

УДК 616.13-77:577.11

DOI 10.17802/2306-1278-2023-12-4S-120-130

ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЙ МАТРИКС НА ОСНОВЕ ПОЛИУРЕТАНА: ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO*

Е.А. Сенокосова, Е.С. Прокудина, В.Г. Матвеева, Е.А. Великанова, Т.В. Глушкова, В.А. Кошелев, Т.Н. Акентьева, Л.В. Антонова, **Л.С. Барбараш**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Создан и протестирован *in vitro* новый материал на основе полиуретана. Методом электроспиннинга получен высокопористый материал с удовлетворительными физико-механическими, гемосовместимыми и матричными свойствами, подходящими для создания изделий сердечно-сосудистого профиля.

Цель

Изготовление тканеинженерного матрикса на основе полиуретана и изучение его физико-механических характеристик, гемосовместимости и матричных свойств в сравнении с децеллюризированным ксеноперикардом и сонной артерией овцы.

Материалы и методы

Матрикс на основе полиуретана изготавливали методом электроспиннинга. Структуру поверхности исследовали методом сканирующей электронной микроскопии, физико-механические характеристики – на универсальной испытательной машине Zwick/Roell, гемосовместимость – согласно ГОСТ ISO 10993-4-2020, матричные свойства материала – в клеточном эксперименте с Ea.hu 926.

Результаты

Структура матрикса из 12% полиуретанового была представлена волокнистой сетью со взаимопроникающими порами. Физико-механические характеристики матриксов из полиуретана соответствовали параметрам сонной артерии овцы больше, чем ксеноперикард. Полиуретан обладал оптимальной гемосовместимостью: гемолиз эритроцитов не превышал 0,52%, агрегация тромбоцитов соответствовала показателям агрегации обогащенной тромбоцитами плазмы – 80%. Адгезия тромбоцитов к поверхности полиуретанового матрикса статистически значимо ниже адгезии к ксеноперикарду ($p = 0,0041$). Показатели клеточной адгезии, жизнеспособности и метаболической активности Ea.hu 926, культивированных на поверхности полиуретановых матриксов, были выше относительно ксеноперикарда: плотность клеток составила 236,3 [198,5; 264,6] кл/мм² ($p = 0,458$), жизнеспособность – 19,0 [16,0; 25,0] % ($p = 0,0145$).

Заключение

Физико-механические, гемосовместимые и матричные свойства полиуретана подтвердили его пригодность для потенциального использования в сердечно-сосудистой хирургии.

Ключевые слова

Сосудистая тканевая инженерия • Полиуретан • Электроспиннинг • Гемосовместимость • Биосовместимость

Поступила в редакцию: 23.10.2023; поступила после доработки: 14.11.2023; принята к печати: 01.12.2023

TISSUE ENGINEERING MATRIX BASED ON POLYURETHANE: *IN VITRO* RESEARCH

Е.А. Senokosova, E.S. Prokudina, V.G. Matveeva, E.A. Velikanova, T.V. Glushkova, V.A. Koshelev, T.N. Akentyeva, L.V. Antonova, **L.S. Barbarash**

Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, Sosnoviy blvd, Kemerovo, Russian Federation, 650002

Highlights

- The article focuses on a new polyurethane-based material that has been developed and tested *in vitro*.

Для корреспонденции: Евгения Андреевна Сенокосова, sergeewa.ew@yandex.ru; адрес: Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Evgenia A. Senokosova, sergeewa.ew@yandex.ru; address: 6, Sosnoviy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

This highly porous material with satisfactory physical and mechanical, hemocompatibility and matrix properties, obtained by using an electrospinning method, is suitable for the fabrication of cardiovascular products.

Aim	To manufacture a polyurethane-based tissue engineered matrix and study its physical and mechanical characteristics, hemocompatibility and matrix properties in comparison with decellularized xenopericardium and sheep carotid artery.
Methods	Matrices based on polyurethane were produced by electrospinning. The surface structure was studied by scanning electron microscopy, the physical and mechanical characteristics were studied using a Zwick/Roell Universal testing machine, hemocompatibility was studied according to ISO 10993-4-2020, and the matrix properties of the material were studied in a cell experiment with Ea.hy 926.
Results	The structure of the 12% polyurethane matrix was represented by a fibrous network with interpenetrating pores. The physical and mechanical characteristics of polyurethane matrices corresponded to the parameters of the carotid artery of sheep more than xenopericardium. Polyurethane had optimal hemocompatibility: hemolysis of erythrocytes did not exceed 0.52%, platelet aggregation corresponded to the aggregation of platelet-rich plasma – 80%. Platelet adhesion to the surface of the polyurethane matrix is statistically significantly lower than adhesion to the xenopericardium ($p = 0.0041$). Cell adhesion, viability and metabolic activity of Ea.hy 926 cultured on the surface of polyurethane matrices were higher relative to xenopericardium: cell density was 236.3 [198.5; 264.6] cells/mm ² ($p = 0.458$), viability 19.0 [16.0; 25.0] % ($p = 0.0145$).
Conclusion	Physical and mechanical characteristics, hemocompatibility and matrix properties of polyurethane confirmed its suitability for potential use for the needs of cardiovascular surgery.
Keywords	Vascular tissue engineering • Polyurethane • Electrospinning • Hemocompatibility • Biocompatibility

Received: 23.10.2023; received in revised form: 14.11.2023; accepted: 01.12.2023

Список сокращений

ОТП – обогащенная тромбоцитами плазма ФСБ – фосфатно-солевой буфер
 ПУ – полиуретан

Введение

В настоящий момент отмечено непрерывное возрастание частоты атеросклероза среди населения, в том числе с поражением коронарных артерий и периферических кровеносных сосудов [1–4]. В связи с этим наблюдается увеличение количества хирургических вмешательств по восстановлению кровотока посредством протезирования или наложения шунтов. Остро стоит проблема нехватки протезов сосудов малого диаметра, что затрудняет проведение жизненно важных операций и повышает риск осложнений для пациентов [5]. Аутологичные трансплантаты имеют ограниченную доступность вследствие ранее перенесенных операций, прогрессирующего атеросклероза и других заболеваний [6–9].

