



УДК 616.13-77:577.11

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-4-90-103

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРЕКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ ПРОТЕЗОВ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ МАЛОГО ДИАМЕТРА НА МОДЕЛИ ПРИМАТА

Е.А. Сенокосова, Е.О. Кривкина, А.В. Миронов, Е.С. Сардин, Т.Ю. Сергеева,

В.Г. Матвеева, М.Ю. Ханова, Е.А. Торгунакова, 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

• Разработан эффективный тканеинженерный полимерный сосудистый протез малого диаметра. Преклинические испытания новых протезов проведены на модели приматов. Спустя 6 мес. после имплантации проходимость сосудистых протезов составила 83,3%, признаков аневризмообразования и выраженного воспаления не обнаружено. Ремоделирование сосудистых протезов сопровождалось образованием неоинтимы, выстланной эндотелием, и неоадвентиции наряду с высокой сохранностью полимерного каркаса изделия.

Цель

Преклинические испытания тканеинженерных протезов сосудов малого диаметра на модели приматов с последующей оценкой проходимости и эффективности ремоделирования.

Материалы и методы

Сосудистые протезы изготовлены из полимерной композиции поликапролактона и полиуретана с комплексом проангиогенных факторов методом эмульсионного электроспиннинга. На внутренней поверхности протеза сформировано гидрогелевое покрытие с илопростом и гепарином. Протезы имплантированы в бедренную артерию взрослым самцам павианов на 6 мес. Проведено ультразвуковое исследование проходимости через 5 сут, 1, 3 и 6 мес. после имплантации. Выполнены стереомикроскопия, сканирующая электронная микроскопия, гистологическое и иммунофлуоресцентное исследование эксплантационных образцов протезов.

Результаты

Прходимость сосудистых протезов спустя 6 мес. с момента имплантации составила 83,3%. Доказано отсутствие аневризм и стенозов на всем сроке наблюдения. Эксплантационные сосудистые протезы были окружены тонкой васкуляризованной соединительнотканной капсулой. Через 6 мес. полимерные каркасы протезов не имели выраженной биорезорбции. Во всех проходимых протезах отмечено наличие неоинтимы толщиной 192,9 (138,4; 258,1) мкм, неоадвентиции толщиной 233,2 (188,1; 510,4) мкм и сплошного эндотелиального монослоя на всем протяжении протезов со стороны просвета.

Заключение

Через 6 мес. после имплантации сосудистых протезов в бедренные артерии павианов констатированы их проходимость в 83,3% случаев и формирование во всех проходимых протезах элементов новообразованной сосудистой ткани с функционально активным эндотелиальным монослоем. Признаков сопутствующего воспаления, кальцификации и аневризмообразования не выявлено.

Ключевые слова

Сосудистый протез малого диаметра • Электроспиннинг • Полиуретан • Поликапролактон • Павианы

Поступила в редакцию: 11.07.2024; поступила после доработки: 26.08.2024; принята к печати: 11.09.2024

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

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

RESULTS OF PRECLINICAL TESTS OF SMALL-DIAMETER TISSUE ENGINEERED VASCULAR GRAFTS ON THE PRIMATE MODEL

E.A. Senokosova, E.O. Krivkina, A.V. Mironov, E.S. Sardin, T.Yu. Sergeeva,

V.G. Matveeva, M.Yu. Khanova, E.A. Torgunakova, 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

- Following the development of an effective small-diameter tissue engineered vascular grafts, we have conducted preclinical tests of the new product on a primate model. 6 months after implantation, the patency of vascular grafts was 83.3%, there were no signs of aneurysm formation and pronounced inflammation. Remodeling of vascular grafts was accompanied by the formation of a neointima lined with endothelium and neoadventitia, whereas the integrity of the polymer frame remained high.

Aim

To conduct preclinical tests of the small-diameter tissue engineered vascular grafts on a primate model with subsequent assessment of patency and remodeling.

Methods

We created vascular grafts using a polymer composition of polycaprolactone and polyurethane with proangiogenic factors by emulsion electrospinning. On the inner surface, we formed a hydrogel coating consisting of iloprost and heparin. The obtained grafts were implanted into the femoral artery of adult male baboons for 6 months. After 5 days, 1, 3 and 6 months of implantation we performed ultrasound examination to assess patency. Moreover, we performed stereomicroscopy, scanning immunofluorescence staining of explanted samples. Statistical data processing was carried out using the GraphPad Prism 8 software.

Results

The patency of vascular grafts after 6 months of implantation was 83.3%. The examinations of the samples confirmed the absence of aneurysms and stenoses during the entire follow-up period. Upon inspection, we noted that the explanted grafts were surrounded by a thin vascularized connective tissue capsule. 6 months after implantation, the polymer scaffolds of the grafts did not have pronounced bioresorption. We observed a neointima with a thickness of 192.9 (138.4; 258.1) microns, a neoadventitia with a thickness of 233.2 (188.1; 510.4) microns and a continuous endothelial monolayer on the lumen side in all patent grafts.

Conclusion

The grafts retained patency in 83.3% of cases 6 months after implantation into the femoral arteries of baboons. Moreover, all patent grafts showed the formation of neointima and neoadventitia with a functionally active endothelial monolayer. There were no signs of concomitant inflammation, calcification or aneurysms.

Keywords

Small diameter vascular grafts • Electrospinning • Polyurethane • Polycaprolactone • Baboons

Received: 11.07.2024; received in revised form: 26.08.2024; accepted: 11.09.2024

Список сокращений

УЗИ – ультразвуковая диагностика PU – полиуретан
PCL – поликапролактон

Введение

Отсутствие эффективной альтернативы аутологичным трансплантатам для реконструкции кровеносных сосудов малого диаметра (менее 6 мм) остается серьезной проблемой [1]. Коммерчески доступные полимерные (Gortex, Dacrone, ePTFE) и биологические сосудистые (Artegraft®, ProCol®, Omniflow II®) протезы, применяемые при хирургическом лечении сосудов диаметром более 6 мм и

формировании шунтов для диализа, в экспериментах на протезировании сосудов диаметром менее 6 мм, подвергались стремительному тромбообразованию наряду со многими другими осложнениями [2–6]. Тканевая сосудистая инженерия обладает большим многообразием материалов и методов, которые могут быть успешно использованы для создания новых тканезаменяющих изделий, в том числе для прототипов протезов кровеносных сосудов малого

диаметра. Такие протезы должны обладать высокой гемо- и биосовместимостью, регулируемые физико-механическими характеристиками и деградацией, структурой стенки, привлекательной для заселения собственными клетками организма, и проангиогенной функциональной активностью для гармоничного ремоделирования после имплантации в сосудистое русло [6, 7].

Собственный 15-летний опыт работы в области разработок тканеинженерных полимерных сосудистых протезов малого диаметра под руководством академика РАН Леонида Семеновича Барбараша включил в себя комплекс приобретенных знаний – от подбора материалов для основы изделия, методов его модифицирования для наделения протеза функциональной активностью до особенностей тестирования конечного изделия на разных животных моделях [8–12]. В итоге была разработана новая технология создания универсального бесклеточного сосудистого протеза диаметром 4 мм и менее, способная преодолеть ряд проблем, сопровождающих кандидатные протезы сосудов малого диаметра. Согласно данной технологии, каркас протеза состоит из биодеградируемого поликапролактона (PCL) и термопластичного полиуретана (PU), которые призваны обеспечить длительную устойчивость к аневризмообразованию в условиях постепенного ремоделирования сосудистой стенки протеза. Предполагается, что инкорпорирование в полимерное волокно каркаса комплекса ростовых факторов (growth factors mix (GFmix) – сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), основного фактора роста фибробластов (bFGF) и хемоаттрактантной молекулы (SDF-1a) – окажет проангиогенный эффект. Гидрогелевое лекарственное покрытие на внутренней поверхности протеза, содержащее антиагрегант иломедин (Ilo) и антикоагулянт нефракционированный гепарин (Hep), защитит сосудистый протез от раннего тромбоза. В конечном итоге слаженное функционирование многокомпонентного протеза в составе сосудистого русла будет способно увеличить шансы высокой проходимости в долгосрочном периоде [13].

Цель исследования – преклинические испытания тканеинженерных протезов сосудов малого диаметра на модели приматов с последующей оценкой проходимости и эффективности ремоделирования.

