

## ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЙ ПРОТЕЗ КРОВЕНОСНОГО СОСУДА: ОЦЕНКА КАЧЕСТВА МАТЕРИАЛА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ АТРОМБОГЕННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОКРЫТИЯ

Е.А. Сенокосова, Е.О. Кривкина, Т.Н. Акентьева, Т.В. Глушкова, В.А. Кошелев,  
М.Ю. Ханова, 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

- Оригинальная методика формирования гидрогелевого атромбогенного лекарственного покрытия на внутренней поверхности сосудистого протеза малого диаметра не повлияла на изначальные структурные и физико-механические свойства изделия. Загрузка в покрытие илопроста и гепарина значительно улучшила гемосовместимость материала в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов.

### Цель

Оценка структурных и физико-механических характеристик тканеинженерного сосудистого протеза и функциональной активности его лекарственного покрытия.

### Материалы и методы

Протезы сосудов на основе сочетания поликапролактона и полиуретана с ростовыми факторами изготавливали методом эмульсионного электроспиннинга. Лекарственное покрытие на внутренней поверхности протезов представлено гидрогелевым слоем, нагруженным илопростом и гепарином. Структуру поверхности исследовали методом сканирующей электронной микроскопии, физико-механические характеристики – на универсальной испытательной машине Zwick/Roell, свойства поверхности – методом установления контактного угла смачиваемости. Функциональная активность лекарственного покрытия оценена по показателям максимальной агрегации тромбоцитов при контакте с материалом.

### Результаты

Установлено, что методика формирования лекарственного покрытия не привела к изменению архитектоники поверхности полимерного матрикса. Структура конечного изделия представлена хаотично направленными микро- и нановолокнами с разноразмерными порами без деформативных изменений материала; поверхность изделия сохранила гидрофильность ( $\theta = 68,6 \pm 11,85$ ). Успешность поверхностного модифицирования сосудистых протезов атромбогенными лекарственными препаратами подтверждена крайне низкими значениями максимума агрегации тромбоцитов при контакте обогащенной тромбоцитами плазмы с поверхностью протезов (8,5 (7,2; 12,2) %). Доказаны пролонгированность высвобождения и сохранение активности лекарственных препаратов в зависимости от условий их инкубации в физиологическом растворе.

### Заключение

Формирование атромбогенного лекарственного покрытия на поверхности сосудистого протеза PCL/PU/GFmix<sup>По/Геп</sup> не привело к изменению структурных характеристик и ухудшению физико-механических свойств, но значительно улучшило гемосовместимость в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов.

### Ключевые слова

Протез сосуда малого диаметра • Поликапролактон • Полиуретан • Электроспиннинг • Гемосовместимость

Поступила в редакцию: 04.06.2024; поступила после доработки: 09.07.2024; принята к печати: 19.08.2024

Для корреспонденции: Евгения Андреевна Сенокосова, sergeewa.ew@yandex.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Evgeniya A. Senokosova, sergeewa.ew@yandex.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

## TISSUE-ENGINEERED VASCULAR GRAFT: ASSESSMENT OF MATERIAL QUALITY AND ACTIVITY OF ANTI-TROMBOGENIC COATING

E.A. Senokosova, E.O. Krivkina, T.N. Akentyeva, T.V. Glushkova, V.A. Koshelev,  
M.Yu. Khanova, 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 original method of forming a hydrogel anti-trombogenic drug coating on the inner surface of a small diameter vascular graft did not affect the baseline structural, physical and mechanical properties of the product. Loading iloprost and heparin into the coating significantly improved the hemocompatibility of the material with respect to inhibition of platelet aggregation.

<b>Aim</b>	To evaluate structural, physical and mechanical characteristics of a drug-eluting tissue-engineered vascular graft and the functional activity of its coating.
<b>Methods</b>	Vascular grafts based on polycaprolactone and polyurethane with growth factors were manufactured by emulsion electrospinning. The modified coating on the inner surface of the graft consisted of a hydrogel layer loaded with iloprost and heparin. The surface structure was studied by scanning electron microscopy, physical and mechanical characteristics were studied using a universal Zwick/Roell testing machine, surface properties were studied by contact angle measurements and wettability. The functional activity of the modified coating was assessed with the help of indicators of maximum platelet aggregation upon contact with the material.
<b>Results</b>	The results showed that forming the coating did not change the architectonics of the polymer matrix surface. The structure of the graft was represented by randomly directed micro- and nanofibers with heterogeneous pores and without deformation of material; the surface of the graft retained hydrophilicity ( $\theta = 68.6 \pm 11.85$ ). We confirmed the success of surface modification of vascular graft by observing extremely low values of the maximum platelet aggregation upon contact of platelet-rich plasma with the surface of the graft (8,5 (7,2; 12,2) %). Depending on the conditions of their incubation in saline solution, we have noted the prolongation of the drug-releasing activity.
<b>Conclusion</b>	The formation of anti-thrombogenic coating on the surface of the PCL/PU/GFmix/Ilo/Hep vascular graft did not negatively affect the structural characteristics or physical and mechanical properties, moreover, it significantly improved hemocompatibility in terms of inhibition of platelet aggregation.
<b>Keywords</b>	Small diameter vascular graft • Polycaprolactone • Polyurethane • Electrospinning • Hemocompatibility