Методологическое разнообразие сосудистой тканевой инженерии позволяет создавать сосуди-

стые протезы с высоким потенциалом внедрения в клиническую практику [10–13]. Одной из особенностей такого подхода является работа с нестандартными видами материалов: биodeградируемыми и природными полимерами, аутологичными биологическими жидкостями и тканями. Оригинальные подходы к изготовлению трубчатых 3D-конструкций обеспечивают их пористость и необходимые размеры. При имплантации таких сосудистых протезов происходит успешная миграция собственных клеток организма в стенку данных конструкций с последующим формированием *in situ* ткани *de novo* [14–18]. Задача, которую должна решить сосудистая тканевая инженерия, – это гармоничная синхронизация замены полимерного каркаса новообразованной тканью с формированием фрагмента здорового функционально активного сосуда. На сегодняшний день существует проблема отсутствия

волокон эластического ряда в структуре новой ткани на месте полимерного сосудистого протеза. В долгосрочных экспериментах по имплантации биодеградируемых сосудистых протезов малого диаметра крупным лабораторным животным выявлены аневризматические расширения сосуда *de novo*, скорее всего связанные с отсутствием эластина и истинных гладкомышечных клеток [19, 20]. Поэтому существует необходимость усиления эластических свойств сосудистых протезов, состоящих из биодеградируемых полимеров. Термопластичные полиуретаны (ПУ) представляют собой класс полимеров с подходящими свойствами: высокой прочностью на разрыв, эластичностью и устойчивостью к изгибу, износостойкостью, малым радиусом перегиба у трубчатых конструкций, устойчивостью к воздействию микробов и гидролизу, био- и гемосовместимостью [21–23]. Полиуретаны уже применяют как в изготовлении элементов медицинского инструмента, так и для создания имплантируемых изделий [24, 25]. Основными представителями термопластичных ПУ, используемых в биомедицинской промышленности, являются полимеры торговых марок Chronoflex™, Tecoflex™, Pelletane™ и другие. При исследовании биодеградации ПУ *in vitro* и *in vivo* не выявлено признаков их биодеградации [26–28]. Мы выбрали полиуретан Tecoflex™ в качестве материала, способного сформировать антианевризматическую защиту биодеградируемого трубчатого каркаса.

Цель настоящего исследования – изготовление тканеинженерного матрикса на основе полиуретана и изучение его физико-механических характеристик, гемосовместимости и матриксных свойств в сравнении с децеллюризированным ксеноперикардом и сонной артерией овцы.

Материалы и методы

Изготовление полиуретановых матриксов. Электроспиннинг 3%, 5%, 10% и 12% раствора полиуретана на 1,1,1,3,3,3-гексафлуоро-2-пропаноле (HFIP, Sigma-Aldrich, США) проведен на установке Nanon-01A (MECC, Япония). Режимы электроспиннинга представлены в табл. 1.

Сканирующая электронная микроскопия. Оценку структуры поверхности материала проводили на сканирующем электронном микроскопе S-3400N

(Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 10 кВ. Перед исследованием образцы протезов размером 0,5 × 0,5 см подвергали золото-палладиевому напылению с получением покрытия толщиной 15 нм при использовании системы для напыления EM ACE200 (Leica Microsystems GmbH, Австрия).

Физико-механические свойства. Оценку физико-механических свойств материала проводили в соответствии с ГОСТ 270-75 в условиях одноосного растяжения на универсальной испытательной машине серии Z (Zwick/Roell, Германия) с использованием датчика с номинальной силой 50 Н, скорость перемещения траверсы при испытании – 50 мм/мин. Вырубку образцов осуществляли в продольном и поперечном направлениях. Оценивали прочность материала по максимальному напряжению при растяжении образцов (МПа) и силе, приложенной к образцу до начала его разрушения (Fmax, Н), упруго-деформативные свойства по относительному удлинению (%) и модулю Юнга (МПа). В роли группы сравнения выступил ксеноперикардальный лоскут. Контрольная группа – сонная артерия овцы (a. carotis).

Оценка гемосовместимости

Степень гемолиза эритроцитов. Степень гемолиза эритроцитов оценивали после контакта исследуемых матриксов из 12% полиуретана и ксеноперикарда со свежей цитратной кровью. Образцы матриксов (n = 6) площадью 25 см² инкубировали в кюветах с 10 мл физиологического раствора в термостате при 37 °С в течение 2 ч. Далее в каждую кювету вносили по 200 мкл свежей цитратной крови, перемешивали и выдерживали в термостате при 37 °С в течение 60 мин. Физиологический раствор и дистиллированную воду использовали в качестве положительного и отрицательного контролей соответственно. После завершения инкубации раствор из кювет отбирали в пробирки и центрифугировали при 2 800 об/мин в течение 10 мин с целью осаждения эритроцитов. На спектрофотометре GENESYS 6 (Thermo Scientific, США) измеряли оптическую плотность надосадочных растворов при длине волны 545 нм. Степень гемолиза (H, %) определяли по формуле $(Dt - Dne) / (Dpe - Dne) \times 100\%$, где Dt – оптическая плотность пробы, инкубируемой

Таблица 1. Режимы электроспиннинга
Table 1. Electrospinning modes

Процент ПУ-раствора / Percent PU solution, %	Размер иглы / Needle size, G	Напряжение, кВ / Voltage, kV	Скорость подачи раствора, мл/ч / Solution flow rate, mL/h	Скорость вращения коллектора, об/мин / Rotation speed of collector, rpm	Время отчистки иглы, с / Needle cleaning time, sec
3	27	20	0,5	200	30
5–10–12	22	20	0,5	200	30

Примечание: ПУ – полиуретан.
Note: PU – polyurethane.

с экспериментальным образцом; Dne – оптическая плотность отрицательного контроля (пробы с физиологическим раствором); Dre – оптическая плотность положительного контроля (пробы после 100% гемолиза). В качестве положительного контроля (полное отсутствие гемолиза) принимали среднее значение оптической плотности при измерении проб физиологического раствора с кровью (было равно 0). В качестве отрицательного контроля принимали среднее значение оптической плотности проб после инкубации крови с дистиллированной водой (100% гемолиз).

Оценка агрегации тромбоцитов. Оценку агрегации тромбоцитов после контакта донорской плазмы с исследуемым материалом проводили в соответствии с ISO 10993.4. К свежей донорской крови добавляли 3,8% раствор цитрата натрия (в соотношении 9:1) и затем центрифугировали при 1 000 об/мин в течение 10 мин. Полученную обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) использовали в качестве положительного контроля реакции агрегации тромбоцитов. Для калибровки прибора применяли бедную тромбоцитами плазму, которую получали в результате повторного центрифугирования ОТП при 4 000 об/мин в течение 20 мин. Исследуемые образцы матриксов помещали в кюветы с ОТП на 3 мин, затем добавляли индуктор агрегации тромбоцитов АДФ («АГРЕНАМ», АГ-6, Россия) в концентрации 20 мкМ/л. Агрегацию тромбоцитов оценивали с помощью полуавтоматического 4-канального анализатора АРАСТ 4004 (LABiТес, Германия). Спустя 5 мин регистрировали процент агрегации тромбоцитов (%).

Оценка адгезии тромбоцитов. Степень адгезии тромбоцитов оценивали после инкубации исследуемых матриксов площадью 0,25 см² в течение одного часа при 37 °С с 300 мкл ОТП. С целью удаления неадгезированных тромбоцитов исследуемые образцы промывали в фосфатно-солевом буфере (ФСБ, pH 7,4), затем препараты в течение 10 мин фиксировали в 4% растворе параформальдегида. Далее образцы инкубировали с кроличьими антителами к CD41 (Abcam, Великобритания) и мышинными антителами к CD62P (Abcam,) в течение 12 ч при 4 °С. После этого матриксы отмывали ФСБ с добавлением 0,1% Tween 20. Затем образцы инкубировали в течение часа при комнатной температуре со вторичными антителами козы к IgG кролика, конъюгированными с Alexa Fluor 488-conjugated (Thermo Fisher Scientific, США) и антителами козы к IgG мыши, конъюгированными с Alexa Fluor 555-conjugated (Thermo Fisher Scientific). Срезы повторно отмывали ФСБ с добавлением 0,1% Tween 20. Для анализа препаратов использовали конфокальный микроскоп (LSM700, Carl Zeiss, Германия).