Материалы и методы

Изготовление протезов сосудов PCL/PU/GFmix/Ilo/Hep

Протезы изготавливали методом эмульсионного электроспиннинга на аппарате Nanop-01A (MECC, Япония) из единого раствора, состоящего из 5,2% эластомера ϵ -поликапролактона (440744, Sigma-Aldrich, США), 3,25% термопластичного полиуретана (EG80-A, Lubrizol Advanced Materials, США), 0,65% плуроника (F-127, Sigma-Aldrich, США),

комплекса вводимых одновременно проангиогенных ростовых факторов в конечной концентрации 10 мкг/мл каждого: фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor / VEGF, PSG010-100, ООО «СайСтопЛаб», Россия), фактора роста фибробластов (fibroblast growth factor / bFGF, PSG060-100, ООО «СайСтопЛаб») и хемоаттрактантной молекулой SDF-1a (stromal cell-derived factor-1 / SDF-1a, SRP3276, Sigma-Aldrich, США). В роли растворителя выступил хлороформ (АО «Вектон», Россия). Параметры электроспиннинга: напряжение 22 кВ, скорость вращения коллектора 200 об/мин, скорость подачи раствора 0,5 мл/ч, время очистки иглы 30 с, расстояние от иглы до намоточного коллектора 15 см. Диаметр намоточного коллектора составил 3,0 и 3,5 мм. После высыхания на поверхности трубчатых каркасов PCL/PU/GFmix формировали гидрогелевое покрытие из 10% водного раствора поливинилпирролидона (PVP, PanReas AppliChem, Испания). Образцы выдерживали в приготовленном растворе в течение 30 мин с дальнейшим удалением излишнего PVP до освобождения внутреннего просвета от раствора PVP с последующим 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 5 МэВ мощностью 50 кВт (Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Россия). Стоит отметить, что применение данного облучения позволило осуществить одновременную полимеризацию PVP к протезам и стерилизацию образцов. Далее в стерильных условиях к поверхности протезов PCL/PU/GFmix/PVP методом комплексообразования присоединяли антиагрегант илопрост (Ilo, VENTAVIS, BERLIMED S.A., Испания) и нефракционированный гепарин (Hep, ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия), выдерживая протезы в течение 30 мин в глициновом растворе pH 2,3–2,6, содержащем вышеуказанные лекарственные препараты в концентрациях 0,4 мкг/мл и 125 МЕ/мл соответственно. После высушивания получали сосудистые протезы PCL/PU/GFmix/Ilo/Hep. Функциональная активность данного лекарственного доказана в исследовании *in vitro* [14].

Имплантация сосудистых протезов PCL/PU/GFmix/Ilo/Hep в бедренную артерию приматов

Преклинические испытания разработанных протезов сосудов на модели приматов-гамадрилов (*Papio hamadryas*) возрастом от 9 до 17 лет и весом от 18 до 38 кг одобрены локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ г. Кемерово (выписка из протокола № 5 от 10.04.2023).

Для имплантации протезов использована бе-

дренная артерия павианов с учетом минимальной угрозы риска глобальной ишемии конечности в случае тромбоза просвета протеза. Для исследования павианы были отобраны заранее методом ультразвуковой диагностики (УЗИ) при помощи диагностической медицинской системы Vivid E95 (GE Vingmed Ultrasound AS, Норвегия): определен диаметр бедренных артерий каждого. Сосудистые протезы готовились индивидуально под каждого павиана, чтобы в процессе имплантации не столкнуться с несоответствием диаметров протеза и артерии, что могло спровоцировать тромбоз протеза.

До операции животных содержали в индивидуальных клетках в отдельном изоляторе. Последнее кормление животных перед операцией проводили накануне вечером. Премедикацию выполняли препаратом золетил в объеме 0,5 мл. Содержание животных в индивидуальных клетках с выдвижным механизмом, позволяющим прижимать животное к передней стенке клетки во время манипуляций, позволило выполнять инъекции как в пред-, так и в послеоперационном периоде без предварительной седации.

Сосудистые протезы PCL/PU/GFmix^{/llo/Her} диаметром 3,0–3,5 мм длиной 3,0–4,5 см были имплантированы в бедренные артерии взрослых самцов павианов-гамадрилов по схеме «1 животное – 1 протез». Всего имплантировано 6 протезов.

Анестезиологическое пособие: премедикация – золетил 1,0 мл в/м. Интубация трахеи эндотрахеальной трубкой диаметром 7,0. Поддержание наркоза – севоран 1,2–1,4 об %. Мониторинг: артериальное давление, частота сердечных сокращений и дыхания, SpO₂.

Основной этап имплантации: доступ к бедренной артерии; системная гепаринизация 3000–5 000 ЕД в/в; пережатие бедренной артерии, резекция выделенного сегмента под углом 45°. Имплантация протеза сосуда по типу «конец в конец» отдельными узловыми швами проксимально, а затем дистально нитью Prolene 8/0 (Ethicon, США). Стандартный протокол профилактики воздушной эмболии и запуск кровотока; ушивание раны нитью Vicril 3,0 + 2,0 (Ethicon, США); обработка шва кожным антисептиком, эниксум подкожно 4 000 анти-Ха МЕ/0,2 мл; экстубация.

Интраоперационное медикаментозное ведение: инфузия 0,9% NaCl 900 мл – в/в капельно; цефтриаксон 1,0 г – в/в капельно.

Послеоперационное медикаментозное ведение: цефтриаксон 1,0 г 2 раз/сут в/м – 7 сут; эниксум подкожно 2 000 анти-Ха МЕ/0,2 мл в течение 30 дней; клопидогрел 75 мг перорально – 30 дней. Послеоперационное УЗИ проходимости имплантированных сосудистых протезов выполняли спустя 5 сут, 1, 3 и 6 мес. с момента имплантации.

После оперативного вмешательства и весь по-

следующий период наблюдения приматов содержали в индивидуальных клетках в условиях одного изолятора. Клопидогрел подмешивали в еду и контролировали его полный прием животным.

Эксплантированные образцы протезов и нативные контрлатеральные участки бедренных артерий павианов (контроль) помещали в (pH 7,4) 10% забуференный формалин (B06-001/M, BioVitrum, Россия) для гистологического окрашивания и сканирующей электронной микроскопии и далее хранили при комнатной температуре. Образцы для конфокальной микроскопии помещали в жидкий азот с дальнейшим хранением при –140 °С до момента проведения исследования.

Стереомикроскопия эксплантированных сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{/llo/Her}

Макроскопический анализ протезов PCL/PU/GFmix^{/llo/Her} до и после 6 мес. имплантации проведен на стереомикроскопе SZ51 (Olympus, Япония) при увеличении × 8 и × 10.

Гистологическое исследование эксплантированных образцов

Эксплантированные образцы протезов сосудов фиксировали в (pH 7,4) 10% забуференном формалине (B06-001/M, BioVitrum, Россия) в течение 24 ч, затем промывали проточной водой для удаления фиксирующего раствора. Далее образцы обезживали в 6 порциях IsoPrep (06-002/M, BioVitrum, Россия) по 30 мин в каждой порции, оставляли в последней порции на ночь. Затем пропитывали образцы тремя порциями парафина при 56 °С в течение 60 мин в каждой порции. Пропитанные образцы заливали гистомиксом (247, BioVitrum, Россия). Далее изготавливали срезы толщиной 8 мкм с помощью микротомы (HM 325, Thermo Scientific, США) и помещали их на предметные стекла (10138105PB, BioVitrum, Россия), сушили в суховоздушном термостате (ТВ-80-1, АО «ГРПЗ», Россия) в течение ночи при 37 °С. После полного высыхания образцы депарафинизировали в трех порциях о-ксилола (103118, АО «ЛенРеактив», Россия) в течение 1–2 мин и дегидратировали в трех порциях 96% спирта в течение 1–2 мин. Далее срезы окрашивали гематоксилин-эозином путем их помещения в раствор гематоксилина Гарриса (05-004, BioVitrum, Россия) на 3 мин с последующей промывкой образцов в проточной воде 3–5 мин для подсинения. Далее срезы погружали в водно-спиртовой раствор эозина (05-011/L, BioVitrum, Россия) на 2 мин и промывали в дистиллированной воде 1 мин. После срезы дегидратировали в серии спиртов от 70 до 96% по 10–20 секунд в каждой порции. Просветление срезов проводили в о-ксилоле 3 мин. Присутствие аморфного кальция или его кристаллических фракций определяли при помощи окрашивания образцов

ализариновым красным С (011043ЛР, «Алькор», Россия). Стекла со срезами эксплантированных образцов погружали в 2% водный раствор ализаринового красного С на 70 секунд, промывали в трех порциях дистиллированной воды, затем проводили окрашивание ядер клеток флюоресцентным красителем Dapi (BMD0015, Sigma-Aldrich, США) 10 мкг/мл в течение 30 мин в темноте. Далее образцы отмывали в трех порциях дистиллированной воды. На последнем этапе после всех видов окрашивания срезы заключали в монтирующую среду «Витрогель» (12-005, BioVitrum, Россия) и исследовали методом световой микроскопии с использованием микроскопа AXIO Imager A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении объективов: $\times 10$, $\times 20$.

