



УДК 616.1–089.843–004.891.3

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-138-149

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ДЕГРАДАЦИИ, БИОСОВМЕСТИМОСТИ И КАЛЬЦИФИКАЦИИ БИОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Е.С. Прокудина, Л.В. Антонова, Е.А. Сенокосова, Е.О. Кривкина, А.В. Сеницкая,
М.С. Коломеец, Н.А. Кочергин

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

- Фиброин шелка устойчив к ранней деградации, очаговой кальцификации, адсорбирует альбумин, не вызывает выраженного локального и системного воспаления при подкожной имплантации крысам, в чем сопоставим и даже превосходит по своим свойствам бычий перикард, используемый в сосудистой хирургии.

Цель	Исследовать гидролитическую деградацию фиброина шелка (ФШ), оценить в сравнительном аспекте поверхностную адсорбцию белков матриксами из ФШ и бычьего перикарда (БП), кальцификацию биоматериалов, а также их биосовместимость, динамику биодеградации и системное воспаление после подкожной имплантации крысам.
Материалы и методы	Матрикссы из ФШ изготавливали методом электроспиннинга. Материалом сравнения выступал БП-лоскут. Исследовали потерю массы ФШ и изменение рН инкубационного раствора при его гидролитической деградации <i>in vitro</i> на сроках 1, 3, 6 и 12 мес. Оценивали поверхностную адсорбцию альбумина и фибриногена матриксами <i>in vitro</i> . Образцы ФШ и БП имплантировали под кожу крысам на срок 7, 14, 30 и 60 сут. После эксплантации матриксов проводили гистологическое исследование образцов и оценивали их кальцификацию. В сыворотке крови крыс исследовали уровни ИЛ-6 и ИЛ-8, ФНО- α и МСР-1 методом иммуноферментного анализа.
Результаты	Гидролитическая деградация ФШ <i>in vitro</i> приводила к потере 6% массы матрикса, сопровождалась снижением рН инкубационного раствора до 6,56. На поверхности ФШ адсорбировалось в 2 раза больше альбумина и в 6 раз больше фибриногена, чем на поверхности БП. Признаки биодеградации ФШ и тонкая соединительнотканная капсула вокруг матрикса появились спустя 30 дней после подкожной имплантации крысам. Выраженного воспаления и очагов кальцификации ФШ не выявлено. Подкожная имплантация БП сопровождалась формированием выраженной соединительнотканной капсулы вокруг образца, разволокнением и деградацией материала спустя 60 сут. Локализованных очагов кальцификации не обнаружено на всех сроках подкожной имплантации. Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс после подкожной имплантации ФШ и БП снижалось к 60-му дню исследования без статистически значимых межгрупповых различий.
Заключение	Благодаря устойчивости к преждевременной деградации и кальцификации, повышенной поверхностной адсорбции альбумина, оптимальной биосовместимости и отсутствию выраженного периимплантационного и системного воспаления ФШ сопоставим, а по ряду признаков даже превосходит БП, широко используемый в сосудистой хирургии.
Ключевые слова	Фиброин шелка • Бычий перикард • Электроспиннинг • Биосовместимость • Биодеградация • Кальцификация • Биоматериалы

Поступила в редакцию: 29.10.2024; поступила после доработки: 19.11.2024; принята к печати: 15.12.2024

Для корреспонденции: Екатерина Сергеевна Прокудина, goddess27@mail.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Ekaterina S. Prokudina, goddess27@mail.ru; address: 6, Academician Barbarash Blvd, Kemerovo, Russian Federation, 650002

STUDY OF DEGRADATION, BIOCOMPATIBILITY AND CALCIFICATION CHARACTERISTICS OF BIOMATERIALS FOR VASCULAR SURGERY

E.S. Prokudina, L.V. Antonova, E.A. Senokosova, E.O. Krivkina, A.V. Sinitskaya, M.S. Kolomeets, N.A. Kochergin

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

Highlights

- Silk fibroin is resistant to early degradation, focal calcification, adsorbs albumin, and does not cause pronounced local and systemic inflammation during subcutaneous implantation in rats, which is comparable and even superior in properties to bovine pericardium used in vascular surgery.

Aim

To study the hydrolytic degradation of silk fibroin (SF), to evaluate in a comparative aspect the surface adsorption of proteins by matrices from SF and bovine pericardium (BP), calcification of biomaterials, as well as their biocompatibility, the dynamics of biodegradation and systemic inflammation after subcutaneous implantation in rats.

Methods

Matrices from SF were made by electrospinning. The BP flap was used as a comparison material. The loss of SF mass and the change in pH of the incubation solution during its hydrolytic degradation *in vitro* were studied at periods of 1, 3, 6, and 12 months. The surface adsorption of albumin and fibrinogen by matrices was assessed *in vitro*. Samples of SF and BP were implanted subcutaneously in rats for periods of 7, 14, 30, and 60 days. After explantation of the matrices, a histological examination of the samples was performed and their calcification was assessed. The levels of interleukins 6 and 8, tumor necrosis factor- α , and monocyte chemoattractant protein-1 were studied in the blood serum of rats using the enzyme immunoassay method.

Results

Hydrolytic degradation of SF *in vitro* resulted in a 6% loss of the matrix mass and was accompanied by a decrease in the pH of the incubation solution to 6.56. Twice as much albumin and six times as much fibrinogen were adsorbed on the SF surface than on the BP surface. Signs of SF biodegradation and a thin connective tissue capsule around the matrix appeared after 30 days of subcutaneous implantation in rats. No pronounced inflammation or calcification of SF were detected. Subcutaneous implantation of BP was accompanied by the formation of a pronounced connective tissue capsule around the sample after 60 days, fraying, and degradation of the material. Localized foci of calcification were not detected at any time point of subcutaneous implantation. The content of proinflammatory cytokines in the blood serum of rats after subcutaneous implantation of SF and BP decreased by day 60 of the study without statistically significant intergroup differences.

Conclusion

Due to its resistance to premature degradation and calcification, increased surface adsorption of albumin, optimal biocompatibility and the absence of pronounced peri-implantation and systemic inflammation, SF is comparable and also has a number of advantages compared to BP used in vascular surgery.

Keywords

Silk fibroin • Bovine pericardium • Electrospinning • Biocompatibility • Biodegradation • Calcification • Biomaterials

Received: 29.10.2024; received in revised form: 19.11.2024; accepted: 15.12.2024

Список сокращений

БП – бычий перикард	МСР-1 – моноцитарный хемотаксический протеин-1
ИЛ-8 – интерлейкин 8	ФНО- α – фактор некроза опухоли- α
ИЛ-6 – интерлейкин 6	ФШ – фиброин шелка

Введение

Использование биоматериалов для создания

медицинских изделий в сердечно-сосудистой хирургии актуально в связи их высокой биосовме-

стимостью и широкой доступностью [1]. Разработка биоматериалов, подходящих для различных областей регенеративной медицины, способствует появлению на рынке медицинских изделий новых функциональных конструкций, обладающих оптимальными характеристиками, из которых наиболее востребованы биосовместимость, качество и скорость ремоделирования, способность к адаптивному росту [2].

