

УДК 616.13-77:577.11

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-150-158

ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЙ МАТРИКС НА ОСНОВЕ ФИБРОИНА ШЕЛКА
ДЛЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Е.А. Сенокосова, В.Г. Матвеева, Е.С. Прокудина, М.Ю. Ханова, Е.О. Кривкина,
А.В. Миронов, П.С. Онищенко, Р.А. Мухамадияров, Л.В. Антонова

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

Основные положения	
Оработан метод получения пористого нетканого материала на основе фиброина шелка. Изучены его структурные и физико-механические свойства. Установлено, что полученный материал по своим характеристикам схож с нативной артерией и поэтому имеет высокий потенциал в сосудистой тканевой инженерии.	
Актуальность	Природный полимер фиброин шелка (ФШ), получаемый из коконов тутового шелкопряда, является перспективным биоматериалом. Возможность подбора методов тканевой инженерии позволяет получать 3D-каркасы на основе ФШ для изделий сердечно-сосудистого профиля.
Цель	Изготовить пористый матрикс на основе регенерированного ФШ и исследовать его структурные и физико-механические характеристики.
Материалы и методы	Шелк рафинировали в щелочном растворе с дальнейшим растворением в LiBr, диализом и лиофильной сушкой до получения губок. Матрикс на основе 15, 18 и 20% ФШ в гексафторизопропанолe изготавливали методом электроспиннинга. Формирование водонерастворимой структуры β-листа ФШ осуществляли инкубацией в этаноле, метаноле или изопропанолe. Изучали структуру поверхности и среза матриксов методом сканирующей электронной микроскопии. Оценили физико-механические характеристики на универсальной разрывной машине.
Результаты	Оптимальным для изготовления матриксов из 15% раствора ФШ явился следующий режим электроспиннинга: напряжение 20 кВ, скорость подачи раствора 1,0 мл/ч, скорость вращения коллектора 200 об/мин, игла 22 G, расстояние до коллектора 15 см, влажность 65%, температура в помещении 23 °С. Полученный матрикс состоял из волокон уплощенной формы шириной 4,84 (4,20; 5,47) мкм с малым количеством неглубоких пор диаметром 8, 65 (5,01; 11,13) мкм. В толще стенки матрикс содержал волокна диаметром 11,70 (10,04; 13,90) мкм, которые при своем переплетении формировали поры диаметром 4,89 (4,46; 6,05) мкм. Инкубация образцов в 70% этаноле позволила сформировать водорастворимую форму ФШ-матрикса, по физико-механическим свойствам максимально приближенного к аналогичным свойствам сонной артерии овцы.
Заключение	Разработан пористый 3D-матрикс на основе 15% ФШ с удовлетворительными структурными и физико-механическими характеристиками, схожими с параметрами нативных сосудов. Необходимо расширение исследований <i>in vitro</i> для детального изучения характеристик изготовленного материала и дальнейшего тестирования на моделях <i>in vivo</i> .
Ключевые слова	Фиброин шёлка • Тканеинженерный матрикс • Электроспиннинг

Поступила в редакцию: 23.10.2024; поступила после доработки: 10.11.2024; принята к печати: 15.12.2024

TISSUE ENGINEERED MATRIX BASED ON SILK FIBROIN FOR CARDIOVASCULAR SURGERY

E.A. Senokosova, V.G. Matveeva, E.S. Prokudina, M.Yu. Khanova, E.O. Krivkina,
A.V. Mironov, P.S. Onischenko, R.A. Mukhamadiyarov, L.V. Antonova

Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6,
academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Highlights

• The article reports on the progress in the development of a method for producing porous nonwoven material based on silk fibroin, and the following study of its structural, physical, and mechanical properties. The findings indicate that the obtained material is similar in its characteristics to the native artery thus proving that silk fibroin has a high potential in vascular tissue engineering.

Background	Natural polymer – silk fibroin, obtained from silkworm cocoons, is a promising biomaterial. Tissue engineering has allowed us to obtain 3D-scaffolds based on silk fibroin for cardiovascular surgery.
Aim	To make a porous matrix based on regenerated silk fibroin (SF) and to study its characteristics <i>in vitro</i> .
Methods	Silk was refined in an alkaline solution with further dissolution in LiBr, dialysis and freeze drying to obtain sponges. Matrices based on 15%, 18% and 20% SF in hexafluoroisopropanol were manufactured by electrospinning. By incubation in ethanol, methanol or isopropanol the β -sheet of SF was made water-insoluble. The structure of the matrix surface and the cross-section were studied by scanning electron microscopy. Physical and mechanical characteristics were evaluated using a universal bursting strength tester.
Results	The optimal electrospinning parameters for 15% solution were as follows: needle 22 G; tip to collector 15 cm; voltage 20 kV; solution feed rate 1.0 mL/h; rotational speed of 200 rpm; humidity 65% and room temperature 23 °C. The obtained matrix had "flat fibers" with a width of 4.84 (4.20; 5.47) microns and a small number of shallow pores with a diameter of 8.65 (5.01; 11.13) microns. The walls of the matrix consisted of fibers with a diameter of 11.70 (10.04; 13.90) microns with a large number of pores with a diameter of 4.89 (4.46; 6.05) microns. Incubation of samples in 70% ethanol allowed us to form a non-water-soluble form of the SF matrix that has physical and mechanical characteristics comparable to sheep carotid arteries.
Conclusion	We have developed a porous 3D matrix based on 15% silk fibroin with satisfactory structural, physical and mechanical characteristics. It is necessary to further conduct <i>in vitro</i> studies to fully understand the characteristics of the manufactured material for further testing on <i>in vivo</i> models.
Keywords	Silk fibroin • Tissue-engineered matrix • Electrospinning