Сканирующая электронная микроскопия образцов

Образцы эксплантированных протезов PCL/PU/GFmix^{1/10/Нер} и нативные контрлатеральные участки бедренной артерии павиана фиксировали в забуференном (pH 7,4) 10% водном растворе формалина (B06-001/М, BioVitrum, Россия). После суточной фиксации в формалине (2 смены раствора формалина по 12 ч каждая) биоматериал постфиксировали 1% тетраоксидом осмия (7563, Sigma-Aldrich, США) в 0,1М фосфатном буфере (10010001, Gibco, США) в течение 12 ч, затем окрашивали 2% тетраоксидом осмия в бидистиллированной воде в течение 48 ч. Далее образцы обезжизивали в серии спиртов возрастающей концентрации (50, 60, 70, 80 и 95% этанол, все по две смены, каждая смена по 15 мин), окрашивали 2% уранилацетатом (Electron Microscopy Sciences, США) в 95% этаноле (5 ч), обезжизивали 99,7% IsoPrep (06-002/М, BioVitrum, Россия) в течение 5 ч и ацетоном (ОКП241811О-НО, «Реахим», Россия) в течение часа, пропитывали смесью ацетона с эпоксидной смолой Epon (14910, Electron Microscopy Sciences, США) в соотношении 1:1 (6 ч). После этого образцы переносили в свежую порцию эпоксидной смолы (на 24 ч) и далее проводили ее полимеризацию в емкостях FixiForm (40300085, Electron Microscopy Sciences, США) при 60 °С. Затем образцы в эпоксидных блоках подвергали шлифовке и полировке на установке TegraPol-11 (60799, Struers, США). Далее выполняли контрастирование образцов цитратом свинца по Рейнольдсу в течение 7 мин путем нанесения раствора на поверхность шлифованного образца с последующей его отмывкой бидистиллированной водой. После этого проводили напыление на полированную поверхность эпоксидных блоков углерода (толщина покрытия 10–15 нм) с помощью вакуумного напылительного поста (EM ACE200, Leica, Германия). Визуализацию структуры поверхности образцов выполняли в процессе сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах на электронном микроскопе

(S-3400N, Hitachi, Япония) в режиме BSECOMP при ускоряющем напряжении 10 кВ.

Конфокальная микроскопия образцов

Для иммунофлуоресцентного исследования из эксплантированных протезов и контрлатеральной бедренной артерии изготавливали криосрезы при помощи криотома (Microm HM 525, Thermo Scientific, США) толщиной 8 мкм и помещали на предметные стекла с адгезивным покрытием из поли-L-лизина (HDAS002A-W/45, JiangSu Huida Medical Instruments Co., Китай). Полученные препараты фиксировали в 4% растворе параформальдегида в течение 10 мин, затем проводили окрашивание специфическими первичными кроличьими антителами к коллагену IV типа (1:200, ab6586, Abcam, Великобритания) и мышинными антителами к коллагену I типа (1:1000, ab 6308, Abcam, Великобритания), овечьими антителами к фактору фон Виллебранда (vWF, 1:100, ab 8822, Abcam, Великобритания) и мышинными антителами к CD31 (1:100, ab 119339, Abcam, Великобритания), а также мышинными антителами к α -актину (1:0000, ab7817, Abcam, Великобритания) и кроличьими антителами к виментину (vimentin; 1:100, ab925547, Abcam, Великобритания). В течение ночи срезы инкубировали с первичными антителами при температуре 4 °С, после этого проводили окрашивание вторичными антителами осла к IgG кролика, конъюгированными с Alexa Fluor 488-conjugated (1:500, 21206, Thermo Fisher, США), и антителами осла к IgG мыши, конъюгированными с Alexa Fluor 555-conjugated (1:500, 31570, Thermo Fisher Scientific, США). Инкубацию со вторичными антителами проводили в течение 2 ч при комнатной температуре. После каждого этапа окрашивания препараты тщательно промывали фосфатно-солевым буфером с добавлением 0,1% Tween (P9416, Sigma-Aldrich, США). Для контрастирования ядер клеток образцы инкубировали с красителем DAPI (10 мкг/мл, D9542, Sigma-Aldrich, США) в течение 40 мин. Для избавления от автофлуоресценции окрашенные срезы обрабатывали Au-tofluorescence Eliminator Reagent (3384870, Millipore, США) по методике производителя. Завершающим этапом препараты заключали под покровное стекло с использованием монтирующей среды ProLong (2690611, Thermo Fisher, США) и анализировали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе (LSM 700, Carl Zeiss, 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 дан-

ные представлены в виде медианы и квартильного размаха (Me (Q1; Q3)).

Результаты

Хирургические свойства сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{IIo/Her}, имплантация и послеоперационный мониторинг проходимости

Протез кровеносного сосуда PCL/PU/GFmix^{IIo/Her} представлял собой гибкую, упругую и в то же время плотную трубку (рис. 1). Протезом было удобно манипулировать в перчатках без эффекта скольжения. Стенка изделия без излишних усилий поддавалась сечению ножницами и корректировке необходимой формы для последующего создания анастомозов.

При имплантации сосудистого протеза PCL/PU/GFmix^{IIo/Her} отмечено, что его стенка податлива и

легко прокалывалась иглой нити Prolene 8.0 без разрыва, прорезывания и расслоения изделия. В зонах анастомозов стенки протеза плотно прилегали к протезируемой артерии, не деформируя последнюю. После имплантации и запуска кровотока просачивание крови через стенку протеза купировалось в течение минуты. Протез обладал комплаентностью, вызванной пульсовой волной тока крови. Этапы имплантации протеза в бедренную артерию павиана представлены на рис. 2.

По результатам УЗИ через 5 сут после имплантации PCL/PU/GFmix^{IIo/Her}-протезов выявлена 100% проходимость. Спустя месяц проходимость снизилась до 83,3% (зафиксирован один случай тромбоза протеза) и не изменилась через 6 мес. после имплантации. На протяжении всего наблю-

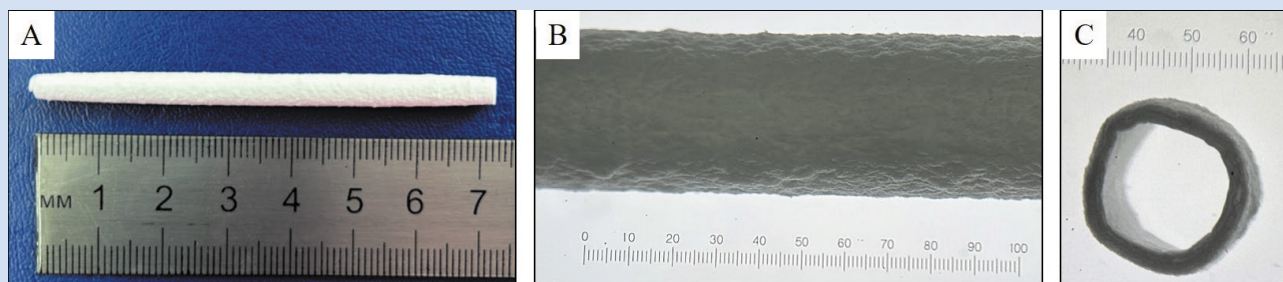


Рисунок 1. Сосудистый протез PCL/PU/GFmix^{IIo/Her}: *A* – общий вид изделия; *B* – стереомикроскопия внешней поверхности протеза при увеличении $\times 8$; *C* – стереомикроскопия поперечного среза протеза при увеличении $\times 10$

Figure 1. PCL/PU/GFmix^{IIo/Her} vascular graft: *A* – general view of the product; *B* – stereomicroscopy of the external surface of the graft at magnification $\times 8$; *C* – stereomicroscopy of the cross-section of the graft at magnification $\times 10$