В зависимости от природы биоматериала и его способности к резорбции под воздействием внешнего окружения выделяют биостабильные (нерезорбируемые) и биодеградируемые материалы [1]. Обе разновидности биоматериалов широко применяются при изготовлении медицинских изделий. Так, створки искусственных клапанов целесообразно создавать из материалов, устойчивых к биорезорбции (полиуретаны, ePTFE, ксеноперикард) [1]. В то время как протезирование утраченного участка сосуда актуально проводить с применением биодеградируемого материала (полилактид, поликапролактон) с последующим его ремоделированием и восстановлением собственной ткани организма [3].

Тем не менее, несмотря на достигнутые успехи в области поиска и разработки новых материалов для изготовления медицинских изделий, ни один из них полностью не удовлетворяет требованиям, предъявляемым к имплантам в сосудистой хирургии, особенно длительно контактирующим с кровью. Частым осложнением, возникающим при использовании биоматериалов, является отложение кальция на их поверхности или в толще, что приводит к потере прочности имплантированного медицинского изделия, а также снижает его биологическую совместимость с окружающими тканями [4]. Кроме того, возникновение воспаления также приводит к негативному ремоделированию и потере функциональных свойств имплантированного биоматериала. Совокупность влияния факторов окружающей имплантированный материал среды, а также его собственных особенностей химической структуры может привести к преждевременной деградации материала с потерей его функций и физическому разрушению [5]. Оценка динамики деградации, в том числе биодеградации, является важным аспектом в исследовании свойств биоматериала. Таким образом, результаты исследования динамики биодеградации материала, тканевой реакции на его имплантацию, а также воспаления и кальцификации позволят сделать выводы о его биосовместимости и возможности применения в готовом медицинском изделии.

В настоящем исследовании в качестве биодеградируемого материала природного происхождения использован фиброин шелка (ФШ), полученный из коконов тутового шелкопряда. Среди натуральных волокон шелковое волокно *Bombyx mori* занимает

особое место благодаря своим уникальным свойствам: высокой прочности (600 МПа), высокому относительному удлинению (17–25%), низкой плотности (1,25–1,34 г/м³) и малому диаметру волокна (около 10 мкм). Более того, в отличие от других натуральных волокон, это волокно встречается в природе в виде нитей [6]. В сыром виде шелковое волокно состоит из двух нитей фиброина и шелковой смолы – серицина. Однако для дальнейшей обработки шелковое волокно подвергается дегуммированию путем удаления серицина, в результате чего шелковое волокно становится в основном состоящим из фиброина. Регенерированный ФШ имеет ключевые отличия от натурального шелка, но благодаря высокой биосовместимости представляет собой идеальный биомедицинский материал [6, 7]. ФШ может быть преобразован в различные конструкции (пористые матриксы, гидрогели, нано/микросферы), следовательно, обладает широким спектром возможного применения в биомедицине: от восстановления тканей и до доставки лекарств [8–10].

Цель работы – исследовать гидролитическую деградацию ФШ, сравнить поверхностную адсорбцию белков матриксами из ФШ и бычьего перикарда (БП), кальцификацию биоматериалов, а также их биосовместимость, оценить динамику биодеградации и системное воспаление после подкожной имплантации крысам.

Материал и методы

Изготовление биополимерных матриксов

Биополимерные матриксы формировали методом электроспиннинга на аппарате Nanon-01A (MECC CO, Япония) из 15% раствора регенерированного ФШ в гексафторизопропанол. Модификацию полученных матриксов проводили в 98% этаноле с целью перевода ФШ из водорастворимой в водонерастворимую форму посредством образования структуры β-листа [7]. Электроспиннинг проводили при следующих параметрах: игла – 22G, расстояние до коллектора – 15 см, напряжение – 20 кВ, скорость вращения коллектора – 200 об/мин, скорость подачи раствора – 1 мл/ч. В качестве коллектора использовали металлический штифт диаметром 8,0 мм.

Материалом сравнения был лоскут из БП «Кем-Периплас-Нео» (ЗАО «НеоКор», Россия), используемый в качестве сосудистой заплатки при проведении каротидной эндартерэктомии.

Гидролитическая деградация материала

Образцы ФШ размером 0,5 × 0,5 см взвешивали на аналитических весах GR-200 (A&D, Япония), помещали во флаконы с 2,5 мл физиологического раствора (pH = 7,4), герметично закрывали и инкубировали при 37 °С. Продолжительность инкубации составила 1, 3, 6 и 12 мес. Количество образцов

на каждый срок инкубации – 5. После достижения необходимого срока инкубации образцы извлекали из флаконов, высушивали и взвешивали на аналитических весах. Измеряли pH инкубационных растворов с помощью pH-метра HANNA Instruments pH211R (Германия). Оценивали потерю массы каждого образца (% от исходной) и изменение pH инкубационного раствора.

Адсорбция белков на поверхности матриц

Образцы матриц размером 1×1 см ($n = 6$) очищали этиловым спиртом, высушивали. Готовили 25 мл раствора альбумина (1 мг/мл) и 25 мл раствора фибриногена (1 мг/мл) в фосфатно-солевом буфере. Подготовленные матрицы инкубировали в 1 мл белкового раствора в течение 2 ч при 37 °С. После завершения инкубации образцы матриц последовательно промывали в фосфатно-солевом буфере и воде для инъекций. Затем выдерживали матрицы в 1 мл 2% раствора додецилсульфата натрия в течение 2 ч при 37 °С для удаления адсорбированного белка. Количество белка, элюированного в раствор додецилсульфата натрия, измеряли с помощью набора для определения белка ab207003 Micro BCA™ (Abcam, Великобритания) на спектрофотометре Genesys 6 (Thermo Scientific, США) при длине волны 562 нм. Итоговое количество белка (мг) пересчитывали на 1 мл раствора.

Подкожная имплантация материала крысам

Для изучения биосовместимости исследуемых материалов – тканевой реакции и кальцификации *in vivo* – образцы матриц из ФШ ($n = 24$) и БП ($n = 24$) размером $0,5 \times 0,5$ см имплантировали подкожно лабораторным крысам-самцам линии Вистар массой 50–70 г. Продолжительность имплантации составила 7, 14, 30 и 60 сут. Также были сформированы контрольные группы интактных ($n = 12$) и ложнооперированных ($n = 12$) животных. Крыс наркотизировали ингаляционной смесью изофлурана и кислорода. На спине паравертебрально с двух сторон через разрезы кожи 1 см в подкожные карманы имплантировали образцы матриц (по 2 штуки на каждое животное). Затем раны ушивали лавсаном (3–0).