Received: 23.10.2024; received in revised form: 10.11.2024; accepted: 15.12.2024

Список сокращений

ФШ – фиброин шелка

Введение

Фиброин шелка (ФШ) представляет собой фибриллярный белок, производимый некоторыми насекомыми и паукообразными. Наиболее доступное сырье для выделения ФШ – коконы тутового шелкопряда (*Bombyx mori*). ФШ является перспективным природным материалом с регулируемыми фи-

зико-механическими характеристиками и сроком биоразложения [1, 2]. Использование ФШ в качестве биоматериала в тканевой инженерии началось с середины 1990-х гг. [3]. ФШ обладает рядом преимуществ в сравнении с другими биоматериалами на основе белка, полученными из тканей алло- или ксеногенного происхождения, которые имеют вы-

сокий риск заражения и требуют дорогостоящей обработки [4]. Очистка шелкового волокна зачастую проводится с помощью несложного процесса рафинирования на основе раствора щелочи или ферментативной обработки и позволяет получить исходный материал для биоматериалов, не содержащих иммуногенного серицина и клеточных элементов [5, 6]. Еще одним преимуществом ФШ является экономическая эффективность в силу развитой инфраструктуры переработки в текстильной промышленности, в том числе при производстве шелка [7].

Фиброин шелка *B. mori* состоит из тяжелой Н-цепи (325–390 кДа) и легкой L-цепи (~25 кДа), соединенных дисульфидной связью на С-конце, а также гликопротеина Р 25 (~25 кДа) [8]. Гидрофобные Н-цепи содержат последовательность (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser)_n, которая образует антипараллельные β-листы (нанокристаллы) и придает прочность. Гидрофильные L-цепи отвечают за эластичность. Н- и L-цепи связаны дисульфидной связью. Также входящий в состав белок Р 25 играет значительную роль в поддержании целостности молекулярного комплекса. Н-цепь, L-цепь и Р 25 находятся в соотношении 6:6:1 [9].

Первичная и в особенности вторичная структура и иерархическая организация ФШ определяют многие свойства получаемого на его основе биоматериала. В PubMed с 2007 г. отмечен неуклонный рост публикаций, посвященных ФШ-материалам для создания новых медицинских изделий [10]. Разнообразные подходы к изготовлению ФШ-материалов, такие как электроспиннинг и биопринтинг, позволяют получать пористые 3D-конструкции, подходящие для конструирования протезов сосудов, требующих высокой прочности, биосовместимости, биодоступности и гемосовместимости [11–14]. Однако высокая вариативность как способа изготовления ФШ-матрицы, так и дальнейшей физико-химической обработки увеличивает сложность работы с ФШ, связанную с контролем качества и необходимых свойств для решения поставленных перед материалом задач.

В настоящем исследовании сообщается о поэтапном выборе методов работы с ФШ для получения кандидатного материала, подходящего для изготовления изделий сердечно-сосудистого профиля.

Цель исследования – изготовить пористый матрикс на основе регенерированного фиброина шел-

ка и исследовать его структурные и физико-механические характеристики.

Материалы и методы

Выделение фиброина шелка

Фиброин шелка выделяли из коконов тутового шелкопряда (*B. mori*). Кокончики очищали и разрезали на кусочки не более 1 см в любом направлении. После кипятили в 0,02М Na₂CO₃ (ООО «Михайловский завод химических реактивов», Барнаул, Россия) в течение 30 мин дважды с тщательной промывкой dH₂O после кипячений. Далее волокна ФШ высушивали при комнатной температуре не менее 12 ч. На следующем этапе ФШ растворяли в 9,3 М LiBr (ООО «Завод редких металлов», Россия) при 60 °С и проводили диализ MwCO 3500 D (BS-QT-022, Biosharp, Китай) против dH₂O 2 сут. Водный ФШ центрифугировали при 12 700 g 4 °С 20 мин дважды на ультрацентрифуге Microfuge 20R (Beckman Coulter, США). После раствор разливали в формы, замораживали при –60 °С и лиофилизировали (FreeZone Benchtop Freeze Dryer, США). Концентрацию раствора ФШ высчитали по следующей формуле в 8 повторах:

$C = 100 \times M / V$, где

C – концентрация фиброина шелка (%), масса/объем); M – сухая масса фиброина шелка (г);

V – объем фиброина шелка до лиофилизации (мл).