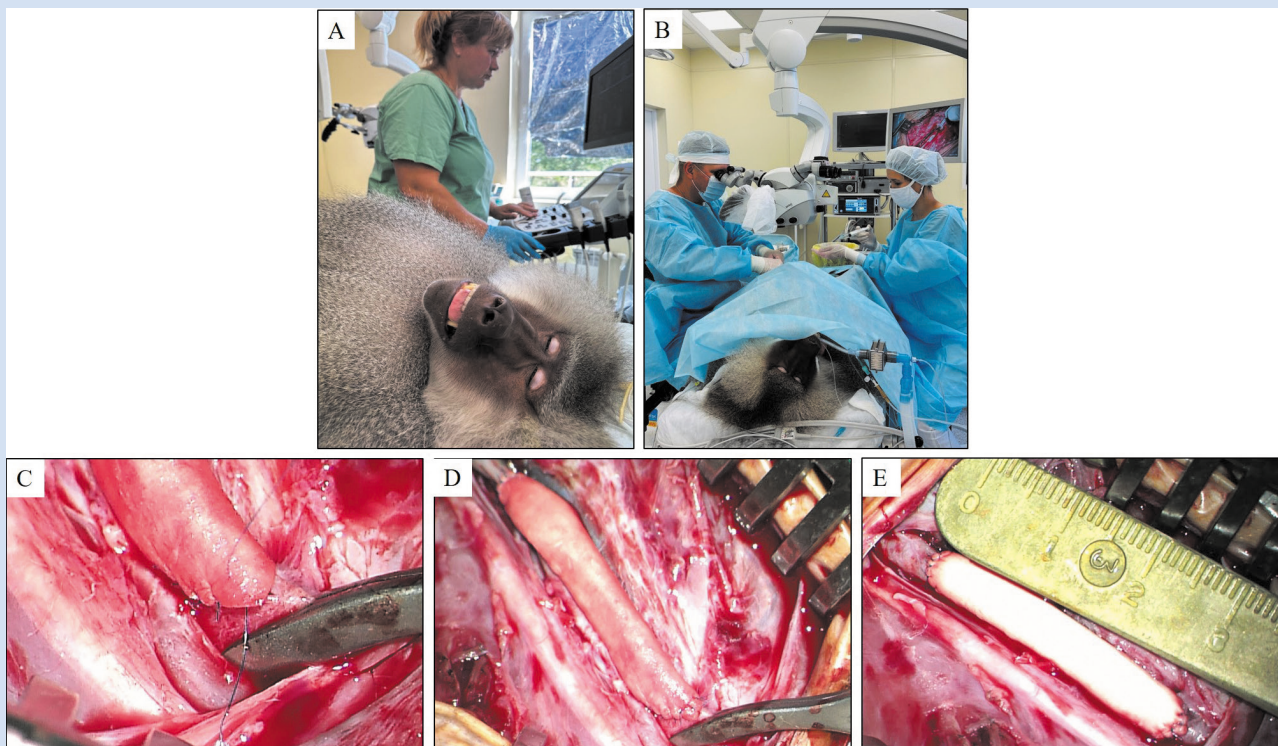


Рисунок 2. Имплантация сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{IIo/Her} в бедренную артерию павиана: *A* – проведение УЗИ; *B* – операция с применением микрохирургической стойки; *C* – формирование анастомоза; *D* – имплантированный протез до пуска кровотока; *E* – имплантированный протез после пуска кровотока

Figure 2. Implantation of a PCL/PU/GFmix^{IIo/Her} vascular graft into the femoral artery of a baboon: *A* – ultrasound; *B* – surgery using microsurgical instruments; *C* – formation of an anastomosis; *D* – implanted graft before starting blood flow; *E* – implanted graft after starting blood flow

дения признаков образования аневризм и стенозов в проекции проходимых протезов не выявлено. Динамика проходимости сосудистых протезов изображена на рис. 3.

Результаты стереомикроскопии эксплантированных сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep}

Сосудистые протезы PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep}, эксплантированные из бедренных артерий павианов спустя 6 мес. с момента имплантации, были окутаны тонкой, мягкой, васкуляризированной соединительнотканной капсулой. Протезы сохранили упругость и напоминали нативную ткань. Неинтима проходимых протезов (5 из 6) равномерная, гладкая без признаков пристеночных тромбов, просвет не сужен. В просвете тромбированного протеза (1 из 6) обнаружен организованный тромб, стенки данного протеза с признаками незначительного набухания. Стереомикроскопия сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep} до и после имплантации представлена на рис. 4.

Результаты гистологического исследования и сканирующей электронной микроскопии эксплантированных сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep}

На основании результатов гистологического исследования эксплантированных проходимых сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep} выявлено, что спустя 6 мес. после имплантации в бедренную артерию павианов полимерные каркасы протезов подверглись незначительной биodeградации, выступив основой для формирования новообразованной трехслойной сосудистой ткани толщиной 1 130,3 мкм. Сформированы неоинтима толщиной 192,9 (138,4; 258,1) мкм и неоадвентиция толщиной 233,2 (188,1; 510,4) мкм. В роли медики выступили сами

полимерные каркасы протезов толщиной 704,2 (509,9; 856,3) мкм, в структуре которых обнаружены единичные продольные тяжи коллагеновых волокон, скудное количество макрофагов, фибробластоподобных клеток и клеток инородного тела. Эластин отсутствовал. Со стороны сосудистого просвета неоинтима покрыта монослоем вытянутых эндотелиоподобных клеток. Неоадвентиция сформирована коллагеновыми тяжами, разными по плотности упаковки, содержала в своем составе фибробластоподобные и гигантские многоядерные клетки, vasa vasorum. Признаки воспаления и кальцификации стенки проходимых протезов отсутствовали. Полимерный каркас тромбированного сосудистого протеза PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep} был также практически полностью сохранен спустя 6 мес. после имплантации, отложения кальциевых элементов и воспалительной инфильтрации не выявлено (рис. 5).

Результаты иммунофлуоресцентного исследования эксплантированных сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep}

Эндотелиальные маркеры

Спустя 6 мес. после имплантации протезов PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep} в бедренную артерию павианов на всем протяжении внутренней поверхности проходимых протезов (5 из 6) обнаружена равномерная тонкая неоинтима, выстланная непрерывным мо-

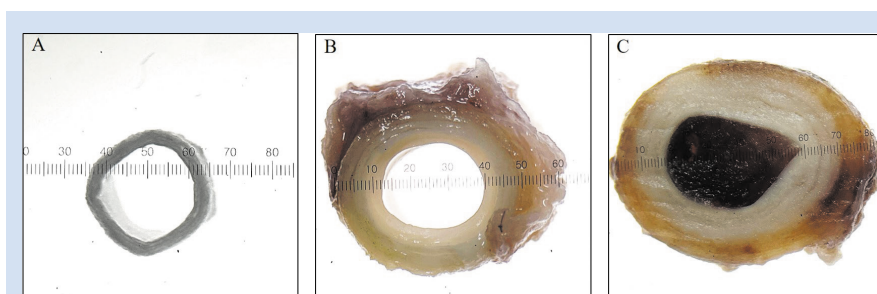


Рисунок 4. Стереомикроскопия сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep}: A – до имплантации; B – проходимый протез через 6 мес. после имплантации; C – тромбированный протез через 6 мес. после имплантации. Увеличение $\times 10$

Figure 4. Stereomicroscopy of PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep} vascular grafts: A – before implantation; B – a patent graft after 6 months of implantation; C – a thrombosed graft after 6 months of implantation. Magnification $\times 10$

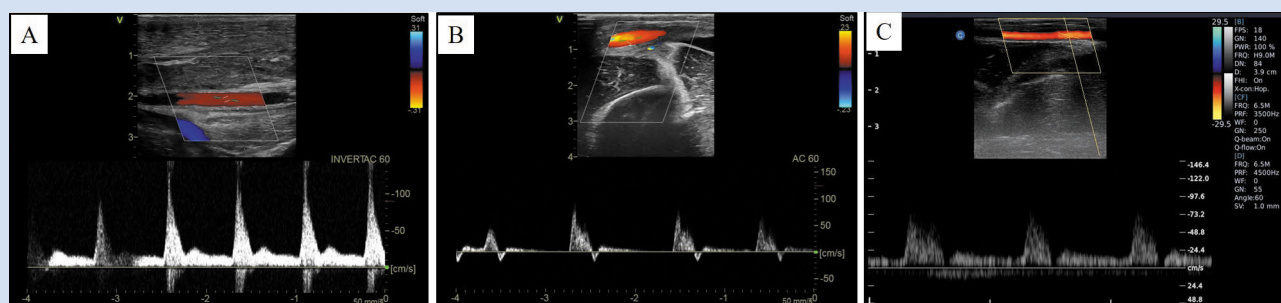


Рисунок 3. Результаты ультразвукового исследования проходимости сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep} на разных сроках имплантации: A – спустя 5 сут; B – спустя 1 мес.; C – спустя 3 мес.

Figure 3. Results of ultrasound examination of the patency of PCL/PU/GFmix^{Allo/Hep} vascular grafts at different periods of implantation: A – after 5 days; B – after 1 month; C – after 3 months

нослоем зрелых эндотелиальных клеток CD31⁺, синтезирующих vWF. В тромбированном протезе (1 из 6) отсутствовали сформированные компоненты неоинтимы (рис. 6).

Гладкомышечный и мезенхимальный маркеры

На поверхности неоинтимы со стороны про- света проходимых протезов через 6 мес. после имплантации обнаружены клетки, в которых присутствовал виментин, распределение экспрессии данного маркера было схожим с нативной артерией (рис. 7). Толща неоинтимы проходимых протезов также содержала виментин в умеренном количестве и А-актин. Ожидаемо такими характеристиками не обладал тромбированный протез.

Коллагены I и IV типов

Коллаген IV типа в качестве базальной мем- браны на поверхности неоинтимы присутствовал во всех проходимых протезах, также его наличие зафиксировано в неоадвентиции. Коллаген I экс- прессировался на участках разной интенсивности в неоинтимае и неоадвентиции (рис. 8).