Эксплантацию образцов проводили в указанные сроки вместе с окружающими мягкими тканями. Образцы помещали в формалин для дальнейшего гистологического анализа или механически очищали от окружающих тканей и высушивали для дальнейшего исследования их кальцификации.

Вывод животных из эксперимента проводили в соответствии с этическими принципами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986). Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБНУ «Науч-

но-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (протокол № 6 от 30.06.2022 г.).

Гистологическое исследование образцов

Эксплантированные образцы матриц готовили для гистологического исследования в соответствии с ранее описанной методикой [11]. Для обзорного гистологического исследования срезы образцов окрашивали гематоксилином Гарриса (ООО «БиоВитрум», Россия) и эозином (ООО «БиоВитрум», Россия). Для оценки коллагенизации исследуемых образцов срезы окрашивали по Ван Гизону, последовательно помещая в растворы гематоксилина Вейгерта (ООО «БиоВитрум», Россия) и пикрофуксина (ООО «БиоВитрум», Россия). Для идентификации присутствия кальция срезы окрашивали ализариновым красным С (ЗАО «Химсервис», Россия) с окраской ядер клеток DAPI (Sigma-Aldrich, США). Окрашенные срезы заливали монтирующей средой (ООО «БиоВитрум», Россия) и накрывали покровным стеклом. Образцы исследовали с использованием микроскопа AXIO Imager A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении $\times 50$, $\times 100$ и $\times 200$.

Кислотный гидролиз образцов

Высушенные образцы матриц (после подкожной имплантации) помещали в стеклянные пробирки с 0,5 мл 50% хлорной кислоты (HClO₄). Каждую пробирку закрывали каплеуловителем, помещали в песчаную баню при температуре 150–210 °С и выдерживали до получения прозрачного раствора. Объем остывших проб в пробирках доводили до 5 мл дистиллированной водой.

Измерение содержания кальция

Содержание кальция в пробах после кислотного гидролиза измеряли колориметрическим методом с использованием набора ab102505 Calcium Assay Kit (Colorimetric, Abcam, Великобритания) на микропланшетном фотометре Multiskan Sky (Thermo Scientific, США) при длине волны 575 нм. Содержание кальция пересчитывали на единицу массы образца матрикса (мг/г).

Определение содержания цитокинов в сыворотке крови у крыс

Содержание цитокинов – интерлейкина 6 (ИЛ-6), интерлейкина 8 (ИЛ-8), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и моноцитарного хемотаксического протеина 1 (MCP-1) – определяли в сыворотке крови крыс методом иммуноферментного анализа. Для получения сыворотки кровь у крыс собирали в сухую чистую пробирку, центрифугировали 30 мин при 1 000 об/мин. Образовавшуюся после центрифугирования сыворотку отбирали в сухие чистые

пробирки объемом 2 мл. Далее образцы сывороток хранили при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до момента проведения анализа.

Уровень ИЛ-6 в сыворотке крови измеряли набором ELISA Kit for Interleukin 6 (SEA 079 Ra, Cloud Clone, Китай) на микропланшетном фотометре Multiskan Sky (Thermo Scientific, США) при длине волны 450 нм. Уровень ИЛ-8 в сыворотке крови измеряли набором ELISA Kit for Interleukin 8 (SEA 080 Ra, Cloud Clone, Китай) на микропланшетном фотометре Multiskan Sky (Thermo Scientific, США) при длине волны 450 нм. Уровень ФНО- α в сыворотке крови измеряли набором Rat TNF alpha ELISA Kit (KRC 3011, Invitrogen, США) на микропланшетном фотометре Multiskan Sky (Thermo Scientific, США) при длине волны 450 нм. Уровень MCP-1 в сыворотке крови измеряли набором ELISA Kit for Monocyte Chemotactic Protein 1 (SEA 087 Ra, Cloud Clone, Китай) на микропланшетном фотометре Multiskan Sky (Thermo Scientific, США) при длине волны 450 нм. Содержание цитокинов в сыворотке крыс представляли в пг/мл.

Статистическая обработка данных

Количественные данные анализировали с использованием статистических методов в программе для обработки медицинской и биологической информации Jamovi, версия 2.5 (Сидней, Австралия), а также с помощью электронных таблиц Microsoft Excel (Microsoft, США). Модель распределения данных в выборках определяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для количественных данных, распределение которых соответствовало нормальному, результаты представлены как среднее (m), стандартное отклонение (\pm st. dev.), 95% доверительный интервал (5%; 95%). В данном случае для оценки статистической значимости различий двух независимых групп использовали t-критерий Стьюдента, достоверность различий фиксировали при уровне значимости $p < 0,05$. Для количественных данных, распределение которых не соответствовало нормальному, результаты представлены как медиана (M), квартили [$Q1$; $Q3$]. В этом случае оценку статистической значимости различий двух независимых групп проводили с помощью критерия Манна – Уитни, трех и более групп – с помощью критерия Краскела – Уоллиса. Достоверность различий фиксировали при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Гидролитическая деградация материала

Устойчивость к гидролитической деградации исследовали только для ФШ, сшитого этиловым спиртом, из-за его полимерной биодеградируемой природы и особенностей пористо-волокнистой структуры [7]. Исследование гидролитической деграда-

ции БП представлялось нецелесообразным в связи с его исходной стабильностью в жидкой среде.

Матрицы из ФШ демонстрировали небольшую потерю сухой массы после инкубации с физиологическим раствором: ее максимум наблюдался через 3 мес. нахождения материала в жидкой среде и составил 5,41 [3,12; 7,32] % от исходной массы матрикса (рис. 1).

Вместе с тем гидролитическая деградация ФШ сопровождалась изменением pH инкубационного раствора с тенденцией к незначительному закислению среды относительно исходного значения pH = 7,4 (рис. 2). Наименьшее значение pH, достигнутое спустя 12 мес. инкубации ФШ в физиологическом растворе, составило 6,56.

Адсорбция альбумина и фибриногена на поверхности матриксов

Исследование адсорбции белков биологическими материалами показало, что на поверхности матриксов из ФШ, в сравнении с БП, адсорбировалось в 2 раза больше альбумина и в 6 раз фибриногена (таблица).