Электроспиннинг

Растворы для электроспиннинга 15, 18 и 20% (w/v) готовили на 1,1,1,3,3,3-гексафлуоро-2-пропанол (Sigma-Aldrich, США) и муравьиной кислоте (АО «База №1 Химреактивов», Россия). Комбинации режимов электроспиннинга складывались из параметров, представленных в таблице.

Изготовленные матрицы подвергали инкубации в следующих спиртах: этаноле (ОАО «Кемеровская фармацевтическая фабрика», Россия), изопропанол или метаноле (АО «Вектон», Россия) в смесях с водой 50/50, 90/10 и в заводских концентрациях 70% для этанола и 98% для всех спиртов.

Сканирующая электронная микроскопия

Оценку структуры поверхности матриц проводили на сканирующем электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 10 кВ. Перед исследованием образцы матриц размером 0,5 ×

Режимы электроспиннинга
Electrospinning modes

Размер иглы / Needle Size	Расстояние до коллектора, см / Distance to the collector, cm	Напряжение, кВ / Voltage, kV	Скорость подачи раствора, мл/ч / The rate of solution supply, mL/h	Скорость вращения коллектора, об/мин / Collector rotation speed, rpm	Время отчистки иглы, сек. / Needle cleaning time, seconds
18G; 22G	10; 15	20; 23; 25	0,5; 1; 2; 3; 4	200	30

0,5 см подвергали золото-палладиевому напылению с получением покрытия толщиной 15 нм с использованием системы для напыления EM ACE200 (Leica Microsystems GmbH, Германия).

Физико-механические испытания

Оценку физико-механических свойств матриц 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. Вырубка образцов осуществлялась в продольном и поперечном направлениях. Оценивали прочность материала по максимальному напряжению при растяжении образцов (МПа) и силе, приложенной к образцу до начала его разрушения ($F_{\max}$, Н), упруго-деформативным свойствам по относительному удлинению (%) и модулю Юнга (МПа). Группой сравнения выступила грудная артерия человека (*A. mammaria interna*).

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов и построение графиков выполняли в программе Prism 7. Данные представлены в виде медианы и квартильного размаха

(Me (Q1; Q3)) или $M \pm SD$. Нормальность распределения в выборках оценивали по критерию Шапиро – Уилка. Статистически значимые различия между двумя независимыми группами анализировали с помощью U-критерия Манна – Уитни. Сравнение между несколькими группами проведено критерием Краскела – Уоллиса с коррекцией результатов с учетом множественности сравнения

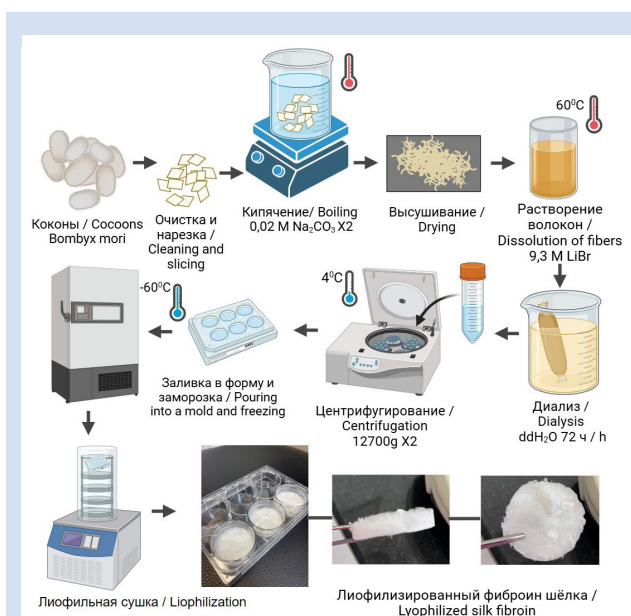


Рисунок 1. Схема выделения фиброина шелка из коконов тутового шелкопряда

Figure 1. The scheme of silk fibroin extraction from *Bombyx mori* cocoons

критерием Данна. Статистически значимыми различия принимали при $p < 0,05$ во всех тестах. Схема выделения ФШ создана на сайте BioRender.com.

Результаты

Нами проведена работа по адаптации протокола выделения ФШ, представленного L. Yu-Ting с соавт. [15]. Краткая схема выделения ФШ приведена на рис. 1.

Конечным продуктом данного вида выделения явились лиофилизированные ФШ-губки. Концентрация полученного нами водного раствора ФШ составила $6,07 \pm 0,56\%$, что согласуется с данными L. Yu-Ting с соавт. [15].

Для приготовления растворов для электроспиннинга использовали активно применяемый гексафлюороизопропанол [16–18]. Изготовление матриц методом электроспиннинга начинали с растворов ФШ с увеличенной вязкостью 20% (w/v) с последующим понижением концентрации.