Обсуждение

Тканеинженерный сосудистый протез малого диаметра должен обладать схожими с нативной ар- терией биомеханическими свойствами для обеспе- чения комплаенса в гемодинамических условиях и предупреждения гиперплазии неоинтимы. Данные свойства можно отрегулировать подбором сочета- ния полимерной составляю- щей и способа изготовления материала. Низкая скорость кровотока и более высокое со- противление в малокалибер- ных сосудах формируют риски раннего тромбообразования протеза в данной проекции им- плантации, что является основ- ной проблемой в клинической практике и прослеживается при тестировании прототипов сосудистых протезов малого диаметра на крупной животной модели [15]. Поэтому модифи- цирование полимерных протез- ов с целью снижения тромбо- генности материала находится в тренде разработок [16–18]. Часто для этих целей использу- ют гепарин [19, 20]. Выбор жи- вотной модели вносит весомый вклад в результаты исследова- ния. Наш путь тестирования протезов кровеносных сосу- дов начинался с имплантации

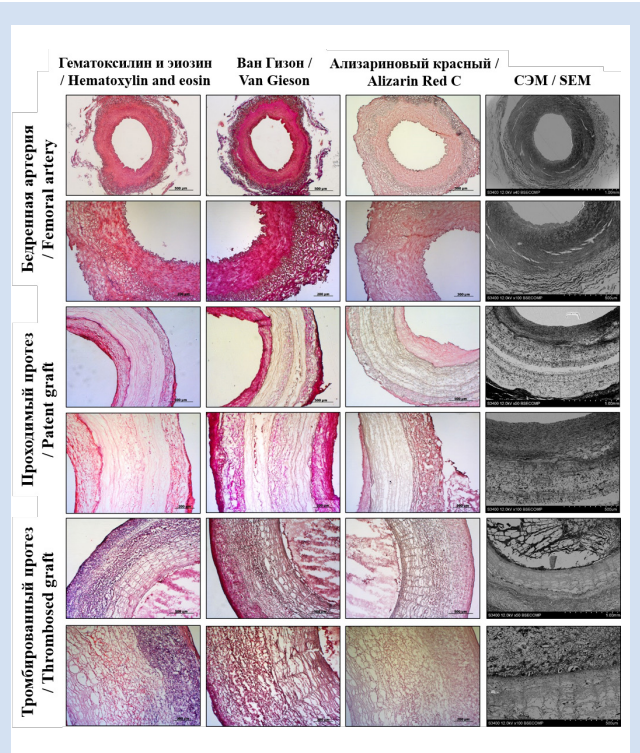


Рисунок 5. Результаты гистологического исследования и сканирующей электронной микроскопии эксплантированных сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{/llo/Hep}. Линейка = 500 и 200 мкм для изображений с окраской гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, ализариновым красным С; 1,0 и 500 мкм для изображений СЭМ

Figure 5. The results of histological examination and scanning electron microscopy of explanted PCL/PU/GFmix^{/llo/Hep} vascular grafts. Scale bar = 500 microns and 200 microns for images with hematoxylin and eosin, Van Gieson, Alizarin Red C; 1.0 mm and 500 microns for images of SEM

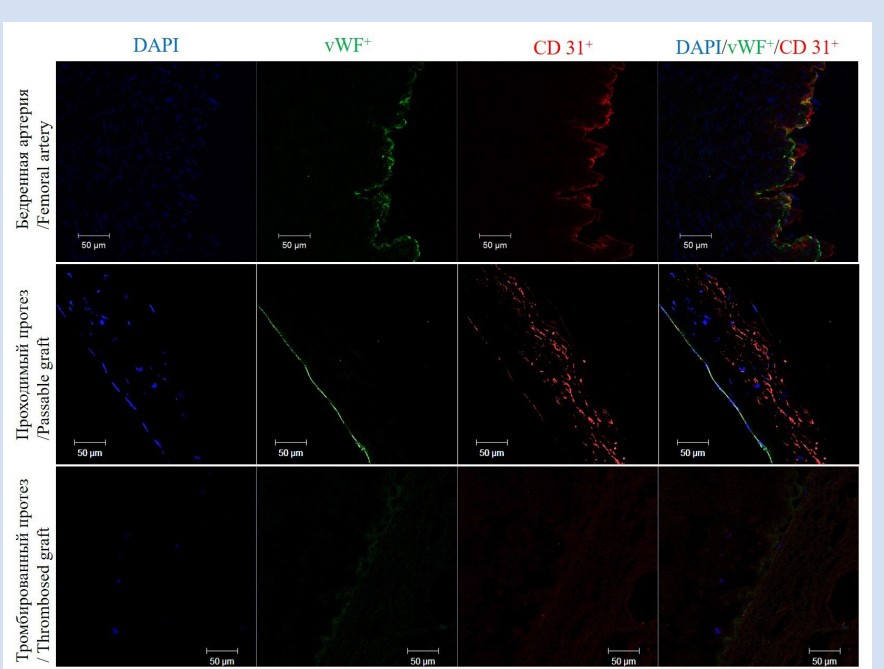


Рисунок 6. Результаты иммунофлуоресцентного исследования сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{/llo/Hep} на маркеры зрелых эндотелиальных клеток фактор Виллебранда vWF (зеленое свечение) и CD31⁺ (красное свечение), ядра клеток окрашены DAPI (синее свечение). Линейка = 50 мкм

Figure 6. Results of immunofluorescence examination of PCL/PU/GFmix^{/llo/Hep} vascular grafts for markers of Willebrand factor vWF (green glow) and mature endothelial cells CD31⁺ (red glow), cell nuclei stained with DAPI (blue glow). Scale bar = 50 microns

ORIGINAL STUDIES

протезов диаметром 1,5–2,0 мм в брюшную часть аорты крыс: получали высокую проходимость, скорую эндотелизацию при условии минимального модифицирования, предполагающего только факторы роста либо поверхностную иммобилизацию RGD-пептидов [11, 21]. С переходом на тестиро-

вание изделий на модели овцы процент проходимости разных прототипов протезов резко снизился, что привело к необходимости повышения тромборезистентных свойств протезов и изучению гемостазнологического профиля у овец на различных этапах имплантации с целью коррекции интра- и послеопе-

рационной антиагрегантной терапии [22, 23]. Также ряд исследователей сообщили о неудовлетворительных результатах тестирования своих разработок полимерных сосудистых протезов малого диаметра на модели овцы, связанных с тромбозами и аневризмами [24, 25]. G. Soldani и соавт. указали на высокую проходимость биодеградируемых протезов диаметром 4 мм на основе полиэфируретана и полидиметилсилоксана в локации сонной артерии овцы, однако зафиксированы аневризматические расширения стенок протезов [26].

Собственная последняя разработка сосудистого протеза PCL/PU/GFmix^{llo/Hep}, предусматривающая потенциальное преодоление основных рисков по ограничению проходимости, основана на изготовлении каркаса изделия методом эмульсионного электроспиннинга из композиции взаимодополняющих полимеров (PCL и PU) с инкорпорированными проангиогенными факторами и формированием атромбогенного лекарственного покрытия.

Хирургические свойства протеза оценены действующими хирургами НИИ КПССЗ и ГБУЗ «КККД», отмечены легкость и пластичность материала, податливость его стенки на прорезывание ножницами и прокол иглой от нити при имплантации.

Долгосрочное наблюдение *in vivo* на крупных животных моделях имеет решающее значение для тестирования сосудистого протеза малого диаметра перед этапом клинического применения. Модели овцы, собаки и свиньи остаются основными вариантами выбора ито-

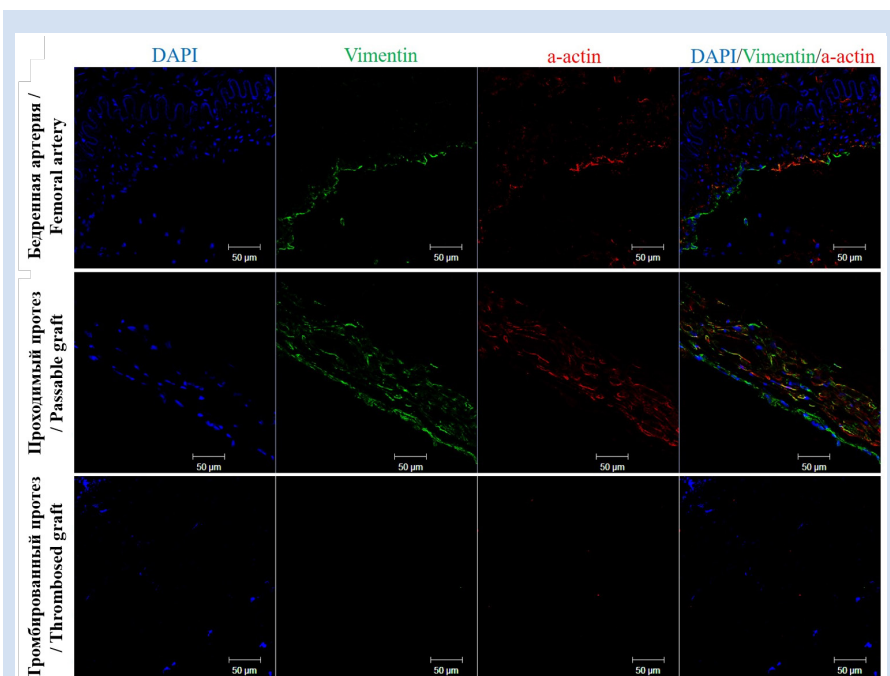


Рисунок 7. Результаты иммунофлуоресцентного исследования сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{llo/Hep} на маркеры а-актин (красное свечение) и vimentin (зеленое свечение), ядра клеток окрашены DAPI (синее свечение). Линейка = 50 мкм