Received: 04.06.2024; received in revised form: 09.07.2024; accepted: 19.08.2024

### Список сокращений

ОТП – обогащенная тромбоцитами плазма    PU – полиуретан  
PCL – поликапролактон

### Введение

Существует высокая потребность в протезах кровеносных сосудов малого диаметра ( $D < 6$  мм) [1]. Используя методы тканевой инженерии, можно создавать различные полимерные сосудистые протезы с заданными характеристиками [2–5]. К тканеинженерному протезу предъявляются серьезные требования: он должен быть биосовместим, схож по механическим свойствам с аутологичными сосудами, способен функционировать при низкой скорости потока и более высоком сопротивлении,

характеризующих гемодинамическую среду сосудов малого диаметра [6]. Неполное выполнение данных условий формирует ряд рисков несостоятельности протезов данной категории: тромбобразование, несбалансированность ремоделирования стенки протеза, аневризмообразование, гиперплазия неоинтимы [7].

Оригинальная технология изготовления функционально активного тканеинженерного протеза сосуда малого диаметра включила в себя подходы, с помощью которых возможно преодолеть

вышеуказанные проблемы [8]. Сочетание биосовместимых полимеров поликапролактона (PCL) и полиуретана (PU) в трубчатом каркасе протеза может обеспечить поддержание требуемых механических характеристик и устойчивость к формированию аневризм [9–12]. При этом инкорпорируемые в состав протеза проангиогенные факторы призваны задать вектор гармоничного ремоделирования стенки протеза посредством привлечения сосудистых клеток из крови и окружающих тканей [13]. Высокопористые материалы при контакте с кровью способны провоцировать тромбообразование, поэтому при разработке изделий для нужд сердечно-сосудистой хирургии необходимо учитывать данные особенности. Поверхностное модифицирование протезов атромбогенными лекарственными препаратами может предупредить тромбоз просвета имплантированных сосудистых протезов как в раннем послеоперационном периоде, так и в процессе длительной биорезорбции основного каркаса протеза [14]. Атромбогенное лекарственное покрытие, формируемое по собственной оригинальной методике, представляет собой гидрогелиевый слой со стороны просвета, наполненный антикоагулянтом – нефракционированным гепарином – и антиагрегантом – илопростом [15, 16]. Данная форма поверхностного модифицирования подвержена постепенному растворению в условиях кровотока и пролонгированному высвобождению лекарств.

Необходимо учитывать, что модифицирование полимерных конструкций способно изменить его структурные и другие качественные характеристики, поэтому необходимо контролировать качество материала на каждом этапе изготовления. В данной статье приведены характеристики создаваемого сосудистого протеза малого диаметра относительно этапов изготовления с акцентом на оценке функциональной активности атромбогенного лекарственного покрытия.

**Цель исследования** – оценить структурные и физико-механические характеристики тканеинженерного сосудистого протеза и функциональную активность его лекарственного покрытия.

## Материалы и методы

### Изготовление протезов сосудов PCL/PU/GFmix<sup>/Ilo/Her</sup> в три этапа

На I этапе протезы изготавливали методом эмульсионного электроспиннинга из полимерного раствора 8% PCL (Sigma-Aldrich, США) + 5% PU (Lubrizol Advanced Materials, США) + 1% Plu (Sigma-Aldrich, США) в хлороформе (АО «Вектон», Россия) с одномоментным введением комплекса ростовых факторов (GFmix: VEGF, bFGF и SDF-1 $\alpha$ ). Параметры электроспиннинга: напряжение – 22 кВ, скорость вращения коллектора – 200

об./мин, скорость подачи раствора – 0,5 мл/ч, время очистки иглы – 30 сек., расстояние от иглы до наматочного коллектора – 15 см. Диаметр наматочного коллектора составил 8 мм. После высыхания получали PCL/PU/GFmix-протезы.

На II этапе формировали гидрогелевое покрытие на поверхности протезов PCL/PU/GFmix из 10% водного раствора поливинилпирролидона (PVP, PanReac AppliChem, Испания). Образцы выдерживали в приготовленном растворе в течение 30 мин с дальнейшим удалением излишнего PVP и высушиванием на воздухе при комнатной температуре. Далее протезы помещали в стеклянные пробирки, заполняли аргоном и подвергали ионизирующему излучению с общей дозой поглощения 15 кГр с использованием импульсного линейного ускорителя ИЛУ-10 с энергией пучка 5МэВ 50 кВТ (Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Россия). В итоге получали PCL/PU/GFmix<sup>/PVP</sup>-протезы. Стоит отметить, что применение данного облучения параллельно позволило осуществить поверхностное модифицирование и стерилизацию образцов.