Только при двух режимах из раствора 20% ФШ в HFP начинался процесс электроспиннинга: 1) игла 18 G: расстояние до коллектора 15 см, напряжение 20 кВ; скорость подачи раствора 4,0 мл/ч, скорость вращения коллектора 200 об/мин; 2) игла 18 G: расстояние до коллектора 15 см, напряжение 23 кВ, скорость подачи раствора 3,0 мл/ч, скорость вращения коллектора 200 об/мин. Удалось стабилизировать формирование мононити из полимерного раствора, однако уже через 15 сек. раствор застывал на игле. При снижении концентрации раствора ФШ до 18% процесс также не был успешен. Снижение концентрации раствора до 15% позволило создать ФШ-матрикс при следующих параметрах: игла 22 G, расстояние до коллектора 15 см, напряжение 20 кВ, скорость подачи раствора 1,0 мл/ч, скорость вращения коллектора 200 об/мин, влажность 65% и температура помещения 23 °C (рис. 2).

Сканирующая электронная микроскопия проведена со среза и внутренней поверхности всех видов матриц.

На рис. 3 представлены изображения, полученные методом сканирующей электронной микроскопии, разделенные по локациям: внутренняя поверхность и срез. Электроспиннинг 15% раствора ФШ позволил получить матрикс из переплетенных волокон, без капель. Серицин при неудовлетворительном рафинировании оставался на волокнах в виде белых точек (рис. 3). На наших образцах таких



Рисунок 2. Макрофотография матрикса на основе 15% фиброина шелка

Figure 2. Macrophoto of the 15% silk fibroin matrix

включений не обнаружено. Инкубация в различных спиртах не привела к визуальному изменению волокон относительно необработанного ФШ-матрикса, обработанные образцы также не различались.

Внутренняя поверхность отличалась «плоскими» волокнами шириной 4,84 (4,20; 5,47) мкм, тесно переплетенными между собой, с малым количеством неглубоких пор диаметром 8,65 (5,01; 11,13) мкм со спаянными зонами (рис. 4). На срезе же видны объемные волокна диаметром 11,70 (10,04; 13,90) мкм без крупных спаек, большое количество объемных пор диаметром 4,89 (4,46; 6,05) мкм с поперечными спайками с образованием центра до 9,1 мкм и продольными – с образованием утолщения до 11,1 мкм.

Отмечено, что матриксы после обработки спиртами и высушивания деформировались, теряя изначальную мягкость и эластичность, которые, тем не менее, возвращались при вымачивании матриксов в физиологическом растворе или воде. Поэтому мы оценили физико-механические свойства как высушенных, так и невысушенных образцов. Формирующийся при инкубации в спиртах баланс β -листов и аморфных α -витков важен для адекватных физико-механических характеристик, однако помимо вида спирта значимым параметром в данном процессе выступает время инкубации. В данное тестирование вошли 15% ФШ-матриксы, инкубированные в течение 10 или 20 мин в наиболее часто используемых спиртах для формирования β -листов фиброина – метаноле разной концентрации и 70% этаноле.

Высушивание ФШ-образцов, обработанных 50% метанолом, привело к значимому увеличению жесткости ($p < 0,05$) и прочности ($p < 0,05$) материала в сравнении с сонной артерией овцы и невысушенными до тестирования образцами (рис. 5). Стоит отметить, что при погружении ФШ-матрикса в смесь метанола и воды (50/50) было

сложно добиться равномерного и одномоментного смачивания: образец стихийно менял форму, при последующей сушке сильно скручивался, деформировался, после повторного смачивания физиологическим раствором сложно расправлялся, становился стекловидным и более жестким на ощупь. Однако и без высушивания данная обработка наиболее значимо повлияла на физико-механические свойства ФШ-матрикса: статистически значимо (в 4,25 раза) снизилась эластичность в сравнении с артерией ($p < 0,05$).

Использование чистого метанола и дальнейшее высушивание образцов приводило к увеличению жесткости ФШ в сравнении с артерией в 6 раз ($p < 0,05$), снижению эластических в 1,7 раза и прочностных свойств в 1,3 раза ($p < 0,05$).

Не выявлено статистически значимых отличий от параметров сонной артерии овцы при обработке SF-матриксов 90% метанолом и 70% этанолом. Однако наиболее идентичные показатели по каждому исследуемому параметру независимо от экспозиции и состояния (влажный или сухой) продемонстрировали ФШ-матриксы, обработанные 70% этанолом.