Изучение адгезивных характеристик, цито-

токсичности и матричных свойств 12% ПУ-матриксов в сравнении с ксеноперикардом. В качестве клеток для тестирования была использована культура Ea.hy 926, представляющая собой гибридому эндотелиальных клеток пупочной вены и карциномы легкого человека. Для этого матриксы на основе ПУ и ксеноперикарда фиксировали на дне 24-луночного планшета (n = 5), заселяли эндотелиальными клетками и культивировали в питательной среде в течение 72 ч. В роли контроля выступил культуральный пластик.

Оценка адгезии и жизнеспособности клеток. После срока культивирования клетки окрашивали ядерными красителями Hoechst 33342 (10 мкг/мл, Sigma Aldrich, США) в течение 10 мин и этидиум бромидом (30 мкг/мл, Sigma Aldrich) в течение минуты. Подсчет мертвых клеток (ядра окрашены этидиум бромидом) и общего количества клеток (ядра окрашены Hoechst) на образцах и культуральном пластике производили на инвертированном микроскопе Axio Observer Z1 (Carl Zeiss) с пяти случайных полей зрения с каждого дубля.

Количество мертвых клеток (%) = абсолютное количество мертвых клеток × 100% / абсолютное количество всех адгезированных клеток. Относительное количество живых клеток определяли путем вычитания доли мертвых клеток из 100% адгезированных клеток.

Оценка метаболической активности. Метаболическую активность оценивали колориметрическим методом с использованием набора Cell Cytotoxicity Assay Kit-Colorimetric (Abcam). В лунки с образцами вносили реактив в рабочей концентрации (1:5 с питательной средой), инкубировали 3 ч при 37 °С. После отбирали по 200 мкл реактива из лунок с образцами переносили в лунки 96-луночного планшета и измеряли оптическую плотность на двух длинах волн, 570 и 605 нм, на спектрофотометре Multiskan Sky (Thermo Fisher Scientific).

Расчет метаболической активности (UE) клеток проводили по формуле: $(UE) = R_{op} - R_0$, где R – отношение оптической плотности (ОП) при длине волны 570 нм к ОП при длине волны 605 нм (ОП₅₇₀/ОП₆₀₅); ОП – опытный образец; 0 – «нулевая» проба без клеток, содержащая реактив в рабочей концентрации.

Изучение матричных свойств. Адгезионные свойства ПУ-матрикса и ксеноперикарда исследовали по площади, занимаемой белком фокальной адгезии Talin. Для этого подготовленные образцы фиксировали 10 мин в 4% растворе параформальдегида, пермеабелизировали Triton ×100 0,1% 15 мин. Неспецифическое связывание блокировали 1% раствором бычьего сывороточного альбумина в ФСБ в течение часа при комнатной температуре. Далее образцы инкубировали с первичными антителами кролика Talin (Abcam, ab71333) при 4 °С в течение

ночи. После отмывания ФСБ образцы инкубировали 1,5 ч со вторичными антителами Donkey anti-Rabbit IgG (H + L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody Alexa Fluor 488 (Thermo Fisher, A 21206) 1:600 и Phalloidin Alexa Fluor 568 (Invitrogen, A12380, США). Далее образцы повторно отмывали ФСБ от не связавшихся вторичных антител и контрастировали ядра с помощью 10 мкг/мл DAPI (4',6-Diamidino-2-Phenylindole Dihydrochlorid; Sigma Aldrich) в течение 40 мин. Готовые образцы отмывали и монтировали под покровные стекла в ProLong medium (Life Technologies, США) и исследовали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 700 (Zeiss).

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов выполняли в программе Prism 7 (GraphPad Software, США). Характер распределения данных в выборках оценивали по критерию Колмогорова – Смирнова. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [25%; 75%]). Статистически значимые различия между двумя независимыми группами оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни. Сравнение между несколькими группами проведено критерием Краскела – Уоллиса с коррекцией результатов с учетом множественности сравнения критерием Данна. Статистически значимыми различия принимали при $p < 0,05$ во всех тестах.

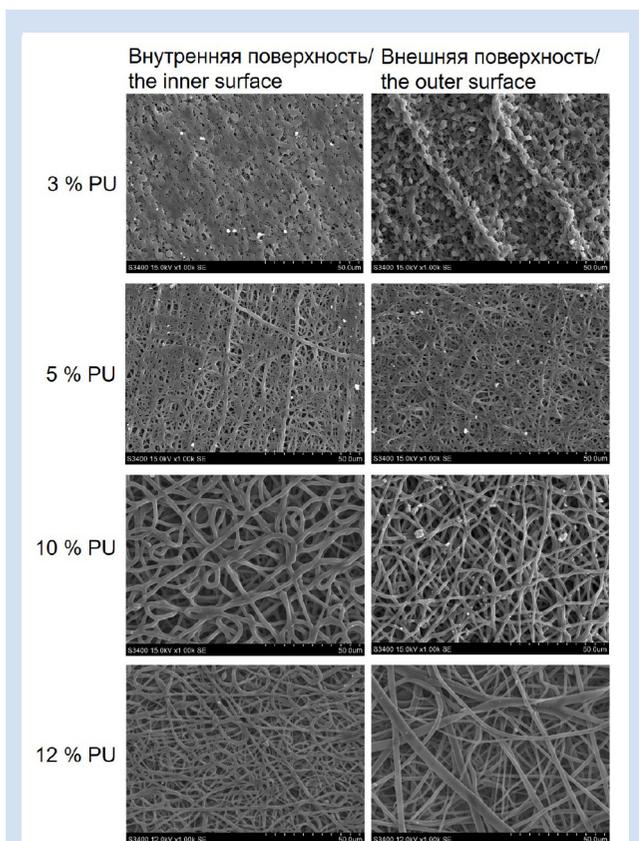


Рисунок 1. Ультраструктура ПУ-матриц. Линейка = 50 мкм
Figure 1. Ultrastructure of PU matrix. Scale bar = 50 microns

Результаты

Структура поверхности ПУ-матриц. Структура внутренней и внешней поверхности ПУ-матрикса менялась в зависимости от концентрации полимера (рис. 1). Так, с увеличением концентрации до 12% на внутренней и внешней поверхности матрикса исчезали плотно спаянные между собой капли и нити. Ультраструктура внутренней поверхности полученного материала представляла взаимосвязанную пористую 3D-сеть из волокон разного диаметра. Стоит отметить уменьшение диаметра пор в сравнении с 10% ПУ.