Заключительный III этап выполняли в стерильных условиях. К PVP-поверхности методом комплексообразования проводили присоединение антиагреганта илопроста (Ilo, VENTAVIS, BERLIMED S.A., Испания) и нефракционированного гепарина (Her, ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия). PCL/PU/GFmix/PVP-протезы выдерживали в течение 30 мин в глициновом растворе pH 2,3–2,6, содержащем вышеуказанные лекарственные препараты, с последующим высушиванием. После прохождения всех этапов изготовления получали PCL/PU/GFmix<sup>/Ilo/Her</sup>-протезы.

Для ряда методов готовые сосудистые протезы разрезали вдоль с целью получения плоских матриксов.

### Сканирующая электронная микроскопия

Оценку структуры внутренней поверхности протезов 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).

### Контактный угол смачиваемости

Для оценки гидрофильных/гидрофобных свойств определили краевой угол смачивания на полимерных материалах методом сидячей капли с использованием прибора Drop Shape Analyzer DSA25 (Kruss GmbH, Германия) при комнатной

температуре. Угол контакта был рассчитан из пяти изображений в программа ImageJ (NIH Image, США) для каждого типа полимерного материала.

#### Физико-механические испытания

Испытания по установлению физико-механических свойств материала в продольном и поперечном направлении проведены на универсальной испытательной машине серии Z (Zwick/Roell, Германия) с использованием датчика с номинальной силой 50 Н с пределом допустимой погрешности  $\pm 1\%$ , скорость, перемещения траверсы при испытании 50 мм/мин. Предел прочности материала оценивали как максимальное напряжение при растяжении (МПа) до начала разрушения. Поскольку исследуемые биологические образцы и протезы имели существенное различие по толщине и, как следствие, площади поперечного сечения, в качестве альтернативного критерия прочности использовали абсолютное значение максимальной силы, приложенной к образцу до начала разрушения ( $F_{max}$ , Н). Упруго-деформативные свойства материала оценивали по относительному удлинению до начала разрушения образца (%) и модулю Юнга (МПа), который определяли в диапазонах физиологического давления (80–120 мм рт. ст.). Оценку механических свойств протезов проводили в сравнении с внутренней грудной артерией человека (a. mammaria). Дистальные сегменты a. mammaria человека забирали при проведении аортокоронарного шунтирования пациентам, подписавшим форму информированного согласия на взятие материала. Образцы a. mammaria помещали в физиологический раствор и сразу проводили физико-механические испытания.

#### Оценка функциональной активности лекарственного покрытия

Функциональную активность лекарственного покрытия оценивали по показателям максимальной агрегации тромбоцитов при контакте с протезами (0,5 см<sup>2</sup>) после контакта донорской плазмой с в соответствии с ISO 10993.4. К свежей донорской крови добавляли 3,8% раствор цитрата натрия (в соотношении 9:1) и затем центрифугировали при 1000 об./мин в течение 10 мин. Полученную обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП/PRP) использовали в качестве положительного контроля реакции агрегации тромбоцитов. Для калибровки прибора применяли бедную тромбоцитами плазму, которую получали в результате повторного центрифугирования ОТП при 4000 об./мин в течение 20 мин. Исследуемые образцы матриц помещали в кюветы с ОТП на 3 мин, затем добавляли индуктор агрегации тромбоцитов АДФ «АГРЕНАМ» (НПО «РЕНАМ», Россия) в концентрации 20 мкМ/л. Агрегацию тромбоцитов оценивали с помощью

полуавтоматического 4-канального анализатора АРАСТ 4004 (LABiТес, Германия). Спустя 5 мин регистрировали максимальный процент агрегации тромбоцитов (%).

Продолжительность и динамику функциональной активности лекарственного покрытия PCL/PU/GFmix/Ило/Нер-протезов оценивали по максимуму агрегации тромбоцитов после контакта с поверхностью матриц (0,25 × 0,25 см<sup>2</sup>) спустя 24 ч и 3, 5, 11 сут инкубации в 50 мл физиологического раствора при 37 °С в статичных условиях и при помешивании на скорости 300 об./мин в шейкер-инкубаторе Incubator 1000 (Heidolph, Германия).