Обсуждение

Необходимым условием создания нового биоматериала должен быть тщательный подбор материалов и методов с оценкой успешности на каждом

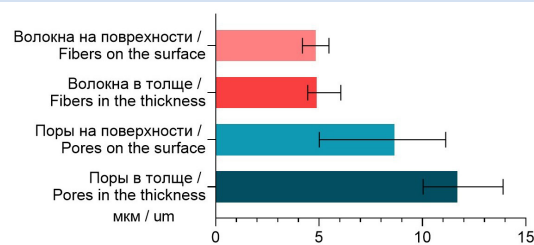


Рисунок 4. Диаметр волокон и пор ФШ-матрикса
Figure 4. Diameter of fibers and pores of the SF-matrix

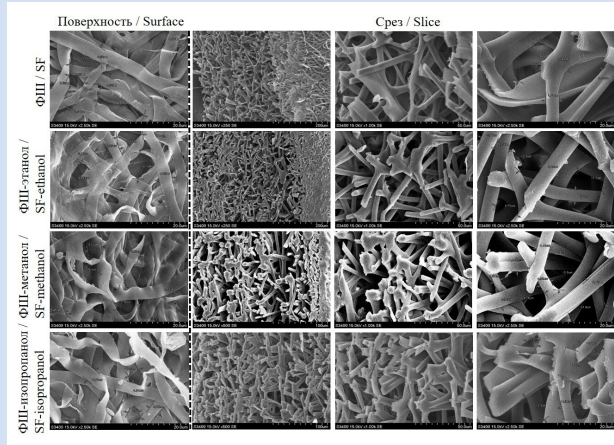


Рисунок 3. Сканирующая электронная микроскопия ФШ-матриксов, инкубированных в 98% спиртах
Figure 3. Scanning electron microscopy of silk fibroin matrices after incubation in 98% alcohols

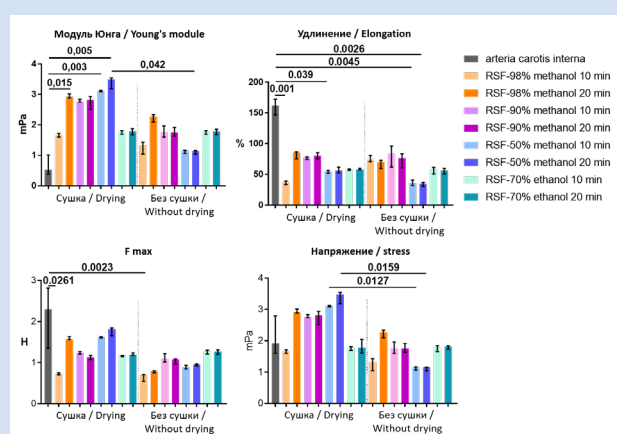


Рисунок 5. Физико-механические характеристики ФШ-матриксов
Figure 5. Physical and mechanical characteristics of SF-matrixes

этапе. Согласно представленным в литературе данным, при разработке ФШ-матрикса необходимо учитывать множество переменных, в частности особенности материалов и методов, модель приборов, а также микроклимат лаборатории с электро-спиннингом. В представленном нами исследовании использованы разные концентрации ФШ, растворители, спирты для формирования нерастворимой формы ФШ, оценены морфология и физико-механические характеристики нетканых матриксов. Адаптация протокола выделения ФШ включала удвоенный этап рафинирования ФШ от серицина. Сообщается, что волокна ФШ повреждаются при нагреве выше 120 °C, температура кипения нашего щелочного раствора не превышала 96 °C [19]. Для приготовления раствора для электроспиннинга был выбран гексафтороизопропанол, так как подобные каркасы обладали более длительным сроком деградации [20]. Подбор режима электроспиннинга позволил получить пористый 3D-матрикс на основе 15% ФШ-раствора, лишенный «бусин», без применения синтетического полимера полиэтиленоксида, часто используемого в качестве компонента, который контролирует диаметр волокон в материале [21, 22]. Определен наиболее предпочтительный способ получения водонерастворимой формы ФШ – инкубация в 70% этаноле, которая в отличие от наиболее активно применяемого метанола значительно не повлияла на физико-механические характеристики материала. Этанол доступнее и безопаснее метанола, возможны одновременная стерилизация образцов и дальнейшая работа как с сухим, так и влажным материалом на основе ФШ [23, 24]. Дальнейшие исследования 15% ФШ с использованием гексафтороизопропанола будут в частности направлены на изучение матриксных свойств, гемосовместимости и белковой адсорбции.

Информация об авторах

Сенокосова Евгения Андреевна, кандидат биологических 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** 0000-0002-9430-937X

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

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

Заключение

Фиброин шелка обладает уникальными свойствами, которые делают его перспективным биоматериалом для создания изделий сердечно-сосудистого профиля. Доказана возможность получения пористого 3D-матрикса с удовлетворительными структурными и физико-механическими характеристиками.

Конфликт интересов

Е.А. Сенокосова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Г. Матвеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.С. Прокудина заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Ю. Ханова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.О. Кривкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Миронов заявляет об отсутствии конфликта интересов. П.С. Онищенко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Р.А. Мухамадияров заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность

Коллектив авторов выражает благодарность Леониду Семеновичу Барбарашу за поддержку и наставничество в ходе проведения исследования.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках гранта Фонда поддержки молодых ученых в области биомедицинских наук № 2022_3 «Разработка тканеинженерного сосудистого протеза малого диаметра с усиленным внешним слоем, проангиогенными факторами, атромбогенным лекарственным покрытием и оценка его эффективности на модели овцы».