Figure 7. The results of immunofluorescence examination of PCL/PU/GFmix^{llo/Hep} vascular grafts for markers a-actin (red glow) and vimentin (green glow), cell nuclei stained with DAPI (blue glow). Scale bar = 50 microns

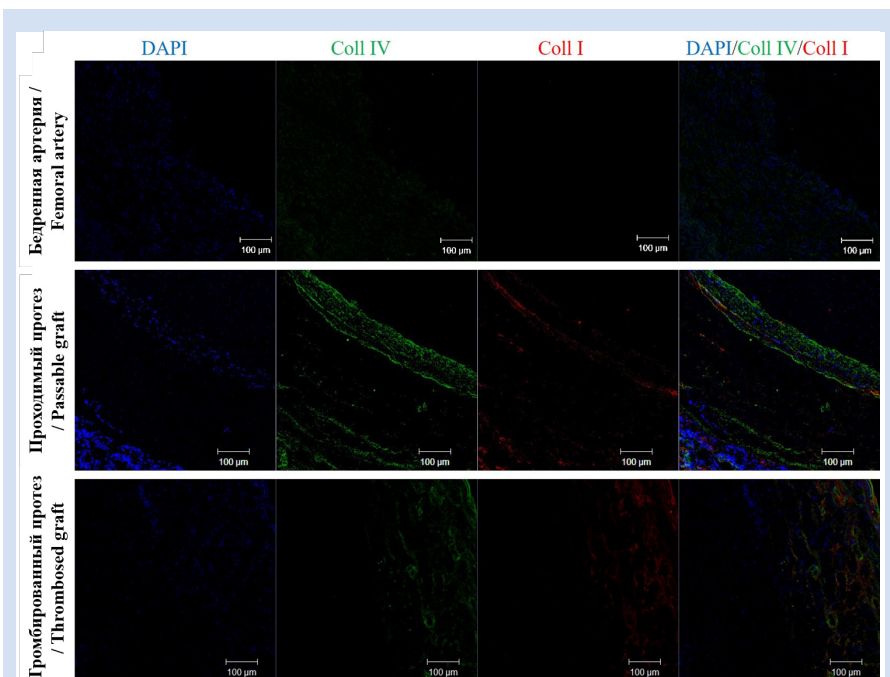


Рисунок 8. Результаты иммунофлуоресцентного исследования сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{llo/Hep} на маркеры коллагена I типа (красное свечение) и коллагена IV типа (зеленое свечение), ядра клеток окрашены DAPI (синее свечение). Линейка = 100 мкм

Figure 8. Results of immunofluorescence examination of PCL/PU/GFmix^{llo/Hep} vascular grafts for markers of type I collagen (red glow) and type IV collagen (green glow), cell nuclei stained with DAPI (blue glow). Scale bar = 100 microns

говых тестирований таких изделий [27]. Преклиническое исследование сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{IIo/Her}, проведенное на модели крупных приматов-павианов (*Papio hamadryas*), позволило оценить эффективность сосудистых протезов на модели, максимально приближенном организме к человеку. Так, основываясь на результатах УЗИ, получена 100% ранняя проходимость протезов (6 из 6), спустя 6 мес. после имплантации протезов проходимость снизилась до 83,3% (5 из 6). В сравнении с результатами экспериментов по имплантации схожих протезов в сонную артерию овцам мы добились 62,5% проходимости к концу первой недели и 50% – к концу 18-го мес. [28]. Также стоит отметить 100% устойчивость протезов сосудов к развитию аневризм на всем сроке имплантации, что было достигнуто включением полиуретана в состав полимерной композиции протезов PCL/PU/GFmix^{IIo/Her}. Эксплантированные протезы визуально напоминали нативную сосудистую ткань, анастомозы были идентифицированы только по наличию швов, пристеночных тромбов и явного сужения просвета в проходимых протезах не выявлено. Морфологическое исследование эксплантированных образцов показало высокую сохранность каркаса изделия, низкую клеточную инфильтрацию, в основном представленную фибробластоподобными клетками и макрофагами. Ремоделирование стенки протеза было направлено на формирование трехслойной структуры, присущей нативной сосудистой ткани: определены неоинтима, медиа и неoadвентиция. Внутренний просвет проходимых протезов PCL/PU/GFmix^{IIo/Her} выстлан вытянутыми эндотелиальными клетками, формировавшими сплошной монослой над вновь образованной базальной мембраной. L. Ye с соавт. также опубликовали результаты, описывающие полноценное ремоделирование малокалиберного гепаринизированного сосудистого протеза на основе PCL, с образованием трехслойной ткани, замещением полимерной матрицы на естественный матрикс без воспаления и отложения кальция в течение 511 дней имплантации в позицию брюшной аорты собаки, однако констатировано появление аневризм стенки протезов [29]. Добавление полиуретана в PCL-основу сосудистого протеза позволило успешно преодолеть проблему

аневризмообразования, усилив каркасность стенки изделия. Изучив морфологические особенности ремоделирования протезов PCL/PU/GFmix^{IIo/Her}, мы планируем сконцентрироваться на оценке генетического соответствия новообразованной сосудистой ткани относительно нативной артерии.

Заключение

Через 6 мес. после имплантации сосудистых протезов PCL/PU/GFmix^{IIo/Her} в бедренные артерии павианов констатировано формирование элементов новообразованной сосудистой ткани в зоне локализации протезов без признаков сопутствующего воспаления, кальцификации и аневризмообразования. Наглядно продемонстрирована сохранность биологической активности инкорпорированных проангиогенных факторов, что привело к появлению полноценного эндотелиального монослоя.

Конфликт интересов

Е.А. Сенокосова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.О. Кривкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Миронов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.С. Сардин заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Ю. Сергеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.Г. Матвеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Ю. Ханова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Торгунакова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Р.А. Мухамадияров заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова входит в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

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.

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

Кривкина Евгения Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного

Author Information Form

Senokosova Evgenia A., 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** 0000-0002-9430-937X

Krivkina Evgenia O., Junior Researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute

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

Сардин Егор Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории анестезиологии-реаниматологии и патофизиологии критических состояний отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4572-6385

Сергеева Татьяна Юрьевна, кандидат медицинских наук врач ультразвуковой диагностики отделения функциональной и ультразвуковой диагностики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация

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

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

Торгунакова Евгения Александровна, 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** 0009-0005-0683-991X

Мухамадияров Ринат Авахидиевич, 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

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

Sardin Egor S., Junior Researcher at Laboratory of Anaesthesia and Intensive Care and Pathophysiology of Critical Illness, Department of Heart and Vascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute of Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4572-6385

Sergeeva Tatyana Y., PhD, Ultrasound Diagnostics Specialist at the Department of Functional and Ultrasound Diagnostics, Federal State Budgetary Institution “Research Institute of Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation

Matveeva Vera G., PhD, Senior Researcher, Laboratory for 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

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

Torgunakova Evgenia A., Junior Researcher, Laboratory for Cell and Tissue Engineering, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0005-0683-991X

Mukhamadiyarov Rinat A., PhD, Senior Researcher, Laboratory for 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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

МВГ – получение данных исследования, написание 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