Физико-механические свойства 12 % ПУ-матрикса. Матрикс на основе 12% полиуретана, изготовленный методом электроспиннинга, значительно отличался от физико-механических характеристик сонной артерии овцы (рис. 2). Однако более существенными отличиями по всем критериям обладал децеллюризованный ксеноперикард, активно применяемый в сосудистой хирургии. Стоит отметить, что по прочностным характеристикам ПУ-матрикс более приближен к нативной артерии и на 11% менее жесткий в сравнении с ксеноперикардом. Эластичность ПУ-матрикса оказалась высокой как в продольном, так и поперечном направлениях. Анализ нового материала в зависимости от направления вырубki показал, что распределение нано- и микроволокон в процессе электроспиннинга позволило получить высокопористый материал, более прочный в продольном направлении, с неизменными высокими упруго-деформативными свойствами (см. рис. 2).

Оценка гемосовместимости. Гемолиз эритроцитов при контакте с ПУ-матриксами находился на низком уровне – 0,52 [0,43; 0,65] %, тогда как при

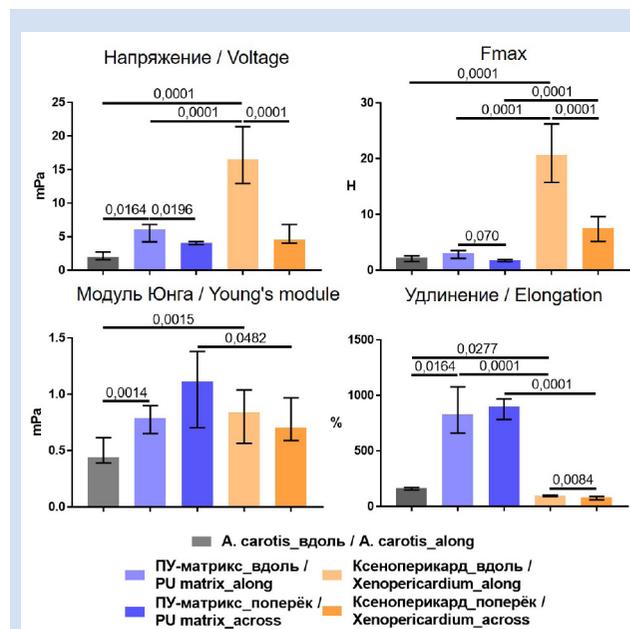


Рисунок 2. Физико-механические свойства материалов
Figure 2. Physical and mechanical properties of materials

контакте с ксеноперикардом гемолиз достиг 2,02 [1,62; 2,52] % (рис. 3).

По всем основным показателям оценки агрегации тромбоцитов исследуемые материалы не отличались от контрольной обогащенной тромбоцитами плазмы. Общий процент агрегации находился в диапазоне 80,0–86,6% (табл. 2).

Иммунофлуоресцентное окрашивание тромбоцитов позволило определить значимую разницу в адгезии в зависимости от вида материала. На внутренней поверхности ПУ-матрикса было в 3,3 раза ниже прикрепленных тромбоцитов в сравнении с ксеноперикардом ($p < 0,001$) (рис. 4).

Матриксные свойства. Спустя 3 суток культивирования Ea.hu 926 на изучаемых материалах установлено, что ПУ обладал большей биологической привлекательностью для эндотелиальных клеток, нежели коммерческий децеллюризованный ксеноперикард. Плотность клеток на ПУ составила 236,3 [198,5; 264,6] кл/мм², что в 2,6 раза выше плотности заселения Ea.hu 926 на ксеноперикарде (90,3 [64,0; 120,2] кл/мм², $p < 0,05$). Жизнеспособность эндотелиальных клеток также была выше у ПУ – 19,0 [16,0; 25,0] %. Клеточная метаболическая активность на материалах была сопоставима (0,1 усл. ед; рис. 5).

Иммунофлуоресцентное окрашивание Ea.hu 926 на белок фокальной адгезии Tallin и цитоскелета f-актин на исследуемых материалах позволило дополнить данные по матриксным свойствам. Активация интегриновых рецепторов и формирование очагов фокальной адгезии демонстрируют механизмы адгезионности и привлекательности материала для клеток. Реализация этого механизма может быть продемонстрирована на примере каркасного белка Talin, который обеспечивает закрепление интегрин в цитоскелете, участвует в регу-

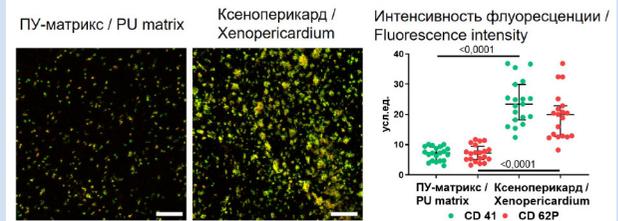


Рисунок 4. Конфокальная микроскопия тромбоцитов на биоматериалах: зеленое свечение – CD 41 (все тромбоциты), красное свечение – CD 62P (активированные тромбоциты), желтое свечение – наложение свечений флуоресценции. Линейка = 50 мкм

Figure 4. Confocal microscopy of platelets on biomaterials: green glow – CD 41 (all platelets), red glow – CD 62P (activated platelets), yellow glow – superimposition of fluorescence glow. Scale bar = 50 microns

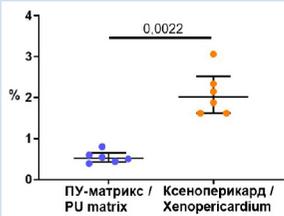


Рисунок 3. Гемолиз эритроцитов
Figure 3. Hemolysis of erythrocytes

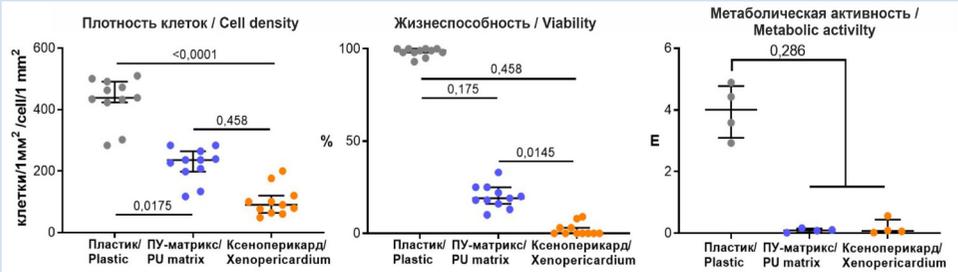


Рисунок 5. Матриксные свойства
Figure 5. Matrix properties

Таблица 2. Основные данные агрегации тромбоцитов при контакте с биоматериалами
Table 2. Basic data on platelet aggregation in contact with biomaterials

Изменение формы / Shape change, %	Время изменения формы, с / Time of shape change, sec	Время, за которое был достигнут максимум агрегации, с / The time for which the maximum aggregation was achieved, sec	Площадь / Square, %	Время экспозиции, с / Exposure time, sec	Общий процент агрегации / Total percentage of aggregation, %
Me [25 %; 75%]					
ОТП / PRP					
-2,03 [-2,85; -0,83]	5,70 [5,2; 6,2]	298,70 [286,2; 311,0]	66,85 [64,08; 68,25]	306,00 [302,5; 328,8]	83,65 [80,18; 85,95]
ПУ-матрикс / PU matrix					
0,33 [-0,98; 1,84]	6,20 [4,95; 6,20]	276,70 [265,2; 293,0]	67,10 [66,30; 68,35]	305,00 [304,0; 306,8]	81,95 [80,95; 85,18]
Ксеноперикард / Xenopericardium					
2,82 [1,33; 3,71]	5,20 [3,95; 5,20]	301,20 [264,5; 305,2]	69,25 [68,13; 71,10]	306,00 [303,8; 307,3]	84,70 [79,98; 86,55]

Примечание: ОТП – обогащенная тромбоцитами плазма; ПУ – полиуретан.
Note: PRP – platelet-rich plasma; PU – polyurethane.