Author Information Form

Senokosova Evgenia A., PhD, Researcher at the Laboratory of Cell 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

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

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

Ханова Марьям Юрисовна, 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** 0000-0002-8826-9244

Кривкина Евгения Олеговна, младший 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** 0000-0002-2500-2147

Миронов Андрей Владимирович, кандидат медицинских наук младший 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** 0000-0002-8846-5077

Онищенко Павел Сергеевич, 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** 0000-0003-2404-2873

Мухамадияров Ринат Ахматович, кандидат биологических наук старший 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** 0000-0002-5558-3229

Антонова Лариса Валерьевна, доктор медицинских наук ведущий 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** 0000-0002-8874-0788

Khanova Maryam Yu., PhD, Junior Researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8826-9244

Krivkina Evgenia O., Junior Researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2500-2147

Mironov Andrey V., PhD, Junior Researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute of Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8846-5077

Onischchenko Pavel S., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute of Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

Mukhamadiyarov Rinat A., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-5558-3229

Antonova Larisa V., PhD, Leading Researcher at the Laboratory of Cell 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

Вклад авторов в статью

СЕА – вклад в дизайн исследования, получение данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

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

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

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

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

МАВ – получение данных 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, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

MVG – contribution to the design of the study, data collection, 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

KhMYu – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KEO – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MAV – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

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

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

OPS – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MRA – data collection, 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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fang G., Sapru S., Behera S., Yao J., Shao Z., Kundu S.C., Chen X. Exploration of the tight structural-mechanical relationship in mulberry and non-mulberry silkworm silks. *J Mater Chem B*. 2016; 4(24):4337-4347. doi:10.1039/c6tb01049k.
2. Sun W., Gregory D.A., Tomeh M.A., Zhao X. Silk Fibroin as a Functional Biomaterial for Tissue Engineering. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(3):1499. doi:10.3390/ijms22031499.
3. Holland C., Numata K., Rnjak-Kovacina J., Seib F.P. The Biomedical Use of Silk: Past, Present, Future. *Adv Health Mater*. 2019; 8(1):e1800465. doi:10.1002/adhm.201800465.
4. Cheng G., Davoudi Z., Xing X., Yu X., Cheng X., Li Z., Deng H., Wang Q. Advanced Silk Fibroin Biomaterials for Cartilage Regeneration. *ACS Biomater Sci Eng*. 2018;4(8):2704-2715. doi:10.1021/acsbomaterials.8b00150.
5. Sahu N., Pal S., Sapru S., Kundu J., Talukdar S., Singh N.I., Yao J., Kundu S.C. Non-Mulberry and Mulberry Silk Protein Sericins as Potential Media Supplement for Animal Cell Culture. *Biomed Res Int*. 2016; 2016:7461041. doi:10.1155/2016/7461041.
6. Rockwood D.N., Preda R.C., Yücel T., Wang X., Lovett M.L., Kaplan D.L. Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin. *Nat Protoc*. 2011; 22;6(10):1612-31. doi:10.1038/nprot.2011.379.
7. Food and Agriculture Organization of the United Nations [internet]. Available at: <http://fao.org> (accessed 15.10.2023).
8. Qi Y., Wang H., Wei K., Yang Y., Zheng R.Y., Kim I.S., Zhang K.Q. A Review of Structure Construction of Silk Fibroin Biomaterials from Single Structures to Multi-Level Structures. *Int J Mol Sci*. 2017;18(3):237. doi:10.3390/ijms18030237.
9. Inoue S., Tanaka K., Arisaka F., Kimura S., Ohtomo K., Mizuno S. Silk fibroin of Bombyx mori is secreted, assembling a high molecular mass elementary unit consisting of H-chain, L-chain, and P25, with a 6:6:1 molar ratio. *J Biol Chem*. 2000;275(51):40517-28. doi:10.1074/jbc.M006897200.
10. Melke J., Midha S., Ghosh S., Ito K., Hofmann S. Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering. *Acta Biomater*. 2016;31:1-16. doi:10.1016/j.actbio.2015.09.005.
11. Антонова Л.В., Кривкина Е.О., Резцова М.А., Севостьянова В.В., Миронов А.В., Глушкова Т.В., Клышников К.Ю., Овчаренко Е.А., Кудрявцева Ю.А., Барбараш Л.С. Биодegradуемый 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.
12. Durán-Rey D., Brito-Pereira R., Ribeiro C., Ribeiro S., Sánchez-Margallo J.A., Crisóstomo V., Irastorza I., Silván U., Lanceros-Méndez S., Sánchez-Margallo F.M. Development of Silk Fibroin Scaffolds for Vascular Repair. *Biomacromolecules*. 2023;24(3):1121-1130. doi:10.1021/acs.biomac.2c01124.
13. Settembrini A., Buongiovanni G., Settembrini P., Alessandrino A., Freddi G., Vettor G., Martelli E. In-vivo evaluation of silk fibroin small-diameter vascular grafts: state of art of preclinical studies and animal models. *Front Surg*. 2023;10:1090565. doi: 10.3389/fsurg.2023.1090565.
14. Dingle Y.L., Bonzanni M., Liaudanskaya V., Nieland T.J.F., Kaplan D.L. Integrated functional neuronal network analysis of 3D silk-collagen scaffold-based mouse cortical culture. *STAR Protoc*. 2021;2(1):100292. doi:10.1016/j.xpro.2020.100292.
15. Chen Y., Yang W., Wang W., Zhang M., Li M. Bombyx mori Silk Fibroin Scaffolds with Antheraea pernyi Silk Fibroin Micro/Nano Fibers for Promoting EA. hy926 Cell Proliferation. *Materials (Basel)*. 2017;10(10):1153. doi:10.3390/ma10101153.
16. Zhao H., Ren X., Zhang Y., Huang L. Influence of self-assembly regenerated silk fibroin nanofibers on the properties of electrospun materials. *Biomed Mater Eng*. 2015;26(1):S89-94. doi:10.3233/BME-151293.
17. Roblin N.V., DeBari M.K., Shefter S.L., Iizuka E., Abbott R.D. Development of a More Environmentally Friendly Silk Fibroin Scaffold for Soft Tissue Applications. *J Funct Biomater*. 2023;14(4):230. doi:10.3390/jfb14040230.
18. Furuzono T., Kishida A., Tanaka J.. Nano-scaled hydroxyapatite/polymer composite I. Coating of sintered hydroxyapatite particles on poly(gamma-methacryloxypropyl trimethoxysilane)grafted silk fibroin fibers through chemical bonding. *J Mater Sci Mater Med*. 2004;15(1):19-23. doi:10.1023/b:jmsm.0000010093.39298.5a.
19. Patil P.P., Reagan M.R., Bohara R.A. Silk fibroin and silk-based biomaterial derivatives for ideal wound dressings. *Int J Biol Macromol*. 2020; 164:4613-4627. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.08.041.
20. Bosio V.E., Brown J., Rodriguez M.J., Kaplan D.L. Biodegradable Porous Silk Microtubes for Tissue Vascularization. *J Mater Chem B*. 2017;5(6):1227-1235. doi:10.1039/C6TB02712A.
21. Aytemiz D., Fukuda Y., Higuchi A., Asano A., Nakazawa C.T., Kameda T., Yoshioka T., Nakazawa Y. Compatibility Evaluation of Non-Woven Sheet Composite of Silk Fibroin and Polyurethane in the Wet State. *Polymers (Basel)*. 2018;10(8):874. doi:10.3390/polym10080874.
22. Wang Y., Blasioli D.J., Kim H.J., Kim H.S., Kaplan D.L. Cartilage tissue engineering with silk scaffolds and human articular chondrocytes. *Biomaterials*. 2006;27(25):4434-42. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.03.050.
23. Zhao M., Qi Z., Tao X., Newkirk C., Hu X., Lu S. Chemical, Thermal, Time, and Enzymatic Stability of Silk Materials with Silk I Structure. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8):4136. <https://doi.org/10.3390/ijms22084136>.