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

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

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

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

MVG – data collection, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

TEA – data collection, manuscript writing, 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 concept of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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. Moreno M.J., Ajji A., Mohebbi-Kalhari D., Rukhlova M., Hadjizadeh A., Bureau M.N. Development of a compliant and cytocompatible micro-fibrous polyethylene terephthalate vascular scaffold. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011; 97(2):201-214. doi: 10.1002/jbm.b.31774.
3. Кривкина Е.О., Антонова Л.В. Результаты долгосрочной проходимости биodeградируемых 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.
4. 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., Obiweulozor 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.
5. Lin C.H., Hsia K., Ma H., Lee H., Lu J.H. *In vivo* Performance of Decellularized Vascular Grafts: A Review Article. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(7):2101. doi:10.3390/ijms19072101.
6. van de Laar B.C., van Heusden H.C., Pasker-de Jong P.C., van Weel V. OmniFlow II biosynthetic grafts versus expanded polytetrafluoroethylene grafts for infrainguinal bypass surgery. A single-center retrospective analysis. *Vascular.* 2022;30(4):749-758. doi:10.1177/17085381211029815.
7. Toong D.W.Y., Toh H.W., Ng J.C.K., Wong P.E.H., Leo H.L., Venkatraman S., Tan L.P., Ang H.Y., Huang Y. Bioresorbable Polymeric Scaffold in Cardiovascular Applications. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(10):3444. doi:10.3390/ijms21103444.
8. Leal B.B.J., Wakabayashi N., Oyama K., Kamiya H., Braghirolli D.I., Pranke P. Vascular Tissue Engineering: Polymers and Methodologies for Small Caliber Vascular Grafts. *Front Cardiovasc Med.* 2021; 7:592361. doi:10.3389/fcvm.2020.592361.
9. Севостьянова В.В., Миронов А.В., Глушкова Т.В., Бураго А.Ю., Матвеева В.Г., Антонова Л.В., Кудрявцева Ю.А., Сейфалян А.М., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Регенерация кровеносного сосуда на основе графта из поликапролактона в экспериментальном исследовании. Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. 2016; 31(1): 53-57. doi:10.29001/2073-8552-2016-31-1-53-57.
10. Глушкова Т.В., Севостьянова В.В., Антонова Л.В., Клышников К.Ю., Овчаренко Е.А., Сергеева Е.А., Васюков Г.Ю., Сейфалян А.М., Барбараш Л.С. Биомеханическое ремоделирование биodeградируемых сосудистых графтов малого диаметра in situ. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2016;18(2):99-109. doi:10.15825/1995-1191-2016-2-99-109.
11. Антонова Л.В., Севостьянова В.В., Кутихин А.Г., Великанова Е.А., Матвеева В.Г., Глушкова Т.В., Миронов А.В., Кривкина Е.О., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Влияние способа модифицирования трубчатого полимерного матрикса биомолекулами bFGF, SDF-1α и VEGF на процессы формирования in vivo тканеинженерного кровеносного сосуда малого диаметра. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2018;20(1):96-109. doi:10.15825/1995-1191-2018-1-96-109.
12. Antonova L., Kutikhin A., Sevostianova V., Lobov A., Repkin E., Krivkina E., Velikanova E., Mironov A., Mukhamadiyarov R., Senokosova E., Khanova M., Shishkova D., Markova V., Barbarash L. Controlled and Synchronised Vascular Regeneration upon the Implantation of Iloprost- and Cationic Amphiphilic Drugs-Conjugated Tissue-Engineered Vascular Grafts into the Ovine Carotid Artery: A Proteomics-Empowered Study. *Polymers (Basel).* 2022; 14(23):5149. doi:10.3390/polym14235149.
13. Кудрявцева Ю.А., Овчаренко Е.А., Клышников

К.Ю., Антонова Л.В., Сенокосова Е.А., Понасенко А.В., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Биологические протезы для сердечно-сосудистой хирургии – полувекковая история и перспективы развития. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024; 13(1):196-210. doi:10.17802/2306-1278-2024-13-1-196-210.

14. Сенокосова 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 атромбогенного лекарственного покрытия. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024; 13(3): 193-201.

15. Rickel A.P., Deng X., Engebretson D., Hong Z. Electrospun nanofiber scaffold for vascular tissue engineering. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2021; 129:112373. doi:10.1016/j.msec.2021.112373.

16. Zhou S.Y., Li L., Xie E., Li M.X., Cao J.H., Yang X.B., Wu D.Y. Small-diameter PCL/PU vascular graft modified with heparin-aspirin compound for preventing the occurrence of acute thrombosis. Int J Biol Macromol. 2023; 249:126058. doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.126058.

17. Qiu S., Du J., Zhu T., Zhang H., Chen S., Wang C., Chen D., Lu S. Electrospun compliant heparinized elastic vascular graft for improving the patency after implantation. Int J Biol Macromol. 2023; 253(1):126598. doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.126598.

18. Ilanlou S., Khakbiz M., Amoabediny G., Mohammadi J., Rabbani H. Carboxymethyl kappa carrageenan-modified decellularized small-diameter vascular grafts improving thromboresistance properties. J Biomed Mater Res A. 2019;107(8):1690-1701. doi:10.1002/jbm.a.36684.

19. Zhang C., Xie Q., Cha R., Ding L., Jia L., Mou L., Cheng S., Wang N., Li Z., Sun Y., Cui C., Zhang Y., Zhang Y., Zhou F., Jiang X. Anticoagulant Hydrogel Tubes with Poly(ϵ -Caprolactone) Sheaths for Small-Diameter Vascular Grafts. Adv Healthc Mater. 2021; 10(19):e2100839. doi:10.1002/adhm.202100839.

20. Wu Y., Wagner W.D. Syndecan-4 Functionalization Reduces the Thrombogenicity of Engineered Vascular Biomaterials. Ann Biomed Eng. 2024; 52(7):1873-1882. doi:10.1007/s10439-023-03199-w.

21. Antonova L.V., Silnikov V.N., Sevostyanova V.V., Yuzhalin A.E., Koroleva L.S., Velikanova E.A., Mironov A.V., Godovikova T.S., Kutikhin A.G., Glushkova T.V., Serpukrylova I.Y., Senokosova E.A., Matveeva V.G., Khanova M.Y., Akentyeva T.N., Krivkina E.O., Kudryavtseva Y.A., Barbarash L.S. Biocompatibility of Small-Diameter Vascular Grafts in

Different Modes of RGD Modification. Polymers (Basel). 2019; 11(1):174. doi:10.3390/polym11010174.

22. Gruzdeva O.V., Bychkova E.E., Penskaya T.Y., Kuzmina A.A., Antonova L.V., Barbarash L.S. Integral and Local Methods for the Evaluation of the Hemostasiological Profile in Sheep at Various Stages of Implantation of a Biodegradable Vascular Graft. Sovrem Tekhnologii Med. 2022;14(5):26-34. doi:10.17691/stm2022.14.5.03.

23. Антонова Л.В., Кривкина Е.О., Резцова 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 биодеградируемых сосудистых протезов малого диаметра. Современные технологии в медицине. 2020; 12(6):6-14. doi:10.17691/stm2020.12.6.01.

24. Fortin W., Bouchet M., Therasse E., Maire M., Héon H., Aji A., Soulez G., Lerouge S. Negative *In vivo* Results Despite Promising *In vitro* Data With a Coated Compliant Electrospun Polyurethane Vascular Graft. J Surg Res. 2022; 279:491-504. doi:10.1016/j.jss.2022.05.032.

25. 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.

26. Soldani G., Murzi M., Fatta F., Di Lascio N., Al Kayal T., Spanò R., Canciani B., Losi P. *In vivo* evaluation of an elastomeric small-diameter vascular graft reinforced with a highly flexible Nitinol mesh. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2019; 107(4):951-964. doi:10.1016/10.1002/jbm.b.34189.

27. Fang S., Ellman D.G., Andersen D.C. Review: Tissue Engineering of Small-Diameter Vascular Grafts and Their *In vivo* Evaluation in Large Animals and Humans. Cells. 2021; 10(3):713. doi:10.1016/10.3390/cells10030713.

28. Антонова Л.В., Кривкина Е.О., Ханова М.Ю., Великанова Е.А., Матвеева В.Г., Миронов А.В., Шабаев А.П., Сенокосова Е.А., Глушкова Т.В., Синицкий М.Ю., Мухамедияров 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.

29. Ye L., Takagi T., Tu C., Hagiwara A., Geng X., Feng Z. The performance of heparin modified poly(ϵ -caprolactone) small diameter tissue engineering vascular graft in canine-A long-term pilot experiment *in vivo*. J Biomed Mater Res A. 2021; 109(12):2493-2505. doi:10.1002/jbm.a.37243.

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. Moreno M.J., Aji A., Mohebbi-Kalhari D., Rukhlova M., Hadjizadeh A., Bureau M.N. Development of a compliant and cytocompatible micro-fibrous polyethylene terephthalate vascular scaffold. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2011; 97(2):201-214. doi: 10.1002/jbm.b.31774.

3. Krivkina E.O., Antonova L.V. Results of long-term patency of small-diameter biodegradable vascular prostheses with atrombogenic 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)

4. 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., Obiweluozor 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.

5. Lin C.H., Hsia K., Ma H., Lee H., Lu J.H. *In vivo* Performance of Decellularized Vascular Grafts: A Review Article. Int J Mol Sci. 2018; 19(7):2101. doi:10.3390/ijms19072101.