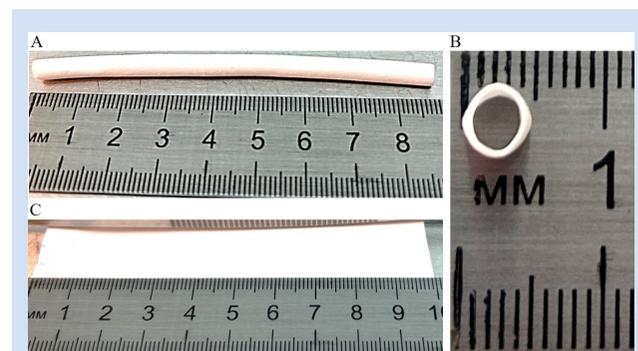
#### Статистический анализ

Статистическую обработку результатов выполняли в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Характер распределения данных в выборках оценивали по критериям Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Количественные данные представлены в виде медианы и квартильного размаха (Me (Q1; Q3)) или среднего и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ). Статистически значимые различия между двумя независимыми группами оценивали критерием Манна – Уитни, при множественном сравнении – ANOVA или критерием Краскала – Уоллиса с коррекцией результатов с учетом множественности сравнения методом FDR. Статистически значимыми принимали различия при  $p < 0,05$  во всех тестах.

#### Результаты

Изготовленный методом эмульсионного электроспиннинга сосудистый протез на основе PCL/PU представлял собой упругую, гибкую, плотную трубку, стабильно поддерживавшую округлый просвет. После продольного разреза легко принимал вид расправленного гладкого листа, удерживавшего свою форму без слипания краевых зон (рис. 1). Средняя толщина данного изделия составила 600 мкм.

Посредством сканирующей электронной микро-



**Рисунок 1.** Макрофото полимерного протеза кровеносного сосуда: А – трубчатый вид; В – поперечный разрез; С – плоский лист

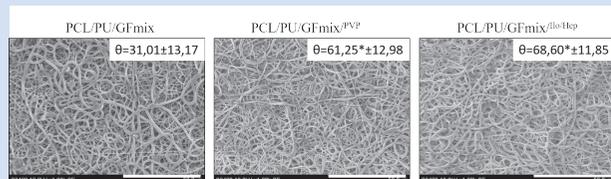
**Figure 1.** Macrophoto of a polymer vascular prosthesis: А – tubular prosthesis; В – transverse section; С – flat sheet

скопии установлено, что методика формирования PVP-покрытия с дальнейшим наполнением лекарственными препаратами не привела к изменению архитектоники поверхности полимерного матрикса. Внутренняя поверхность изделия полностью сопоставима на каждом этапе изготовления и представлена сетью хаотично направленных микро- и нановолокон со взаимопроникающими порами (рис. 2). В структуре конечного изделия PCL/PU/GFmix<sup>/Ilo/Hep</sup> не выявлено потрескивания или расплавления волокон, запаянных пор и других деформативных изменений материала.

Краевой угол смачивания был статистически значимо выше на PVP-поверхностях в сравнении необработанным PCL/PU/GFmix-матриком ( $p = 0,008$  для PCL/PU/GFmix<sup>PVP</sup>;  $p = 0,002$  для PCL/PU/GFmix<sup>/Ilo/Hep</sup>). Стоит отметить, что методика связывания препаратов с PVP не повлияла на физические свойства полимерного матрикса: поверхность изделия сохранила гидрофильность (см. рис. 2).

Анализ механических свойств конечного варианта протеза сосуда PCL/PU/GFmix<sup>/Ilo/Hep</sup> показал ожидаемую разницу по всем показателям в сравнении с нативной артерией (*a. mammaria*). Материал протеза был в несколько раз прочнее и эластичнее внутренней грудной артерии как в продольном, так и поперечном направлениях. Жесткость протезов достигла 6,04 (5,39; 7,94) МПа (таблица).

Успешность поверхностного модифицирования полимерных сосудистых протезов лекарственными



**Рисунок 2.** Сканирующая электронная микроскопия и краевой угол смачиваемости матриксов

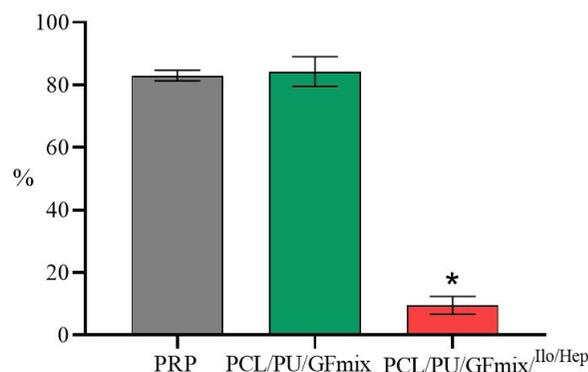
**Примечание:** \*  $p < 0,05$  в сравнении с PCL/PU/GFmix-поверхностью; линейка = 50 мкм.

**Figure 2.** Scanning electron microscopy and contact angle measurements of the matrices

**Note:** \*  $p < 0.05$  in comparison with the PCL/PU/GFmix surface. Scale bar = 50 microns.

препаратами подтверждена крайне низкими значениями максимума агрегации тромбоцитов при контакте ОТП с поверхностью протезов PCL/PU/GFmix<sup>/Ilo/Hep</sup> – 8,5 (7,2; 12,2) %, что в 10 раз ниже ( $p = 0,002$ ), чем в группе безлекарственных PCL/PU/GFmix-матриков (рис. 3).