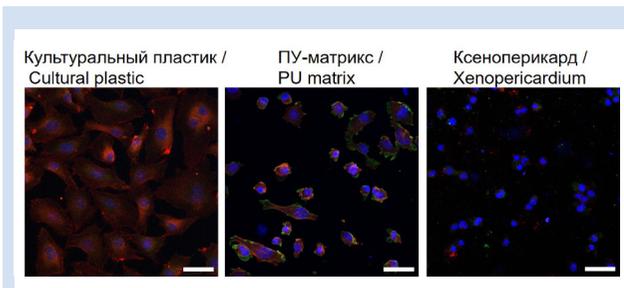


Рисунок 6. Конфокальная микроскопия клеток, культивируемых на разных типах поверхностей. Зеленое свечение – f-актин, красное – Talin, синее – DAPI. Линейка = 50 мкм
Figure 6. Confocal microscopy of cells cultured on different types of surfaces. The green glow is f-actin, the red glow is Talin, the blue glow is DAPI. Scale bar = 50 microns

ляции сборки комплекса фокальной адгезии. «Золотой стандарт» культивирования эндотелиальных клеток получен на культуральном пластике: клетки стремились к своей правильной гексагональной форме, контактировали между собой, адгезировались на поверхность с формированием очагов фокальной адгезии. На ПУ и ксеноперикарде не был получен клеточный монослой. Однако ПУ показал преимущество по сравнению с ксеноперикардом, несмотря на то что клетки на нем в большей степени были ошаренные, активация интегриновых рецепторов и формирование очагов фокальной адгезии присутствовали. На поверхности ксеноперикарда обнаружены очаги конгломератов клеток с отсутствием окрашенных белковых структур цитоскелета. Результаты иммунофлуоресцентного окрашивания полностью согласуются с показателями клеточной жизнеспособности и метаболической активности (рис. 6).

Обсуждение

Высокая клиническая потребность в протезах сосудов малого диаметра привела к активным разработкам альтернативных аутологичным искусственных изделий, которые обладают потенциалом регенерации сосудистых тканей при деградации сосудистого трансплантата. В процессе их изготовления и тестирования на разных экспериментальных моделях исследователи столкнулись с рядом важных проблем, без решения которых невозможно клиническое применение продукта. Малый диаметр (< 4 мм) коронарных, церебральных или жизненно важных периферических сосудов характеризуется такой важной особенностью, как низкая скорость кровотока, что в свою очередь провоцирует тромбообразование. Данную проблему исследователи преодолели, скорректировав пористость внутренней поверхности или сформировав атромбогенное покрытие. В своих разработках мы формируем эффективный гидрогелевый слой с гепарином и илопростом на внутренней поверхности нетканых протезов на основе сополимерной композиции полигидроксибутирата-со-валерата с

поликапролактоном или монокомпонентного поликапролактона – такие протезы уже протестированы на крупных лабораторных животных [29, 30]. При исследовании долгосрочного функционирования протеза сосуда малого диаметра на модели овцы выявлено аневризмобразование в стенке проходимых биодеградируемых протезов. Отсутствие синтеза эластиновых волокон и истинных гладкомышечных клеток, вероятно, является основой такой патологии. В настоящее время исследователи предлагают разные способы укрепления стенки протеза, в частности усиленные внешние слои/покрытия [31, 32]. Наша идея заключается во включении в полимерный состав биодеградируемого каркаса биостабильного полиуретана, который обладает необходимыми эластическими свойствами и способен выступить в качестве антианевризматической защиты. Исследования ПУ начали со стандартных *in vitro* тестов. Методом электроспиннинга изготовлен высокопористый матрикс на основе 12% ПУ. Доказано, что физико-механические характеристики ПУ более приближены к нативной артерии овцы. Степень гемолиза при контакте с ПУ была низкой и не перешла за 1%, агрегация тромбоцитов также находилась на уровне контроля – ОТП 80%. Адгезия тромбоцитов к его поверхности также была статистически значимо ниже относительно других тестируемых матриксов. ПУ продемонстрировал выигрышные матриксные свойства, несмотря на синтетическую природу.

Заключение

Полиуретан следует считать перспективным материалом для тканевой инженерии в разрезе создания изделий для нужд сердечно-сосудистой хирургии.

Конфликт интересов

Е.А. Сенокосова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.С. Прокудина заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Г. Матвеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Великанова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Глушкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.А. Кошелев заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Н. Акентьева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.С. Барбараш является главным редактором журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Результаты получены при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий от 30 сентября 2022 г. № 075-15-2022-1202, комплексной науч-

но-технической программы полного инновационного цикла «Разработка и внедрение комплекса технологий в областях разведки и добычи твердых полезных ископаемых, обеспечения промышленной безопасности, биоремедиации, создания новых продуктов глубокой переработки из угольного

сырья при последовательном снижении экологической нагрузки на окружающую среду и рисков для жизни населения» (утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 11 мая 2022 г. № 1144-р).

Информация об авторах

Сенокосова Евгения Андреевна, кандидат биологических наук научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9430-937X

Прокудина Екатерина Сергеевна, кандидат медицинских наук научный сотрудник лаборатории тканевой инженерии и внутрисосудистой визуализации федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1991-6516

Матвеева Вера Геннадьевна, кандидат медицинских наук старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

Великанова Елена Анатольевна, кандидат биологических наук научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1079-1956

Глушкова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Коселев Владислав Александрович, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6840-1116

Акентьева Татьяна Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Антонова Лариса Валерьевна, доктор медицинских наук заведующая лабораторией клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Author Information Form

Senokosova Evgenia A., PhD, Researcher at the Laboratory of Cellular Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9430-937X

Prokudina Ekaterina S., PhD, Researcher at the Laboratory of Tissue Engineering and Intravascular Imaging, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1991-6516

Matveeva Vera G., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Cellular Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

Velikanova Elena A., PhD, Researcher at the Laboratory of Cellular Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1079-1956

Glushkova Tatyana V., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Koshelev Vladislav A., Junior Researcher at the Laboratory of Molecular, Translational and Digital Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6840-1116

Akentyeva Tatyana N., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Antonova Larisa V., PhD, Head of the Laboratory of Cellular Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Барбараш Леонид Семенович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор главный научный сотрудник федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6981-9661

Barbarash Leonid S., Academician of the Russian Academy of Sciences, PhD, Professor, Chief Researcher of the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6981-9661

Вклад авторов в статью

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

PES – получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

MBG – получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

BEA – получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ГТВ – получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