6. van de Laar B.C., van Heusden H.C., Pasker-de Jong P.C., van Weel V. Omniflow II biosynthetic grafts versus expanded polytetrafluoroethylene grafts for infrainguinal bypass surgery. A single-center retrospective analysis. Vascular. 2022;30(4):749-758. doi:10.1177/17085381211029815.

7. Toong D.W.Y., Toh H.W., Ng J.C.K., Wong P.E.H., Leo H.L., Venkatraman S., Tan L.P., Ang H.Y., Huang Y. Bioresorbable Polymeric Scaffold in Cardiovascular Applications. Int J Mol Sci. 2020; 21(10):3444. doi:10.3390/ijms21103444.

8. Leal B.B.J., Wakabayashi N., Oyama K., Kamiya H., Braghioroli D.I., Pranke P. Vascular Tissue Engineering: Polymers and Methodologies for Small Caliber Vascular Grafts. Front Cardiovasc Med. 2021; 7:592361. doi:10.3389/fcvm.2020.592361.

9. Sevostyanova V.V., Mironov A.V., Glushkova T.V., Burago A.Yu., Matveeva V.G., Antonova L.V., Kudryavtseva Yu.A., Seifalian A.M., Barbarash O.L., Barbarash L.S. Experimental study of polycaprolactone vascular graft for blood vessel

regeneration. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2016; 31(1):53-57. doi:10.29001/2073-8552-2016-31-1-53-57. (In Russian)

10. Glushkova T.V., Sevostyanova V.V., Antonova L.V., Klyshnikov K.Yu., Ovcharenko E.A., Sergeeva E.A., Vasyukov G.Yu., Seifalian A.M., Barbarash L.S. Biomechanical remodeling of biodegradable small-diameter vascular grafts in situ. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016;18(2):99-109. doi:10.15825/1995-1191-2016-2-99-109. (In Russian)

11. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Kutikhin A.G., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Glushkova T.V., Mironov A.V., Krivkina E.O., Barbarash O.L., Barbarash L.S. Influence of bFGF, SDF-1 α , or VEGF incorporated into tubular polymer scaffolds on the formation of small-diameter tissue-engineered blood vessel *in vivo*. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018;20(1):96-109. doi:10.15825/1995-1191-2018-1-96-109. (In Russian)

12. Antonova L., Kutikhin A., Sevostianova V., Lobov A., Repkin E., Krivkina E., Velikanova E., Mironov A., Mukhamadiyarov R., Senokosova E., Khanova M., Shishkova D., Markova V., Barbarash L. Controlled and Synchronised Vascular Regeneration upon the Implantation of Iloprost- and Cationic Amphiphilic Drugs-Conjugated Tissue-Engineered Vascular Grafts into the Ovine Carotid Artery: A Proteomics-Empowered Study. *Polymers (Basel)*. 2022; 14(23):5149. doi:10.3390/polym14235149.

13. Kudryavtseva Yu.A., Ovcharenko E.A., Klyshnikov K.Yu., Antonova L.V., Senokosova E.A., Ponasenko A.V., Barbarash O.L., Barbarash L.S. Biological prostheses for cardiovascular surgery – a half-century history and development prospects. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024; 13(1):196-210. doi:10.17802/2306-1278-2024-13-1-196-210. (In Russian.)

14. 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-thrombogenic coating. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024; 13(3): 193-201. doi:10.17802/2306-1278-2024-13-3-193-201. (In Russian)

15. Rickel A.P., Deng X., Engebretson D., Hong Z. Electrospun nanofiber scaffold for vascular tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021; 129:112373. doi:10.1016/j.msec.2021.112373.

16. Zhou S.Y., Li L., Xie E., Li M.X., Cao J.H., Yang X.B., Wu D.Y. Small-diameter PCL/PU vascular graft modified with heparin-aspirin compound for preventing the occurrence of acute thrombosis. *Int J Biol Macromol*. 2023; 249:126058. doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.126058.

17. Qiu S., Du J., Zhu T., Zhang H., Chen S., Wang C., Chen D., Lu S. Electrospun compliant heparinized elastic vascular graft for improving the patency after implantation. *Int J Biol Macromol*. 2023; 253(1):126598. doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.126598.

18. Ilanlou S., Khakbiz M., Amoabediny G., Mohammadi J., Rabbani H. Carboxymethyl kappa carrageenan-modified decellularized small-diameter vascular grafts improving thromboresistance properties. *J Biomed Mater Res A*. 2019;107(8):1690-1701. doi:10.1002/jbm.a.36684.

19. Zhang C., Xie Q., Cha R., Ding L., Jia L., Mou L., Cheng S., Wang N., Li Z., Sun Y., Cui C., Zhang Y., Zhang Y.,

Zhou F., Jiang X. Anticoagulant Hydrogel Tubes with Poly(ϵ -Caprolactone) Sheaths for Small-Diameter Vascular Grafts. *Adv Healthc Mater*. 2021; 10(19):e2100839. doi:10.1002/adhm.202100839.

20. Wu Y., Wagner W.D. Syndecan-4 Functionalization Reduces the Thrombogenicity of Engineered Vascular Biomaterials. *Ann Biomed Eng*. 2024; 52(7):1873-1882. doi:10.1007/s10439-023-03199-w.

21. Antonova L.V., Silnikov V.N., Sevostyanova V.V., Yuzhalin A.E., Koroleva L.S., Velikanova E.A., Mironov A.V., Godovikova T.S., Kutikhin A.G., Glushkova T.V., Serpukrylova I.Y., Senokosova E.A., Matveeva V.G., Khanova M.Y., Akentyeva T.N., Krivkina E.O., Kudryavtseva Y.A., Barbarash L.S. Biocompatibility of Small-Diameter Vascular Grafts in Different Modes of RGD Modification. *Polymers (Basel)*. 2019; 11(1):174. doi:10.3390/polym11010174.

22. Gruzdeva O.V., Bychkova E.E., Penskaya T.Y., Kuzmina A.A., Antonova L.V., Barbarash L.S. Integral and Local Methods for the Evaluation of the Hemostasiological Profile in Sheep at Various Stages of Implantation of a Biodegradable Vascular Graft. *Sovrem Tekhnologii Med*. 2022;14(5):26-34. doi:10.17691/stm2022.14.5.03.

23. Antonova L.V., Krivkina E.O., Rezvova M.A., Sevostyanova V.V., Tkachenko V.O., Glushkova T.V., Akentyeva T.N., Kudryavtseva Yu.A., Barbarash L.S. A technology for anti-thrombogenic drug coating of small-diameter biodegradable vascular prostheses. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2020; 12(6):6-14] doi:10.17691/stm2020.12.6.01. (In Russian)

24. Fortin W., Bouchet M., Therasse E., Maire M., Héon H., Ajji A., Soulez G., Lerouge S. Negative *In vivo* Results Despite Promising *In vitro* Data With a Coated Compliant Electrospun Polyurethane Vascular Graft. *J Surg Res*. 2022; 279:491-504. doi:10.1016/j.jss.2022.05.032.

25. 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.

26. Soldani G., Murzi M., Fatta F., Di Lascio N., Al Kayal T., Spanò R., Canciani B., Losi P. *In vivo* evaluation of an elastomeric small-diameter vascular graft reinforced with a highly flexible Nitinol mesh. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2019; 107(4):951-964. doi:10.1016/10.1002/jbm.b.34189.

27. Fang S., Ellman D.G., Andersen D.C. Review: Tissue Engineering of Small-Diameter Vascular Grafts and Their *In vivo* Evaluation in Large Animals and Humans. *Cells*. 2021; 10(3):713. doi:10.1016/10.3390/cells10030713.

28. 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., Mukhamadiyarov R.A., Barbarash L.S. Results of preclinical trials in a sheep model of biodegradable small-diameter vascular grafts. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24(3):80-93. doi:10.15825/1995-1191-2022-3-80-93. (In Russian)

29. Ye L., Takagi T., Tu C., Hagiwara A., Geng X., Feng Z. The performance of heparin modified poly(ϵ -caprolactone) small diameter tissue engineering vascular graft in canine-A long-term pilot experiment *in vivo*. *J Biomed Mater Res A*. 2021; 109(12):2493-2505. doi:10.1002/jbm.a.37243.

Для цитирования: Сенокосова Е.А., Кривкина Е.О., Миронов А.В., Сардин Е.С., Сергеева Т.Ю., Матвеева В.Г., Ханова М.Ю., Торгунакова Е.А., Мухамадияров Р.А., Антонова Л.В. Результаты преклинических испытаний протезов кровеносных сосудов малого диаметра на модели примата. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(4): 90-103. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-4-90-103

To cite: Senokosova E.A., Krivkina E.O., Mironov A.V., Sardin E.S., Sergeeva T.Yu., Matveeva V.G., Khanova M.Yu., Torgunakova E.A., Mukhamadiyarov R.A., Antonova L.V. Results of preclinical tests of small-diameter tissue engineered vascular grafts on the primate model. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(4): 90-103. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-4-90-103