Сохранность функциональной активности илопроста и гепарина в составе гидрогелевого покрытия на поверхности сосудистого протеза оценена посредством установления максимального процента агрегации тромбоцитов после контакта ОТП с матриксами в зависимости от условий их инкубации в физиологическом растворе. В статичных условиях инкубации лекарственное покрытие подверглось низкому растворению, несмотря на временные точки эксперимента: максимум агрегации тромбоцитов не превысил 10,8 (9,5; 13,6) % спустя 11 сут эксперимента и был сопоставим с результатами контакта ОТП с матриксом без инкубации. Перемешивание на шейкере ускорило растворение PVP-слоя и высвобождение лекарств. Примечательно, что рост максимума агрегации тромбоцитов имел волнообразную динамику относительно времени инкубации. Предположи-



**Рисунок 3.** Максимум агрегации тромбоцитов при контакте ОТП с модифицированными и немодифицированными матриксами

**Примечание:** \*  $p < 0,05$  в сравнении с ОТП и PCL/PU/GFmix.

**Figure 3.** Maximum platelet aggregation upon contact of PRP and modified and unmodified

**Note:** \*  $p < 0.05$  in comparison with PRP and PCL/PU/GFmix.

Механические свойства протезов PCL/PU/GFmix<sup>/Ilo/Hep</sup>  
Mechanical properties of PCL/PU/GFmix<sup>/Ilo/Hep</sup> prostheses

Образец / Sample	Относительное удлинение / Relative elongation, %	F max, N	Напряжение, МПа / Tensile Strength, MPa	Модуль Юнга, МПа / Young's modulus, MPa
<b>Продольное направление / Longitudinal direction, Me (Q1; Q3)</b>				
<i>a. mammaria</i>	18,34 (16,62; 51,90)	0,68 (0,39; 6,91)	0,30 (0,17; 3,07)	0,89 (0,81; 0,96)
PCL/PU/GFmix <sup>/Ilo/Hep</sup>	134,40* (130,40; 137,80)	41,88* (40,45; 43,60)	4,08* (3,76; 4,36)	6,04* (5,39; 7,94)
<b>Поперечное направление / Transverse direction, Me (Q1; Q3)</b>				
<i>a. mammaria</i>	84,26 (36,68; 128,00)	2,45 (0,26; 6,19)	1,19 (0,12; 3,54)	0,34 (0,26; 0,36)
PCL/PU/GFmix <sup>/Ilo/Hep</sup>	228,9* (222,6; 254,8)	12,69* (10,26; 14,68)	1,38 (1,13; 1,48)	1,11* (0,97; 1,17)

**Примечание:** \*  $p < 0,05$  в сравнении с *a. mammaria*.

**Note:** \*  $p < 0.05$  in comparison with Artery mammaria.

тельно, данный эффект можно объяснить проникновением PVP в глубь пористой стенки протеза и аккумуляцией препаратов не только на поверхности изделия, с которой он высвободился быстрее, но и в толще стенки протеза. Это способствовало сохранению и поддержанию достаточного количества связанных с PVP препаратов и снижению агрегации тромбоцитов при контакте ОТП с матриксами после 5 сут инкубации в физиологическом растворе (рис. 4).

### Обсуждение

Сформирован устойчивый рост спроса на сосудистые протезы малого диаметра с улучшенными биосовместимыми свойствами и долгосрочной эффективностью. Одним из важных акцентов при создании данных изделий является достижение оптимальных показателей гемосовместимости, физико-механических свойств и гармоничного ремоделирования стенки протеза после имплантации в сосудистое русло. Интеграция такого протеза с сосудистым руслом не должна влиять на систему гемостаза, реактивную в отношении тромбообразования в условиях низкой скорости кровотока: агрегацию и активацию тромбоцитов, лизис эритроцитов и прочее [17, 18]. Поэтому активно появляются и тестируются экспериментальные прототипы протезов сосудов малого диаметра с атромбогенным лекарственным наполнением [19–21].

Нами был разработан тканеинженерный протез кровеносного сосуда на основе поликапролактона и полиуретана с комплексом проангиогенных факторов и лекарственным покрытием, содержащим в своем составе антиагрегант и антикоагулянт. Сосудистые протезы малого диаметра классифицируются как медицинские изделия с высокой степенью риска, относясь к третьему классу, так как предназначены для коррекции системы крово-

обращения и находятся в прямом контакте с частями этой системы и органами, ею кровоснабжаемыми. Поэтому к данному виду изделий предъявляются самые высокие требования – как в отношении биосовместимости, так и долгосрочной эффективности.