Гистологическое исследование эксплантированных образцов

Гистологическое исследование эксплантированных образцов ФШ показало, что первые признаки биодеградации биоматериала появились через 30 дней

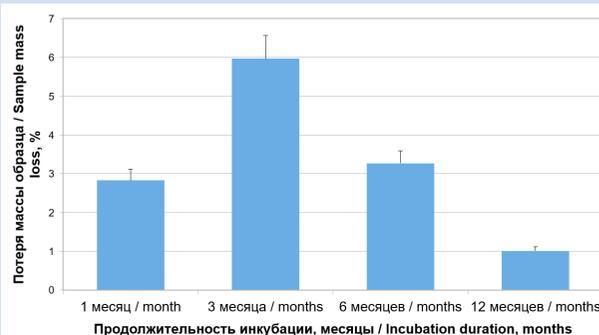


Рисунок 1. Потеря сухой массы образца матрикса из ФШ после инкубации в физиологическом растворе (pH = 7,4) при 37 °C через 1, 3, 6 и 12 мес.

Figure 1. Dry mass loss of the sample of the matrix from SF after incubation in physiological solution (pH = 7.4) at 37 °C after 1, 3, 6 and 12 months

Концентрация белка, элюированного с поверхности матрикса Concentration of protein eluted from the matrix surface

Вид биоматериала / Type of biomaterial	Альбумин, мг/мл / Albumin, mg/ml	Фибриноген, мг/мл / Fibrinogen, mg/ml
ФШ / SF	198 ± 18 (177; 220)	469 ± 28,2 (440; 499)
БП / BP	100 ± 11,8 (87,7; 112)*	77,3 ± 13,4 (63,2; 91,3)*

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с ФШ; БП – бычий перикард; ФШ – фиброин шелка.

Note: * $p < 0,05$ compared to SF; BP – bovine pericardium; SF – silk fibroin.

подкожной имплантации крысам (рис. 3, А). Клеточность эксплантированных матриксов была умеренной, в основном сосредоточена по периферии материала. Признаков выраженного воспаления в области имплантации не обнаружено. Толща матрикса начиная с 30 дней имплантации была окружена тонкой соединительнотканной капсулой, содержащей коллаген. Васкуляризация соединительнотканной капсулы наблюдалась к 60-му дню имплантации ФШ-матрикса. При окраске ализариновым красным С участки кальцификации ФШ-матрикса не визуализированы на всех сроках имплантации (см. рис. 3, А).

Гистологическое исследование эксплантированных образцов БП показало, что устойчивые признаки биодеградации материала также появились спустя 30 дней после подкожной имплантации и нарастали к 60-му дню; появились участки расслоения (см. рис. 3, В). Наполненность клетками БП-лоскута была невысокой на сроках 7 и 14 дней, однако нарастала к 30-му и далее к 60-му дню подкожной имплантации. Выраженного воспаления в зоне имплантации БП не наблюдалось. Локали-

зованных очагов кальцификации материала также не обнаружено. Отличительной особенностью БП было формирование вокруг матрикса выраженной васкуляризованной соединительнотканной капсулы, которая сформировалась через 60 дней после подкожной имплантации (см. рис. 3, В).

Кальцификация ФШ и БП in vivo

Оценка кальцификации гидролизованных матриксов была выполнена для образцов ФШ и БП, эксплантированных спустя 30 и 60 дней после подкожной имплантации крысам. Спустя 30 дней достоверной разницы в содержании кальция в эксплантированных образцах ФШ и БП не обнаружено. Однако через 60 дней кальцификация БП-лоскутов в 3,4 раза превышала кальцификацию ФШ. При этом отложение кальция в ФШ-матриксах не увеличилось с 30-е по 60-е сут подкожной имплантации крысам. В то же время кальцификация БП за этот период возросла в 3,5 раза (рис. 4).



Рисунок 2. Изменение pH инкубационного (физиологического) раствора через 1, 3, 6, и 12 мес. Линия на уровне pH 7,4 – исходное значение, область выше линии – защелачивание раствора, ниже – закисление раствора
Figure 2. Change in pH of the incubation (physiological) solution after 1, 3, 6, and 12 months. Line at pH = 7.4 (initial pH value of the physiological solution). The area above the line is alkalization of the solution, below is acidification of the solution

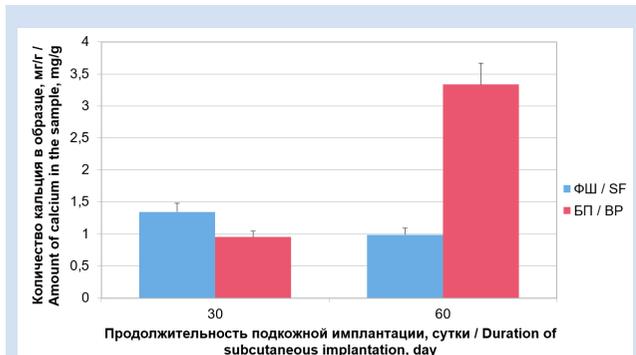


Рисунок 4. Содержание кальция в образцах после подкожной имплантации крысам через 30 и 60 сут
Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с ФШ; БП – бычий перикард; ФШ – фиброин шелка.
Figure 4. Calcium content in samples after subcutaneous implantation in rats after 30 and 60 days
Note: * $p < 0.05$ compared to SF; BP – bovine pericardium; SF – silk fibroin.

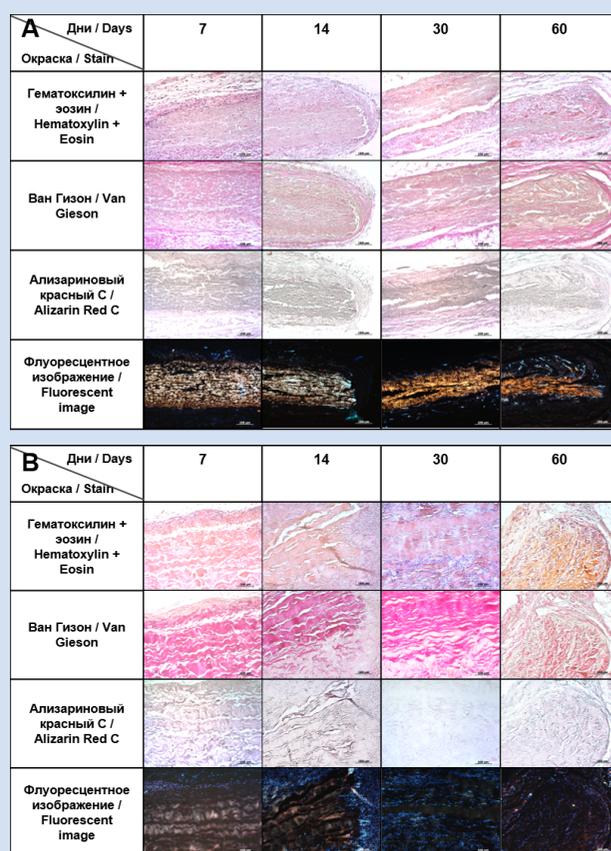


Рисунок 3. Результаты гистологического исследования образцов ФШ (А) и БП (В) после подкожной имплантации крысам. Продолжительность имплантации – 7, 14, 30 и 60 дней. Окраска гематоксилином эозином, по Ван Гизону, ализариновым красным С для идентификации кальция, флуоресцентное изображение, окраска ядер клеток Dapi; увеличение × 200