KBA – получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ATN – получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ALB – вклад в дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

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

Author Contribution Statement

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

PES – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MVG – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

VEA – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

GTV – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KVA – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

ATN – data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

ALV – contribution to the design of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Pashneh-Tala S., MacNeil S., Claeysens F. The Tissue-Engineered Vascular Graft-Past, Present, and Future. *Tissue Eng Part B Rev.* 2016; 22(1): 68–100. doi:10.1089/ten.teb.2015.0100.
- Benjamin E.J., Muntner P., Alonso A., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P., et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2019; 139(10): 56–528. doi:10.1161/CIR.0000000000000659.
- Virani S.S., Alonso A., Benjamin E.J., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P., et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2020; 141(9): 139–596. doi:10.1161/CIR.0000000000000757.
- Roth G.A., Mensah G.A., Johnson C.O., Addolorato G., Ammirati E., Baddour L.M., et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases Writing Group. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol.* 2020; 76(25):2982–3021. doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010.
- Taggart D.P. Current status of arterial grafts for coronary artery bypass grafting. *Ann. Cardiothorac Surg.* 2013; 2(4):427–430. doi:10.3978/j.issn.2225-319X.2013.07.21.
- Elliott M.B., Ginn B., Fukunishi T., Bedja D., Suresh A., Chen T., Inoue T., Dietz H.C., Santhanam L., Mao H.Q., Hibino N., Gerecht S. Regenerative and durable small-diameter graft as an arterial conduit. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019; 116(26):12710–12719. doi:10.1073/pnas.1905966116.
- Kimicata M., Swamykumar P., Fisher J.P. Extracellular Matrix for Small-Diameter Vascular Grafts. *Tissue Eng Part A.* 2020; 26(23-24):1388–1401. doi:10.1089/ten.TEA.2020.0201.
- Matsushita H., Inoue T., Abdollahi S., Yeung E., Ong C.S., Lui C., Pitaktong I., Nelson K., Johnson J., Hibino N. Corrugated nanofiber tissue-engineered vascular graft to prevent kinking for arteriovenous shunts in an ovine model. *JVS Vasc Sci.* 2020; 1:100–108. doi:10.1016/j.jvs.2020.03.003.
- Matsuzaki Y., Ulziibayar A., Shoji T., Shinoka T. Heparin-Eluting Tissue-Engineered Bioabsorbable Vascular Grafts. *Applied Sciences.* 2021; 11(10): 4563. doi:10.3390/app11104563
- Ren X., Feng Y., Guo J., Wang H., Li Q., Yang J., Hao X., Lv J., Ma N., Li W. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chem. Soc. Rev.* 2015; 44(15): 5680–5742. doi:10.1039/c4cs00483c.
- Wissing T.B., Bonito V., Bouten C.V.C., Smits A.I.P.M. Biomaterial-driven in situ cardiovascular tissue engineering—a multi-disciplinary perspective. *NPJ Regen Med.* 2017; 2:18. doi:10.1038/s41536-017-0023-2.
- Shoji T., Shinoka T. Tissue engineered vascular grafts for pediatric cardiac surgery. *Translational Pediatrics.* 7(2):188–195. doi:10.21037/tp.2018.02.01.
- Song H.G., Rumma R.T., Ozaki C.K., Edelman E.R., Chen C.S. *Vascular Tissue Engineering: Progress, Challenges,*

and Clinical Promise. *Cell Stem Cell*. 2018; 22(3): 340–354. doi:10.1016/j.stem.2018.02.009.

14. Malik S., Sundarajan S., Hussain T., Nazir A., Ramakrishna S. Fabrication of Highly Oriented Cylindrical Polyacrylonitrile, Poly(lactide-co-glycolide), Polycaprolactone and Poly(vinyl acetate) Nanofibers for Vascular Graft Applications. *Polymers*. 2021; 13(13): 2075. doi:10.3390/polym13132075.

15. Drews J.D., Pepper V.K., Best C.A., Szafron J.M., Cheatham J.P., Yates A.R., et al. Spontaneous reversal of stenosis in tissue-engineered vascular grafts. *Sci Transl Med*. 2020; 12(537):eaax6919. doi:10.1126/scitranslmed.aax6919.

16. Cui H., Zhu W., Huang Y., Liu C., Yu Z.X., Nowicki M., Miao S., Cheng Y., Zhou X., Lee S.J., Zhou Y., Wang S., Mohiuddin M., Horvath K., Zhang L.G. In Vitro and in vivo evaluation of 3D bioprinted small-diameter vasculature with smooth muscle and endothelium. *Biofabrication*. 2019; 12(1):015004. doi:10.1088/1758-5090/ab402c.

17. Radke D., Jia W., Sharma D., Fena K., Wang G., Goldman J., Zhao F. Tissue Engineering at the Blood-Contacting Surface: A Review of Challenges and Strategies in Vascular Graft Development. *Adv Healthc Mater*. 2018; 7(15):e1701461. doi:10.1002/adhm.201701461.

18. Matsuzaki Y., Miyamoto S., Miyachi H., Iwaki R., Shoji T., Blum K., Chang Y.C., Kelly J., Reinhardt J.W., Nakayama H., Breuer C.K., Shinoka T. Improvement of a Novel Small-diameter Tissue-engineered Arterial Graft With Heparin Conjugation. *Ann Thorac Surg*. 2021; 111(4):1234–1241. doi:10.1016/j.athoracsur.2020.06.112.

19. Wang C., Li Z., Zhang L., Sun W., Zhou J. Long-term results of triple-layered small diameter vascular grafts in sheep carotid arteries. *Med Eng Phys*. 2020; 85:1-6. doi:10.1016/j.medengphy.2020.09.007.

20. Кривкина Е.О., Антонова Л.В. Результаты долгосрочной проходимости биодеградируемых сосудистых протезов малого диаметра с атромбогенным лекарственным покрытием на модели овцы. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(2):36-39. doi:10.17802/2306-1278-2021-10-2S-36-39.

21. Kucinska-Lipka J., Gubanska I., Janik H., Sienkiewicz M. Fabrication of polyurethane and polyurethane based composite fibres by the electrospinning technique for soft tissue engineering of cardiovascular system. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015;46:166-76. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.027.

22. Tatoi L., Moore T.G., Adhikari R., Malherbe F., Jayasekara R., Griffiths I., Gunatillake P.A. Thermoplastic biodegradable polyurethanes: the effect of chain extender structure on properties and in-vitro degradation. *Biomaterials*. 2007; 28 (36): 5407–5417. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.08.035.

23. Hergenrother R.W., Wabers H. D., Cooper S. L. Effect of hard segment chemistry and strain on the stability of polyurethanes:

in vivo biostability. *Biomaterials*. 1993;14(6):449-58. doi: 10.1016/0142-9612(93)90148-u.

24. LaPorte R. J. *Hydrophilic polymer coatings for medical devices*. Routledge. Florida:CRC Press LLC; 2017. doi:10.1201/9780203751381.