По итогам исследования структурных и физико-механических характеристик модифицированного PCL/PU/GFmix<sup>110/Her</sup>-протеза установлено, что он обладал пористой поверхностью, высокими прочностными и упруго-деформативными характеристиками. Методика модифицирования с целью формирования лекарственного PVP-слоя, включившая ионизирующее облучение и инкубацию протезов в кислой среде, существенно не повлияла на характеристики конечного изделия.

Доказаны пролонгированность высвобождения и сохранение активности лекарственных препаратов, включенных в состав лекарственного покрытия протеза PCL/PU/GFmix<sup>110/Her</sup>. Максимум агрегации тромбоцитов после контакта крови с поверхностью PCL/PU/GFmix<sup>110/Her</sup> был в 10 раз ниже аналогичного показателя после контакта с протезами PCL/PU/GFmix, не имевшими лекарственного покрытия.

### Заключение

Формирование атромбогенного лекарственного покрытия на поверхности сосудистого протеза PCL/PU/GFmix<sup>110/Her</sup> не привело к изменению структурных характеристик и ухудшению физико-механических свойств, но значительно улучшило гемосовместимость в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов.

### Конфликт интересов

Е.А. Сенокосова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.О. Кривкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Н. Ацентьева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Глушкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.А. Кошелев заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Ю. Ханова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации № 075-15-2022-1202 от 30 сентября 2022 г., заключенного в целях реализации Распоряжения Правительства Российской Федерации от 11 мая 2022 г. № 1144-р.

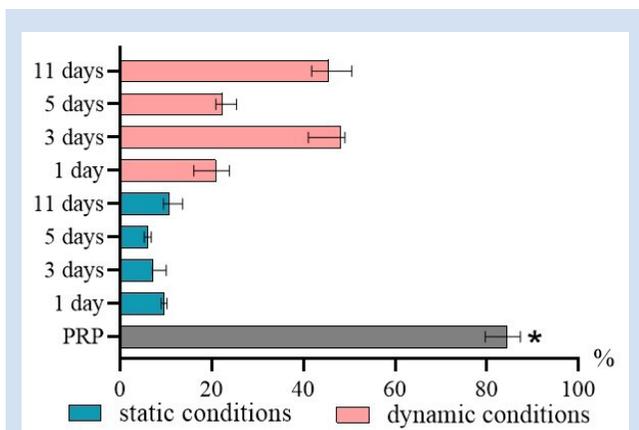


Рисунок 4. Динамика агрегации тромбоцитов после контакта с матриксами

Примечание: \*  $p < 0,05$  в сравнении с ОТП.

Figure 4. Dynamics of platelet aggregation after contact with matrices

Note: \*  $p < 0.05$  in comparison with PRP.

**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

*Кривкина Евгения Олеговна*, младший научный сотрудник 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

*Агентьева 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

*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 отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6840-1116

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

*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

**Вклад авторов в статью**

*СЕА* – вклад в концепцию исследования, анализ данных исследования, написание 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

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

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

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

**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

*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

*Akentieva Tatiana 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

*Glushkova Tatiana 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, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6840-1116

*Khanova Maryam Yu.*, 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

*Antonova Larisa V.*, PhD, Head of 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

**Author Contribution Statement**

*SEA* – contribution to the concept of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