Figure 3. Results of histological examination of SF (A) and BP (B) samples after subcutaneous implantation in rats. Duration of implantation – 7, 14, 30 and 60 days. Hematoxylin + eosin – hematoxylin + eosin staining, Van Gieson – Van Gieson staining, Alizarin Red C – Alizarin Red C staining for calcium identification, fluorescent image – fluorescent image, Dapi cell nuclei staining; magnification × 200

Содержание цитокинов в сыворотке крови у крыс

Анализ динамики содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс на разных сроках имплантации ФШ и БП показал, что их концентрация в целом снижалась к 60-му дню имплантации (рис. 5).

Содержание ИЛ-6 значительно увеличивалось при подкожной имплантации БП-лоскута на 14, 30 и 60-й день. При этом для ФШ не выявлено выраженных изменений данного параметра на всех сроках подкожной имплантации (см. рис. 5, А).

Подкожная имплантация и ФШ, и БП приводила к подъему содержания ИЛ-8 в сыворотке крови у крыс, максимум данного параметра приходился на срок 14 дней; к 60-му дню содержание ИЛ-8 снижалось до значений, близких к исходным (рис. 5, В). Устойчивые значимые межгрупповые различия наблюдались лишь по сравнению с группой интактного контроля.

Содержание ФНО- α в сыворотке крови у крыс было повышенным на всех сроках подкожной имплантации ФШ- и БП-матрикса, а также в группе ложнооперированного контроля и достоверно отличалось от группы интактного контроля (см. рис. 5, С).

Сывороточное содержание МСР-1 увеличивалось с 14-го дня подкожной имплантации БП и сни-

жалось к 60-му дню (рис. 5, D). Максимум повышения содержания МСР-1 при подкожной имплантации ФШ-матрикса пришелся на срок 30 дней с последующим снижением к 60-му дню. Значимость межгрупповых различий для содержания МСР-1 в сыворотке крови у крыс отражена на рис. 5, D.

Обсуждение

В настоящее время многие исследователи используют широкий спектр биологических и синтетических полимерных материалов для создания изделий для нужд сердечно-сосудистой хирургии: ФШ, поликапролактон, полиуретан и поли(L-лактид-со- ϵ -капролактон) [12–14]. Преимущества данных материалов заключаются в превосходной биосовместимости и желаемых механических свойствах. В то время как к недостаткам относятся недостаточная разлагаемость и биологическая стабильность, гидрофобность, что неблагоприятно сказывается на биосовместимости.

ФШ – натуральный полимер, как правило, получаемый из коконов шелковицы *Bombyx mori*. Многие исследователи подтвердили, что регенерированный ФШ является приоритетным материалом благодаря превосходным механическим свойствам, низкой иммуногенности, высокой биосовместимости и наличию различных биоак-

тивных участков [12, 14]. В результате исследователи проявили интерес к оценке и контролю скорости биодеградации материалов на основе регенерированного ФШ как на этапе *in vitro*, так и *in vivo* на лабораторных животных [14, 15]. Известно, что медленная деградация ФШ обеспечивает наличие временного окна, позволяющего синхронизировать резорбцию ФШ с ремоделированием тканей интереса. При этом оценка биорезорбции ФШ проводится как в нейтральных и ферментных растворах *in vitro*, так и в условиях *in vivo* [15].

В связи с тем что в настоящее время для пластики жизненно важных артерий в процессе эндартерэктомии чаще всего используют БП [1], в настоящей работе была исследована не только устойчивость ФШ к гидролитической деградации *in vitro*, но и в сравнительном аспекте оценена динамика и особенности биодеградации ФШ и БП при подкожной имплантации крысам.

Известно, что процесс дегра-

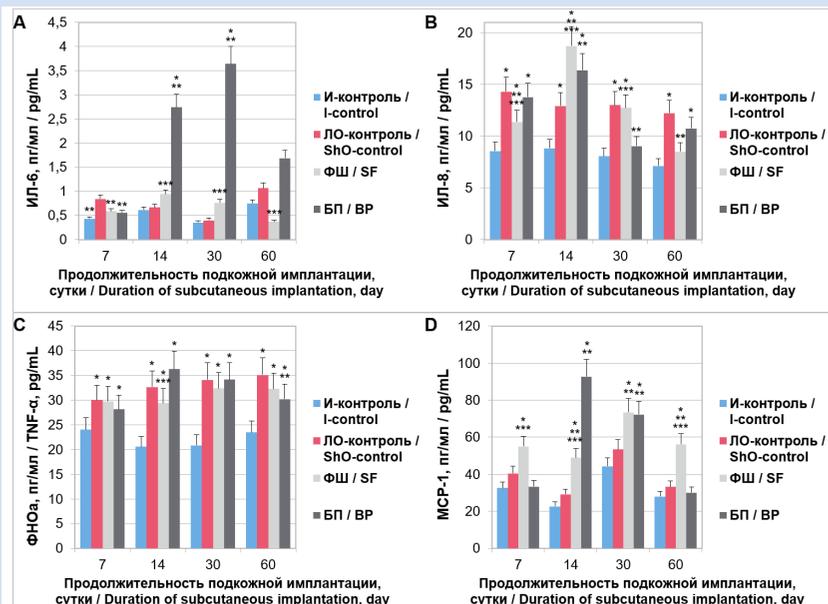


Рисунок 5. Содержание цитокинов в сыворотке крови крыс после подкожной имплантации ФШ- и БП-матрикса через 7, 14, 30 и 60 сут: А – ИЛ-6, пг/мл; В – ИЛ-8, пг/мл; С – ФНО- α , пг/мл; D – МСР-1, пг/мл

Примечание: И-контроль – контрольная группа интактных крыс; ЛО-контроль – контрольная группа ложнооперированных крыс. * по сравнению с группой И-контроля ($p < 0,05$); ** по сравнению с группой ЛО-контроля ($p < 0,05$); *** по сравнению с группой БП ($p < 0,05$). БП – бычий перикард; ИЛ – интерлейкин; МСР-1 – моноцитарный хемотаксический протеин 1; ФНО- α – фактор некроза опухоли- α ; ФШ – фиброин шелка.