25. Kheradvar A., Groves E.M., Dasi L.P., Alavi S.H., Tranquillo R., Grande-Allen K.J., Simmons C.A., Griffith B., Falahatpisheh A., Goergen C.J., Mofrad M.R., Baaijens F., Little S.H., Canic S. Emerging trends in heart valve engineering: part I. Solutions for future. *Annals of biomedical engineering*. 2015; 43(4): 833–843. doi: 10.1007/s10439-014-1209-z.

26. Bergmeister H., Grasl C., Walter I., Plasenzotti R., Stoiber M., Schreiber C., Losert U., Weigel G., Schima H. Electrospun small-diameter polyurethane vascular grafts: ingrowth and differentiation of vascular-specific host cells. *Artificial organs*. 2012; 36(1): 54-61. doi: 10.1111/j.1525-1594.2011.01297.x.

27. Grasl C., Bergmeister H., Stoiber M., Schima H., Weigel G. Electrospun polyurethane vascular grafts: in vitro mechanical behavior and endothelial adhesion molecule expression. *J Biomed Mater Res A*. 2010;93(2):716-23. doi: 10.1002/jbm.a.32584.

28. Bergmeister H., Schreiber C., Grasl C., Walter I., Plasenzotti R., Stoiber M., Bernhard D., Schima H. Healing characteristics of electrospun polyurethane grafts with various porosities. *Acta biomaterialia*. 2013; 9 (4):6032–6040. doi: 10.1016/j.actbio.2012.12.009.

29. Антонова Л.В., Кривкина Е.О., Ханова М.Ю., Великанова Е.А., Матвеева В.Г., Миронов А.В., Шабаев А.Р., Сенокосова Е.А., Глушкова Т.В., Синицкий М.Ю., Мухамадияров Р.А., Барбараш Л.С. Результаты преclinical испытаний биодеградируемых сосудистых протезов малого диаметра на модели овцы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022;24(3):80-93. doi:10.15825/1995-1191-2022-3-80-93

30. Antonova L.V., Mironov A.V., Yuzhalin A.E., Krivkina E.O., Shabaev A.R., Rezvova M.A., Tkachenko V.O., Khanova M.Yu., Sergeeva T.Yu., Krutitskiy S.S., Barbarash L.S. A Brief Report on an Implantation of Small-Caliber Biodegradable Vascular Grafts in a Carotid Artery of the Sheep. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020; 21;13(5):101. doi:10.3390/ph13050101.

31. Антонова Л.В., Кривкина Е.О., Резвова М.А., Севостьянова В.В., Миронов А.В., Глушкова Т.В., Клышников К.Ю., Овчаренко Е.А., Кудрявцева Ю.А., Барбараш Л.С. Биодеградируемый сосудистый протез с армирующим внешним каркасом. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2019;8(2):87-97. doi:10.17802/2306-1278-2019-8-2-87-97.

32. Matsushita H., Hayashi H., Nurminsky K., Dunn T., He Y., Pitaktong I., Koda Y., Xu S., Nguyen V., Inoue T., Rodgers D., Nelson K., Johnson J., Hibino N. Novel reinforcement of corrugated nanofiber tissue-engineered vascular graft to prevent aneurysm formation for arteriovenous shunts in an ovine model. *JVS Vasc Sci*. 2022; 22;3:182-191. doi:10.1016/j.jvssci.2022.01.002.

REFERENCES

1. Pashneh-Tala S., MacNeil S., Claeysens F. The Tissue-Engineered Vascular Graft-Past, Present, and Future. *Tissue Eng Part B Rev*. 2016; 22(1): 68–100. doi:10.1089/ten.teb.2015.0100.

2. Benjamin E.J., Muntner P., Alonso A., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P., et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2019; 139(10): 56–528. doi:10.1161/CIR.0000000000000659.

3. Virani S.S., Alonso A., Benjamin E.J., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P., et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2020; 141(9): 139–596. doi:10.1161/CIR.0000000000000757.

4. Roth G.A., Mensah G.A., Johnson C.O., Addolorato G., Ammirati E., Baddour L.M., et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases Writing Group. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update From the GBD 2019 Study.

J Am Coll Cardiol. 2020; 76(25):2982–3021. doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010.

5. Taggart D.P. Current status of arterial grafts for coronary artery bypass grafting. *Ann. Cardiothorac Surg*. 2013; 2(4):427–430. doi:10.3978/j.issn.2225-319X.2013.07.21.

6. Elliott M.B., Ginn B., Fukunishi T., Bedja D., Suresh A., Chen T., Inoue T., Dietz H.C., Santhanam L., Mao H.Q., Hibino N., Gerecht S. Regenerative and durable small-diameter graft as an arterial conduit. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019; 116(26):12710-12719. doi:10.1073/pnas.1905966116.

7. Kimicata M., Swamykumar P., Fisher J.P. Extracellular Matrix for Small-Diameter Vascular Grafts. *Tissue Eng Part A*. 2020; 26(23-24):1388–1401. doi:10.1089/ten.TEA.2020.0201.

8. Matsushita H., Inoue T., Abdollahi S., Yeung E., Ong C.S., Lui C., Pitaktong I., Nelson K., Johnson J., Hibino N. Corrugated nanofiber tissue-engineered vascular graft to prevent kinking for arteriovenous shunts in an ovine model. *JVS Vasc Sci*. 2020; 1:100–108. doi:10.1016/j.jvssci.2020.03.003.

9. Matsuzaki Y., Ulziibayar A., Shoji T., Shinoka T. Heparin-Eluting Tissue-Engineered Bioabsorbable Vascular Grafts. *Applied Sciences*. 2021; 11(10): 4563. doi:10.3390/app11104563