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

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

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

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

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

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

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Fahad M.A.A., Lee H.Y., Park S., Choi M., Shanto P.C., Park M., Bae S.H., Lee B.T. Small-diameter vascular graft composing of core-shell structured micro-nanofibers loaded with heparin and VEGF for endothelialization and prevention of neointimal hyperplasia. *Biomaterials*. 2024; 306:122507. doi: 10.1016/j.biomaterials.2024.122507.
- 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.
- Fang Q., Gu T., Fan J., Zhang Y., Wang Y., Zhao Y., Zhao P. Evaluation of a hybrid small caliber vascular graft in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020; 159(2):461-473. doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.02.083.
- Fusco D., Meissner F., Podesser B.K., Marsano A., Grapow M., Eckstein F., Winkler B. Small-diameter bacterial cellulose-based vascular grafts for coronary artery bypass grafting in a pig model. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9:881557. doi: 10.3389/fcvm.2022.881557.
- Кривкина Е.О., Матвеева В.Г., Антонова Л.В. Сосудистые протезы с противомикробным покрытием: экспериментальные разработки и внедрение в клиническую практику. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2021;10(3):90-102. doi:10.17802/2306-1278-2021-10-3-90-102
- Obiweluzor F.O., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Park C.H., Kim C.S., Jeong I.S. Considerations in the Development of Small-Diameter Vascular Graft as an Alternative for Bypass and Reconstructive Surgeries: A Review. *Cardiovasc Eng Technol*. 2020; 11(5):495-521. doi: 10.1007/s13239-020-00482-y.
- Awad N.K., Niu H., Ali U., Morsi Y.S., Lin T. Electrospun Fibrous Scaffolds for Small-Diameter Blood Vessels: A Review. *Membranes (Basel)*. 2018; 8(1):15. doi: 10.3390/membranes8010015.
- Антонова Л.В., Севостьянова В.В., Резвова М.А., Кривкина Е.О., Кудрявцева Ю.А., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ) Технология изготовления функционально активных биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра с лекарственным покрытием. Патент № 2702239 РФ; МПК А61F 2/06 №2019119912 заявл. 25.06.2019; опубл. 07.10.2019, Бюл. № 28
- Siddiqui N., Asawa S., Birru B., Baadhe R., Rao S. PCL-Based Composite Scaffold Matrices for Tissue Engineering Applications. *Mol Biotechnol*. 2018; 60(7):506-532. doi: 10.1007/s12033-018-0084-5.
- 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; 46:166-176. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.027.
- 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.
- 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): 449-458. doi: 10.1016/0142-9612(93)90148-u.
- Antonova L. V., Sevostyanova V. V., Mironov A. V., Krivkina E. O., Velikanova E. A., Matveeva V. G., Glushkova T. V., Elgudin Ya. L., Barbarash L. S. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018; 7 (2):25-36. doi:10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36; (in Russian)
- Matsuzaki Y., Miyamoto Sh., Miyachi H., Iwaki R., Shoji T., Blum K., Chang Yu-Ch., 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. 2021; *Ann. Thorac. Surg*. 111(4): 1234-1241. doi: 10.1016/j.athoracsur.2020.06.112.
- Fang J., Li S. End-Point Immobilization of Heparin on Electrospun Polycarbonate-Urethane Vascular Graft. *Methods Mol Biol*. 2022; 2375:47-59. doi: 10.1007/978-1-0716-1708-3\_5.
- Антонова Л.В., Кривкина Е.О., Резвова М.А., Севостьянова В.В., Ткаченко В.О., Глушкова Т.В., Акентьева Т.Н., Кудрявцева Ю.А., Барбараш Л.С. Разработка технологии формирования атромбогенного лекарственного покрытия для биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра. Современные технологии в медицине. 2021; 12(6):6-12. doi: 10.17691/stm2020.12.6.01
- Vascular Grafts Market Size, Share & Trends Analysis Report by Product, by Application (Cardiac Aneurysm, Kidney Failure, Coronary Artery Disease, by Raw Material (Polyester, Polyurethane), by Region, and Segment Forecasts, 2021-2028. Available at: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/vascular-graft-market> (accessed 12.05.2024).
- 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: e170146. doi: 10.1002/adhm.201701461.
- Yu J., Wang A., Tang Z., Henry J., Li-Ping Lee B., Zhu Y., Yuan F., Huang F, Li S. The effect of stromal cell-derived factor-1 $\alpha$ /heparin coating of biodegradable vascular grafts on the recruitment of both endothelial and smooth muscle progenitor cells for accelerated regeneration. *Biomaterials*. 2012; 33(32):8062-74. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.042.
- Qiu X., Lee B.L., Ning X., Murthy N., Dong N., Li S. End-point immobilization of heparin on plasma-treated surface of electrospun polycarbonate-urethane vascular graft. *Acta Biomater*. 2017; 51:138-147. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.012.
- Lee K.S., Kayumov M., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Jeong Y.J., Lee D.W., Park J.K., Park C.H., Kim C.S., Obiweluzor F.O., Jeong I.S. A Comparative Study of an Anti-Thrombotic Small-Diameter Vascular Graft with Commercially Available e-PTFE Graft in a Porcine Carotid Model. *Tissue Eng Regen Med*. 2022; 19(3):537-551. doi: 10.1007/s13770-021-00422-4.