Figure 5. The content of cytokines in the blood serum of rats after subcutaneous implantation of SF and BP matrices after 7, 14, 30 and 60 days: А – IL-6, pg/ml; В – IL-8, pg/mL; С – TNF α , pg/mL; G – MCP-1, pg/mL

Note: I-control – control group of intact rats. ShO-control – control group of sham-operated rats. * – compared with the I-control group ($p < 0.05$); ** – compared with the ShO-control group ($p < 0.05$); *** – compared with the BP group ($p < 0.05$); BP – bovine pericardium; IL – interleukin; MCP-1 – monocyte chemotactic protein-1; SF – silk fibroin; TNF- α – tumor necrosis factor- α .

дации биоразлагаемых материалов зависит как от свойств среды, в которой проводится деградация, так и от особенностей исследуемых образцов [16]. Свойства деградационной среды в частности включают pH, температуру, присутствие влаги, кислорода, микроорганизмов, различных ферментов. При этом скорость деградации непористых матрицков выше, чем пористых: последние характеризуются эффективной диффузией кислотных продуктов деградации благодаря хорошей взаимосвязанности пор. Также известно, что скорость деградации для пористых полимерных материалов снижается с повышением пористости и размера пор [16].

Несмотря на то что ФШ относится к классу биодеградируемых материалов с потерей не более 6% сухой массы матрикса спустя 12 мес., сопровождавшейся снижением pH инкубационного раствора до 6,56, его можно характеризовать как относительно стабильный материал. Так, исследование гидролитической деградации нетканых матрицков из поли-ε-капролактона и поли-L-лактида показало, что первый полимер терял 2% массы через 21 нед. инкубации в фосфатном буфере при 37 °C и снижал pH инкубационной среды до 6,6, в то время как деградация второго полимерного матрикса сопровождалась 30% потерей массы уже через 13 нед. эксперимента и снижением pH до 2,5–3 через 2 нед. инкубации [16].

Известно, что биодеградация матрицков на основе ФШ в подкожной клетчатке верхней части спины крысы происходит быстрее, чем в подкожной клетчатке задних конечностей крысы [15, 17]. В нашем исследовании гистологический анализ образцов ФШ после подкожной имплантации в верхнюю часть спины крысы показал, что первые признаки биодеградации материала появились через 30 дней и сохранились к 60-му дню. При этом участки биодеградируемого ФШ заместились вновь образованной тканью организма, т. е. происходило ремоделирование имплантированного материала. В сравнении с настоящим исследованием подкожная имплантация крысам пористых ФШ-скаффолдов также приводила к появлению признаков биодеградации материала к концу 4-й нед., а полная резорбция наблюдалась лишь через 28 нед. эксперимента [17].

Результаты исследований показывают, что дегенеративные процессы ксеноперикардиальных материалов инициируются обработкой и хранением перикарда, что сопровождается кальцификацией большинства имплантированных заплат из БП [18]. Данные процессы сопровождаются фрагментацией коллагенового матрикса с образованием межфибриллярных разрывов и отсутствием эндотелизации [19]. Отечественные ученые предполагают, что центрами зарождения фосфата кальция является положительно заряженный азот пиридиновых колец, который является основным в свежем эластине

и образуется в коллагене в результате консервации глутаровым альдегидом [20].

В нашем исследовании при морфологическом анализе эксплантированного БП также выявлены признаки его дегенерации, в частности расслоения и отщепления участков волокон. Отличительной особенностью ремоделирования БП явилось формирование выраженной соединительнотканной капсулы, что в целом характерно для имплантируемых биоматериалов [21]. Однако данный процесс может разрешиться развитием склероза в области имплантации [21].

Оценка устойчивости к кальцификации в настоящем исследовании проводилась как путем специфической окраски гистологических препаратов эксплантированных матрицков ализариновым красным С, так и измерением содержания кальция в гидролизатах этих матрицков. Так, по результатам гистологического анализа видимых очагов кальцификации как на поверхности, так и в толще матрицков не обнаружено ни для ФШ, ни для БП. Однако при последующем исследовании содержание кальция все-таки выявлено для обоих типов матрицков, причем в гидролизатах БП, эксплантированного через 60 дней подкожной имплантации, оно было существенно выше, чем для ФШ. Действительно, преодоление проблемы кальцификации БП является задачей многих исследователей, которые используют различные приемы предварительной обработки биоматериала для повышения его устойчивости к отложению солей кальция [4, 20]. Так, при подкожной имплантации крысам на 30 дней БП-лоскутов, предварительно обработанных глутаровым альдегидом, содержание в них кальция достигало 80 мг/г матрикса, в то время как диэпоксидообработанный БП на протяжении этого же срока имплантации кальцификации не подвергался [20]. Стоит отметить, что использованный в настоящем исследовании метод оценки кальцификации материала после подкожной имплантации мог не в полной мере отразить истинную подверженность ФШ и БП отложению кальция по сравнению, например, с имплантацией матрицков в кровотоки лабораторного животного.

Известно, что фагоцитоз макрофагами является основной причиной деградации фиброиновых волокон. Активация макрофагов способна приводить как к местному, так и системному повышению провоспалительных цитокинов и хемокинов [22]. MCP-1 преимущественно секретируется моноцитами, макрофагами и дендритными клетками, поэтому его уровень в сыворотке крови может напрямую отражать активность биорезорбции имплантированных матрицков и сопровождающее этот процесс асептическое воспаление [23]. Экспрессия провоспалительных цитокинов также способна увеличиваться при активации клеток моноцитарно-макро-

фагального звена на фоне увеличения площади контактирования с фиброинновыми волокнами в процессе их деградации [22].

Результаты нашего исследования подтверждают увеличение в сыворотке крови содержания многофункциональных провоспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-8, а также хемокина МСР-1. При этом концентрация ИЛ-8 и МСР-1 увеличивалась в группе животных с имплантированными ФШ-матриксами спустя 14 сут после имплантации с последующим снижением до исходного значения к окончанию срока эксперимента. Полученная динамика согласуется с литературными данными, что свидетельствует о нарастании и редукции активности макрофагов после подкожной имплантации матриц [22]. Повышенные концентрации ФНО- α наблюдали на всех сроках подкожной имплантации ФШ- и БП-матриц, а также в группе ложнооперированного контроля, что может отражать сочетанную реакцию на резорбцию матриц и репарацию тканей (в частности, формирование соединительнотканного компонента).

ИЛ-6 представляет собой один из важнейших медиаторов острой фазы воспаления. Его стабильное повышение в сыворотке крови крыс с имплантированными матриксами БП может указывать на постоянное поддержание активного воспаления в зоне локации матриц БП. Одной из причин данного явления как процесса более выраженной кальцификации могут быть агенты, используемые для консервации БП [18].

