & Wilkins, 2010. – P. 235–241.
23. Schmidt D., Hoerstrup S. Tissue engineered heart valves based on human cells. // Swiss. Med. Wkly. – 2005. – № 135. – P. 618–623.
24. Schmidt D., Stock U. A., Hoerstrup S. Tissue engineering of heart valves using decellularized xenogeneic or polymeric starter matrices // Phil. Trans. R. Soc. B. – 2007. – **362**. – P. 1505–1512.
25. Shinoka T., Breuer C., Tanel R., Zund G. Tissue engineering heart valves: valve leaflet replacement study in a lamb model. // Ann. Thorac. Surg. – 1995. – **60**. – P. 513–516.
26. Simon P., Kasimir M., Seebacher G., Weigel G. Early failure of the tissue engineered porcine heart valve SYNERGRAFT in pediatric patients. // Eur. J. of Cardiothoracic Surg. – 2003. – **23**. – P. 1002–1006.
27. Steinhoff G., Stock U., Karim N. Tissue engineering of pulmonary heart valves on allogenic acellular matrix conduits. // Circulation. – 2000. – **102**, № III. – P. III-50–III-55.
28. Weber K., Sun Y., Tuagi S., Cleutjens J. Collagen network of the myocardium: function, structural remodelina and regulatory mechanisms. // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1994. – **26**. – P. 279–292.
29. Wilson E., Spinale F. Myocardial remodelling and matrix metalloproteinases in heart failure: turmoil within the interstitium. // Ann. Med. – 2001. – **33**. – P. 623–634.