REFERENCES

1. Fang G., Sapru S., Behera S., Yao J., Shao Z., Kundu S.C., Chen X. Exploration of the tight structural-mechanical relationship in mulberry and non-mulberry silkworm silks. *J Mater Chem B*. 2016; 4(24):4337-4347. doi:10.1039/c6tb01049k.
2. Sun W., Gregory D.A., Tomeh M.A., Zhao X. Silk Fibroin as a Functional Biomaterial for Tissue Engineering. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(3):1499. doi:10.3390/ijms22031499.
3. Holland C., Numata K., Rnjak-Kovacina J., Seib F.P.

The Biomedical Use of Silk: Past, Present, Future. *Adv Health Mater.* 2019; 8(1):e1800465. doi:10.1002/adhm.201800465.

4. Cheng G., Davoudi Z., Xing X., Yu X., Cheng X., Li Z., Deng H., Wang Q. Advanced Silk Fibroin Biomaterials for Cartilage Regeneration. *ACS Biomater Sci Eng.* 2018;4(8):2704-2715. doi:10.1021/acsbomaterials.8b00150.

5. Sahu N., Pal S., Sapru S., Kundu J., Talukdar S., Singh N.I., Yao J., Kundu S.C. Non-Mulberry and Mulberry Silk Protein Sericins as Potential Media Supplement for Animal Cell Culture. *Biomed Res Int.* 2016; 2016:7461041. doi:10.1155/2016/7461041.

6. Rockwood D.N., Preda R.C., Yücel T., Wang X., Lovett M.L., Kaplan D.L. Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin. *Nat Protoc.* 2011; 22;6(10):1612-31. doi:10.1038/nprot.2011.379.

7. Food and Agriculture Organization of the United Nations [internet]. Available at: <http://fao.org> (accessed 15.10.2023).

8. Qi Y., Wang H., Wei K., Yang Y., Zheng R.Y., Kim I.S., Zhang K.Q. A Review of Structure Construction of Silk Fibroin Biomaterials from Single Structures to Multi-Level Structures. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):237. doi:10.3390/ijms18030237.