В дополнение к основному исследованию биосовместимости выбранных биоматериалов была оценена способность ФШ и БП адсорбировать на поверхности матриц белки, такие как альбумин и фибриноген. Так, альбумин является основным белком крови и его адсорбция на поверхности биоматериалов, контактирующих с кровью, служит показателем гемосовместимости и тромборезистентности материала [24]. В то же время адсорбция фибриногена на поверхности биологического матрикса может свидетельствовать о повышенном риске тромбообразования при контакте с цельной кровью или ее плазмой, то есть об ухудшении гемосовместимых свойств материала [24]. В настоящем исследовании ФШ, по сравнению с БП, адсорбировал достоверно большее количество как альбумина, так и фибриногена. Вместе с тем в опубликованных

нами ранее результатах ФШ вызывал незначительный гемолиз эритроцитов цельной крови человека, а также минимальную агрегацию и активацию тромбоцитов, что характеризует шелк как материал с оптимальной гемосовместимостью [25]. При этом по ряду изученных параметров ФШ был сопоставим (максимум агрегации тромбоцитов) или превосходил БП (степень гемолиза эритроцитов, активация тромбоцитов) [25].

Заключение

Благодаря устойчивости к преждевременной деградации, оптимальной биосовместимости (которая сопровождается ремоделированием материала с замещением собственной тканью организма) и отсутствию выраженного периимплантационного и системного воспаления ФШ сопоставим с БП, широко используемым в клинической практике. Меньшая подверженность кальцификации и большее сходство с альбумином делают ФШ перспективным для разработки изделий для сосудистой хирургии материалом природного происхождения.

Конфликт интересов

Е.С. Прокудина заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Сенокосова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.О. Кривкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Сеницкая заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.С. Коломеец заявляет об отсутствии конфликта интересов. Н.А. Кочергин заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0003 «Разработка новых изделий медицинского назначения для сердечно-сосудистой хирургии. Переход к персонализированной медицине и высокотехнологичному здравоохранению. Создание систем обработки больших объемов данных, машинного обучения и искусственного интеллекта», при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках национального проекта «Наука и университеты».

Информация об авторах

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

Author Information Form

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

Антонова Лариса Валерьевна, доктор медицинских наук ведущий научный сотрудник лаборатории тканевой инженерии и внутрисосудистой визуализации отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

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

Кривкина Евгения Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-2500-2147

Синицкая Анна Викторовна, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4467-8732

Коломеец Марина Сергеевна, 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** 0009-0003-9323-8893

Кочергин Никита Александрович, кандидат медицинских наук заведующий лабораторией тканевой инженерии и внутрисосудистой визуализации отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1534-264X

Antonova Larisa V., PhD, Leading Researcher, Laboratory of Tissue Engineering and Intravascular visualization, Department of Heart and Vascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

Senokosova Evgeniya A., PhD, Head of Laboratory for Cell Technology, 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 Evgeniya O., Junior Researcher, Laboratory for Cell Technology, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-2500-2147

Sinitskaya Anna V., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4467-8732

Kolomeets Marina S., Junior Researcher, Laboratory for Cell Technology, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0003-9323-8893

Kochergin Nikita A., MD, PhD, Head of Laboratory of Tissue Engineering and Intravascular visualization, Department of Heart and Vascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1534-264X

Вклад авторов в статью

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

АЛВ – анализ данных исследования, написание и корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

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

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

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

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

Author Contribution Statement

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

ALV – data analysis, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

SEA – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

SAV – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KMS – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