10. Ren X., Feng Y., Guo J., Wang H., Li Q., Yang J., Hao X., Lv J., Ma N., Li W. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chem. Soc. Rev.* 2015; 44(15): 5680–5742. doi:10.1039/c4cs00483c.
11. Wissing T.B., Bonito V., Bouten C.V.C., Smits A.I.P.M. Biomaterial-driven in situ cardiovascular tissue engineering—a multi-disciplinary perspective. *NPJ Regen Med.* 2017; 2:18. doi:10.1038/s41536-017-0023-2.
12. Shoji T., Shinoka T. Tissue engineered vascular grafts for pediatric cardiac surgery. *Translational Pediatrics.* 7(2):188–195. doi:10.21037/tp.2018.02.01.
13. Song H.G., Rumma R.T., Ozaki C.K., Edelman E.R., Chen C.S. Vascular Tissue Engineering: Progress, Challenges, and Clinical Promise. *Cell Stem Cell.* 2018; 22(3): 340–354. doi:10.1016/j.stem.2018.02.009.
14. Malik S., Sundarajan S., Hussain T., Nazir A., Ramakrishna S. Fabrication of Highly Oriented Cylindrical Polyacrylonitrile, Poly(lactide-co-glycolide), Polycaprolactone and Poly(vinyl acetate) Nanofibers for Vascular Graft Applications. *Polymers.* 2021; 13(13): 2075. doi:10.3390/polym13132075.
15. Drews J.D., Pepper V.K., Best C.A., Szafron J.M., Cheatham J.P., Yates A.R., et al. Spontaneous reversal of stenosis in tissue-engineered vascular grafts. *Sci Transl Med.* 2020; 12(537):eaax6919. doi:10.1126/scitranslmed.aax6919.
16. Cui H., Zhu W., Huang Y., Liu C., Yu Z.X., Nowicki M., Miao S., Cheng Y., Zhou X., Lee S.J., Zhou Y., Wang S., Mohiuddin M., Horvath K., Zhang L.G. In Vitro and in vivo evaluation of 3D bioprinted small-diameter vasculature with smooth muscle and endothelium. *Biofabrication.* 2019; 12(1):015004. doi:10.1088/1758-5090/ab402c.
17. Radke D., Jia W., Sharma D., Fena K., Wang G., Goldman J., Zhao F. Tissue Engineering at the Blood-Contacting Surface: A Review of Challenges and Strategies in Vascular Graft Development. *Adv Healthc Mater.* 2018; 7(15):e1701461. doi:10.1002/adhm.201701461.
18. Matsuzaki Y., Miyamoto S., Miyachi H., Iwaki R., Shoji T., Blum K., Chang Y.C., Kelly J., Reinhardt J.W., Nakayama H., Breuer C.K., Shinoka T. Improvement of a Novel Small-diameter Tissue-engineered Arterial Graft With Heparin Conjugation. *Ann Thorac Surg.* 2021; 111(4):1234–1241. doi:10.1016/j.athoracsur.2020.06.112.
19. Wang C., Li Z., Zhang L., Sun W., Zhou J. Long-term results of triple-layered small diameter vascular grafts in sheep carotid arteries. *Med Eng Phys.* 2020; 85:1-6. doi:10.1016/j.medengphy.2020.09.007.
20. Krivkina E.O., Antonova L.V. Results of long-term patency of small-diameter biodegradable vascular prostheses with atombogenic drug coating of sheep model. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021;10(2):36-39. doi:10.17802/2306-1278-2021-10-2S-36-39. (In Russian)
21. Kucinska-Lipka J., Gubanska I., Janik H., Sienkiewicz M. Fabrication of polyurethane and polyurethane based composite fibres by the electrospinning technique for soft tissue engineering of cardiovascular system. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015;46:166-76. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.027.
22. Tatai L., Moore T.G., Adhikari R., Malherbe F., Jayasekara R., Griffiths I., Gunatillake P.A. Thermoplastic biodegradable polyurethanes: the effect of chain extender structure on properties and in-vitro degradation. *Biomaterials.* 2007; 28 (36): 5407–5417. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.08.035.
23. Hergenrother R.W., Wabers H. D., Cooper S. L. Effect of hard segment chemistry and strain on the stability of polyurethanes: in vivo biostability. *Biomaterials.* 1993;14(6):449-58. doi: 10.1016/0142-9612(93)90148-u.
24. LaPorte R. J. Hydrophilic polymer coatings for medical devices. Routledge. Florida:CRC Press LLC; 2017. doi:10.1201/9780203751381.
25. Kheradvar A., Groves E.M., Dasi L.P., Alavi S.H., Tranquillo R., Grande-Allen K.J., Simmons C.A., Griffith B., Falahatpisheh A., Goergen C.J., Mofrad M.R., Baaijens F., Little S.H., Canic S. Emerging trends in heart valve engineering: part I. Solutions for future. *Annals of biomedical engineering.* 2015; 43(4): 833–843. doi: 10.1007/s10439-014-1209-z.
26. Bergmeister H., Grasl C., Walter I., Plasenzotti R., Stoiber M., Schreiber C., Losert U., Weigel G., Schima H. Electrospun small-diameter polyurethane vascular grafts: ingrowth and differentiation of vascular-specific host cells. *Artificial organs.* 2012; 36(1): 54-61. doi: 10.1111/j.1525-1594.2011.01297.x.
27. Grasl C., Bergmeister H., Stoiber M., Schima H., Weigel G. Electrospun polyurethane vascular grafts: in vitro mechanical behavior and endothelial adhesion molecule expression. *J Biomed Mater Res A.* 2010;93(2):716-23. doi: 10.1002/jbm.a.32584.
28. Bergmeister H., Schreiber C., Grasl C., Walter I., Plasenzotti R., Stoiber M., Bernhard D., Schima H. Healing characteristics of electrospun polyurethane grafts with various porosities. *Acta biomaterialia.* 2013; 9 (4):6032–6040. doi: 10.1016/j.actbio.2012.12.009.
29. Antonova L.V., Krivkina E.O., Khanova M.Yu., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Mironov A.V., Shabaev A.R., Senokosova E.A., Glushkova T.V., Sinitsky M.Yu., Mukhamdiyarov R.A., Barbarash L.S. Results of preclinical trials in a sheep model of biodegradable small-diameter vascular graft. *Russian journal of transplantology and artificial organs.* 2022; 24(3):67–77. doi:10.15825/1995-1191-2022-3-80-93. (in Russian)
30. Antonova L.V., Mironov A.V., Yuzhalin A.E., Krivkina E.O., Shabaev A.R., Rezvova M.A., Tkachenko V.O., Khanova M.Yu., Sergeeva T.Yu., Krutitskiy S.S., Barbarash L.S. A Brief Report on an Implantation of Small-Caliber Biodegradable Vascular Grafts in a Carotid Artery of the Sheep. *Pharmaceuticals (Basel).* 2020; 21;13(5):101. doi:10.3390/ph13050101.
31. Antonova L.V., Krivkina E.O., Rezvova M.A., Sevost'yanova V.V., Mironov A.V., Glushkova T.V., Klyshnikov K.Yu., Ovcharenko E.A., Kudryavceva Yu.A., Barbarash L.S. Biodegradable vascular graft reinforced with a biodegradable sheath. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2019;8(2):87-97. doi:10.17802/2306-1278-2019-8-2-87-97. (In Russian)
32. Matsushita H., Hayashi H., Nurminsky K., Dunn T., He Y., Pitaktong I., Koda Y., Xu S., Nguyen V., Inoue T., Rodgers D., Nelson K., Johnson J., Hibino N. Novel reinforcement of corrugated nanofiber tissue-engineered vascular graft to prevent aneurysm formation for arteriovenous shunts in an ovine model. *JVS Vasc Sci.* 2022; 22;3:182-191. doi:10.1016/j.jvssci.2022.01.002.

Для цитирования: Сенокосова Е.А., Прокудина Е.С., Матвеева В.Г., Великанова Е.А., Глушкова Т.В., Кошелев В.А., Акентьева Т.Н., Антонова Л.В., Барбараш Л.С. Тканевый матрикс на основе полиуретана: исследование *in vitro*. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2023;12(4S): 120-130. DOI: 10.17802/2306-1278-2023-12-4S-120-130

To cite: Senokosova E.A., Prokudina E.S., Matveeva V.G., Velikanova E.A., Glushkova T.V., Koshelev V.A., Akentyeva T.N., Antonova L.V., Barbarash L.S. Tissue engineering matrix based on polyurethane: in vitro research. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2023;12(4S): 120-130. DOI: 10.17802/2306-1278-2023-12-4S-120-130