9. Inoue S., Tanaka K., Arisaka F., Kimura S., Ohtomo K., Mizuno S. Silk fibroin of *Bombyx mori* is secreted, assembling a high molecular mass elementary unit consisting of H-chain, L-chain, and P25, with a 6:6:1 molar ratio. *J Biol Chem.* 2000;275(51):40517-28. doi:10.1074/jbc.M006897200.

10. Melke J., Midha S., Ghosh S., Ito K., Hofmann S. Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 2016;31:1-16. doi:10.1016/j.actbio.2015.09.005.

11. 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)

12. Durán-Rey D., Brito-Pereira R., Ribeiro C., Ribeiro S., Sánchez-Margallo J.A., Crisóstomo V., Irastorza I., Silván U., Lanceros-Méndez S., Sánchez-Margallo F.M. Development of Silk Fibroin Scaffolds for Vascular Repair. *Biomacromolecules.* 2023;24(3):1121-1130. doi:10.1021/acs.biomac.2c01124.

13. Settembrini A., Buongiovanni G., Settembrini P., Alessandrino A., Freddi G., Vettor G., Martelli E. In-vivo evaluation of silk fibroin small-diameter vascular grafts: state of art of preclinical studies and animal models. *Front Surg.*

2023;10:1090565. doi: 10.3389/fsurg.2023.1090565.

14. Dingle Y.L., Bonzanni M., Liaudanskaya V., Nieland T.J.F., Kaplan D.L. Integrated functional neuronal network analysis of 3D silk-collagen scaffold-based mouse cortical culture. *STAR Protoc.* 2021;2(1):100292. doi:10.1016/j.xpro.2020.100292.

15. Chen Y., Yang W., Wang W., Zhang M., Li M. Bombyx mori Silk Fibroin Scaffolds with *Antheraea pernyi* Silk Fibroin Micro/Nano Fibers for Promoting EA. hy926 Cell Proliferation. *Materials (Basel).* 2017;10(10):1153. doi:10.3390/ma10101153.

16. Zhao H., Ren X., Zhang Y., Huang L. Influence of self-assembly regenerated silk fibroin nanofibers on the properties of electrospun materials. *Biomed Mater Eng.* 2015;26(1):S89-94. doi:10.3233/BME-151293.

17. Roblin N.V., DeBari M.K., Shefter S.L., Iizuka E., Abbott R.D. Development of a More Environmentally Friendly Silk Fibroin Scaffold for Soft Tissue Applications. *J Funct Biomater.* 2023;14(4):230. doi:10.3390/jfb14040230.

18. Furuzono T., Kishida A., Tanaka J. Nano-scaled hydroxyapatite/polymer composite I. Coating of sintered hydroxyapatite particles on poly(gamma-methacryloxypropyl trimethoxysilane)grafted silk fibroin fibers through chemical bonding. *J Mater Sci Mater Med.* 2004;15(1):19-23. doi:10.1023/b:jmsm.0000010093.39298.5a.

19. Patil P.P., Reagan M.R., Bohara R.A. Silk fibroin and silk-based biomaterial derivatives for ideal wound dressings. *Int J Biol Macromol.* 2020; 164:4613-4627. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.08.041.

20. Bosio V.E., Brown J., Rodriguez M.J., Kaplan D.L. Biodegradable Porous Silk Microtubes for Tissue Vascularization. *J Mater Chem B.* 2017;5(6):1227-1235. doi:10.1039/C6TB02712A.

21. Aytemiz D., Fukuda Y., Higuchi A., Asano A., Nakazawa C.T., Kameda T., Yoshioka T., Nakazawa Y. Compatibility Evaluation of Non-Woven Sheet Composite of Silk Fibroin and Polyurethane in the Wet State. *Polymers (Basel).* 2018;10(8):874. doi:10.3390/polym10080874.

22. Wang Y., Blasioli D.J., Kim H.J., Kim H.S., Kaplan D.L. Cartilage tissue engineering with silk scaffolds and human articular chondrocytes. *Biomaterials.* 2006;27(25):4434-42. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.03.050.

23. Zhao M., Qi Z., Tao X., Newkirk C., Hu X., Lu S. Chemical, Thermal, Time, and Enzymatic Stability of Silk Materials with Silk I Structure. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):4136. <https://doi.org/10.3390/ijms22084136>.

Для цитирования: Сенокосова Е.А., Матвеева В.Г., Прокудина Е.С., Ханова М.Ю., Кривкина Е.О., Миронов А.В., Онищенко П.С., Мухамадияров Р.А., Антонова Л.В. Тканеинженерный матрикс на основе фиброина шелка для сердечно-сосудистой хирургии. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(4S): 150-158. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-150-158

To cite: Senokosova E.A., Matveeva V.G., Prokudina E.S., Khanova M.Yu., Krivkina E.O., Mironov A.V., Onischenko P.S., Mukhamadiyarov R.A., Antonova L.V. Tissue engineered matrix based on silk fibroin for cardiovascular surgery. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(4S): 150-158. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-150-158