## REFERENCES

1. Fahad M.A.A., Lee H.Y., Park S., Choi M., Shanto P.C., Park M., Bae S.H., Lee B.T. Small-diameter vascular graft composing of core-shell structured micro-nanofibers loaded with heparin and VEGF for endothelialization and prevention of neointimal hyperplasia. *Biomaterials*. 2024; 306:122507. doi: 10.1016/j.biomaterials.2024.122507.
2. 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.
3. Fang Q., Gu T., Fan J., Zhang Y., Wang Y., Zhao Y., Zhao P. Evaluation of a hybrid small caliber vascular graft in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020; 159(2):461-473. doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.02.083.
4. Fusco D., Meissner F., Podesser B.K., Marsano A., Grapow M., Eckstein F., Winkler B. Small-diameter bacterial cellulose-based vascular grafts for coronary artery bypass grafting in a pig model. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9:881557. doi: 10.3389/fcvm.2022.881557.
5. Krivkina E.O., Matveeva V.G., Antonova L.V. Antimicrobial vascular grafts: experimental development and implementation in clinical practice. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021; 10(3):90-102. doi:10.17802/2306-1278-2021-10-3-90-102 (In Russian)
6. Obiweluzor F.O., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Park C.H., Kim C.S., Jeong I.S. Considerations in the Development of Small-Diameter Vascular Graft as an Alternative for Bypass and Reconstructive Surgeries: A Review. *Cardiovasc Eng Technol*. 2020; 11(5):495-521. doi: 10.1007/s13239-020-00482-y.
7. Awad N.K., Niu H., Ali U., Morsi Y.S., Lin T. Electrospun Fibrous Scaffolds for Small-Diameter Blood Vessels: A Review. *Membranes (Basel)*. 2018; 8(1):15. doi: 10.3390/membranes8010015.
8. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Rezvova M.A., Krivkina E.O., Kudryavtseva Yu.A., Barbarash O.L., Barbarash L.S.; Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases" (NII KPSSZ), assignee. Manufacturing technology of functionally active biodegradable vascular prostheses of small diameter with a drug coating. patent 2702239 (RU). 07.10.2019. (In Russian)
9. Siddiqui N., Asawa S., Birru B., Baadhe R., Rao S. PCL-Based Composite Scaffold Matrices for Tissue Engineering Applications. *Mol Biotechnol*. 2018; 60(7):506-532. doi: 10.1007/s12033-018-0084-5.
10. 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; 46:166-176. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.027.
11. 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.
12. 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): 449-458. doi: 10.1016/0142-9612(93)90148-u.
13. Antonova L. V., Sevostyanova V. V., Mironov A. V., Krivkina E. O., Velikanova E. A., Matveeva V. G., Glushkova T. V., Elgudin Ya. L., Barbarash L. S. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018; 7 (2):25-36. doi:10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36; (in Russian)
14. Matsuzaki Y., Miyamoto Sh., Miyachi H., Iwaki R., Shoji T., Blum K., Chang Yu-Ch., 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. 2021; *Ann. Thorac. Surg*. 111(4): 1234-1241. doi: 10.1016/j.athoracsur.2020.06.112.
15. Fang J., Li S. End-Point Immobilization of Heparin on Electrospun Polycarbonate-Urethane Vascular Graft. *Methods Mol Biol*. 2022; 2375:47-59. doi: 10.1007/978-1-0716-1708-3\_5.
16. Antonova L.V., Krivkina E.O., Rezvova M.A., Sevostyanova V.V., Tkachenko V.O., Glushkova T.V., Akentyeva T.N., Kudryavtseva Y.A., Barbarash L.S. A Technology for Anti-Thrombogenic Drug Coating of Small-Diameter Biodegradable Vascular Prostheses. *Sovrem Tekhnologii Med*. 2021; 12(6):6-12. doi: 10.17691/stm2020.12.6.01. (In Russian)
17. Vascular Grafts Market Size, Share & Trends Analysis Report by Product, by Application (Cardiac Aneurysm, Kidney Failure, Coronary Artery Disease, by Raw Material (Polyester, Polyurethane), by Region, and Segment Forecasts, 2021-2028. Available at: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/vascular-graft-market> (accessed 12.05.2024).
18. 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: e170146. doi: 10.1002/adhm.201701461.
19. Yu J., Wang A., Tang Z., Henry J., Li-Ping Lee B., Zhu Y., Yuan F., Huang F, Li S. The effect of stromal cell-derived factor-1 $\alpha$ /heparin coating of biodegradable vascular grafts on the recruitment of both endothelial and smooth muscle progenitor cells for accelerated regeneration. *Biomaterials*. 2012; 33(32):8062-74. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.042.
20. Qiu X., Lee B.L., Ning X., Murthy N., Dong N., Li S. End-point immobilization of heparin on plasma-treated surface of electrospun polycarbonate-urethane vascular graft. *Acta Biomater*. 2017; 51:138-147. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.012.
21. Lee K.S., Kayumov M., Emechebe G.A., Kim D.W., Cho H.J., Jeong Y.J., Lee D.W., Park J.K., Park C.H., Kim C.S., Obiweluzor F.O., Jeong I.S. A Comparative Study of an Anti-Thrombotic Small-Diameter Vascular Graft with Commercially Available e-PTFE Graft in a Porcine Carotid Model. *Tissue Eng Regen Med*. 2022; 19(3):537-551. doi: 10.1007/s13770-021-00422-4.

**Для цитирования:** Сенюкова Е.А., Кривкина Е.О., Акентьева Т.Н., Глушкова Т.В., Кошелев В.А., Ханова М.Ю., Антонова Л.В. Тканеинженерный протез кровеносного сосуда: оценка качества материала и функциональной активности тромбогенного лекарственного покрытия. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3): 193-201. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-193-201

**To cite:** Senokosova E.A., Krivkina E.O., Akentyeva T.N., Glushkova T.V., Koshelev V.A., Khanova M.Yu., Antonova L.V. Tissue-engineered vascular graft: assessment of material quality and activity of anti-trombogenic coating. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3): 193-201. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-193-201