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

KNA – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Guhathakurta S., Galla S. Progress in cardiovascular biomaterials. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2019;27(9):744-750. doi:10.1177/0218492319880424.
- Ghanaati S., Orth C., Unger R.E., Barbeck M., Webber M.J., Motta A., Migliaresi C., James Kirkpatrick C. Fine-tuning scaffolds for tissue regeneration: effects of formic acid processing on tissue reaction to silk fibroin. *J Tissue Eng Regen Med.* 2010;4(6):464-72. doi: 10.1002/term.257.
- 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.
- Резцова М. А., Овчаренко Е. А., Глушкова Т. В., Кудрявцева Ю. А., Барбараш Л. С. Оценка резистентности к кальцификации ксеноперикарда, обработанного полигидроксисоединениями. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2021;23(1):75-83. doi:10.15825/1995-1191-2021-1-75-83.
- Кудрявцева Ю. А., Каноныкина А. Ю., Ефремова Н. А., Кошелев В. А. Биосовместимость и особенности деградации полимерных противоспаечных мембран с антибактериальной активностью. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2023;8(4):54-64. doi: 10.23946/2500-0764-2023-8-4-54-64
- Khan G.M.A., Yilmaz N.D., Yilmaz K. Recent developments in biocomposites of Bombyx mori silk fibroin. In: editors V.K. Thakur, M.K. Thakur, M.R. Kessler *Handbook of Composites from Renewable Materials.* Scrivener Publishing LLC, 2017. P. 377-410.
- Moreno-Tortolero R.O., Luo Y., Parmeggiani F., Skaer N., Walker R., Serpell L.C., Holland C., Davis S.A. Molecular organization of fibroin heavy chain and mechanism of fibre formation in Bombyx mori. *Commun Biol.* 2024;7(1):786. doi: 10.1038/s42003-024-06474-1.
- Li S., Yu D., Ji H., Zhao B., Ji L., Leng X. In vivo degradation and neovascularization of silk fibroin implants monitored by multiple modes ultrasound for surgical applications. *Biomed Eng Online.* 2018;17(1):87. doi: 10.1186/s12938-018-0478-4.
- Park S.H., Gil E.S., Kim H.J., Lee K., Kaplan D.L. Relationships between degradability of silk scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials.* 2010;31(24):6162-6172. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.04.028.
- Horan R.L., Bramono D.S., Stanley J.R., Simmons Q., Chen J., Voepfle H.E., Altman G.H. Biological and biomechanical assessment of a long-term bioresorbable silk-derived surgical mesh in an abdominal body wall defect model. *Hernia.* 2009;13(2):189-199. doi: 10.1007/s10029-008-0459-9.
- Антонова Л. В., Великанова Е. А., Сенокосова Е. А., Мухамадияров Р.А., Кривкина Е.О., Кошелев В.А., Миронов А.В., Шабаев А.Р., Сардин Е.С., Прокудина Е.С., Ханова М.Ю., Барбараш Л.С. Особенности ремоделирования матриц из полиуретана в экспериментах на модели овцы. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2023;12(S4):110-119. doi: 10.17802/2306-1278-2023-12-4S-110-119.
- Kiritani S., Kaneko J., Ito D., Morito M., Ishizawa T., Akamatsu N., Tanaka M., Iida T., Tanaka T., Tanaka R., Asakura T., Arita J., Hasegawa K. Silk fibroin vascular graft: a promising tissue-engineered scaffold material for abdominal venous system replacement. *Sci Rep.* 2020;10(1):21041. doi: 10.1038/s41598-020-78020-y.
- Lu X., Zou H., Liao X., Xiong Y., Hu X., Cao J., Pan J., Li C., Zheng Y. Construction of PCL-collagen@PCL@PCL-gelatin three-layer small diameter artificial vascular grafts by electrospinning. *Biomed Mater.* 2022;18(1):015008. doi: 10.1088/1748-605X/aca269.
- Yang L., Wang X., Xiong M., Liu X., Luo S., Luo J., Wang Y. Electrospun silk fibroin/fibrin vascular scaffold with superior mechanical properties and biocompatibility for applications in tissue engineering. *Sci Rep.* 2024;14(1):3942. doi: 10.1038/s41598-024-54638-0.
- Li S., Yu D., Ji H., Zhao B., Ji L., Leng X. In vivo degradation and neovascularization of silk fibroin implants monitored by multiple modes ultrasound for surgical applications. *Biomed Eng Online.* 2018;17(1):87. doi: 10.1186/s12938-018-0478-4.
- Шацкий А. И. Гидролитическая деградация модифицированных полимерных матриц медико-биологического назначения. *Успехи в химии и химической технологии.* 2011;25(3(119)):55-59.
- Cai L., Gao N., Sun T., Bi K., Chen X., Zhao X. Application of an ultrasound semi-quantitative assessment in the degradation of silk fibroin scaffolds in vivo. *Biomed Eng Online.* 2021;20(1):48. doi: 10.1186/s12938-021-00887-3.
- Botes L., Laker L., Dohmen P.M., van den Heever J.J., Jordaan C.J., Lewies A., Smit F.E. Advantages of decellularized bovine pericardial scaffolds compared to glutaraldehyde fixed bovine pericardial patches demonstrated in a 180-day implant ovine study. *Cell Tissue Bank.* 2022;23(4):791-805. doi: 10.1007/s10561-021-09988-8.
- Deutsch O., Bruehl F., Cleuziou J., Prinzing A., Schlitter A.M., Krane M., Lange R. Histological examination of explanted tissue-engineered bovine pericardium following heart valve repair. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2020;30(1):64-73. doi: 10.1093/icvts/ivz234.
- Zhuravleva I.Y., Karpova E.V., Dokuchaeva A.A., Titov A.T., Timchenko T.P., Vasilieva M.B. Calcification of various bioprosthetic materials in rats: is it really different? *Int J Mol Sci.* 2023;24(8):7274. doi: 10.3390/ijms24087274.
- Hernandez J.L., Park J., Yao S., Blakney A.K., Nguyen H.V., Katz B.H., Jensen J.T., Woodrow K.A. Effect of tissue microenvironment on fibrous capsule formation to biomaterial-coated implants. *Biomaterials.* 2021;273:120806. doi: 10.1016/j.biomaterials.2021.120806.
- Lv J., Wang J., Zeng Y., Tian S., Wang F., Zhai Y., Zhou Q., Luo X., Zhang X., Liu B., Zhou C. In vitro chemical treatment of silk increases the expression of pro-inflammatory factors and facilitates degradation in rats. *J Appl Biomater Funct Mater.* 2024;22:1-10. doi: 10.1177/22808000231222704.
- Колотов К.А., Распутин П.Г. Моноцитарный хемотаксический протеин 1 в физиологии и медицине. *Пермский медицинский журнал.* 2018;35(3):99-105. doi: 10.17816/pmj35399%105
- Sevastianov V.I., Rosanova I.B., Vasin S.L., Nemets E.A., Vasilets V.N. Protein adsorption as bridge between the short-term and long-term blood compatibility of biomaterials. In: eds. Park K.D., Know I.C., Yui N., Park S.Y., Park K. *Biomaterials and drug delivery toward new millennium.* Seoul, Korea: Yan Rim Won Publ. Co., 2000. P. 497-515.
- Прокудина Е. С., Сенокосова Е. А., Антонова Л. В., Кривкина Е.О., Великанова Е.А., Акентьева Т.Н., Глушкова Т.В., Матвеева В.Г., Кочергин Н.А. Новый тканеинженерный сосудистый матрикс на основе регенерированного фиброина шелка: исследование in vitro. *Современные технологии в медицине.* 2023;15(4):41-49. doi: 10.17691/stm2023.15.4.04

REFERENCES

- Guhathakurta S., Galla S. Progress in cardiovascular biomaterials. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2019;27(9):744-750. doi:10.1177/0218492319880424.
- Ghanaati S., Orth C., Unger R.E., Barbeck M., Webber M.J., Motta A., Migliaresi C., James Kirkpatrick C. Fine-tuning scaffolds for tissue regeneration: effects of formic acid processing on tissue reaction to silk fibroin. *J Tissue Eng Regen Med.* 2010;4(6):464-72. doi: 10.1002/term.257.

3. 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.
4. Rezvova M.A., Ovcharenko E.A., Glushkova T.V., Kudryavtseva Yu.A., Barbarash L.S. Evaluation of calcification resistance of xenopericardium treated with polyhydroxy compounds. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2021;23(1):75-83. doi:10.15825/1995-1191-2021-1-75-83. (In Russian)
5. Kudryavtseva Y. A., Kanonykina A. Yu., Efremova N. A., Koshelev V. A. Biocompatibility and features of degradation of polymer anti-adhesion membranes with antibacterial activity. *Fundamental and Clinical Medicine.* 2023;8(4):54-64. doi:10.23946/2500-0764-2023-8-4-54-64. (In Russian)
6. Khan G.M.A., Yilmaz N.D., Yilmaz K. Recent developments in biocomposites of Bombyx mori silk fibroin. In: editors V.K. Thakur, M.K. Thakur, M.R. Kessler *Handbook of Composites from Renewable Materials.* Scrivener Publishing LLC, 2017. P. 377-410.
7. Moreno-Tortolero R.O., Luo Y., Parmeggiani F., Skaer N., Walker R., Serpell L.C., Holland C., Davis S.A. Molecular organization of fibroin heavy chain and mechanism of fibre formation in Bombyx mori. *Commun Biol.* 2024;7(1):786. doi:10.1038/s42003-024-06474-1.
8. Li S., Yu D., Ji H., Zhao B., Ji L., Leng X. In vivo degradation and neovascularization of silk fibroin implants monitored by multiple modes ultrasound for surgical applications. *Biomed Eng Online.* 2018;17(1):87. doi:10.1186/s12938-018-0478-4.
9. Park S.H., Gil E.S., Kim H.J., Lee K., Kaplan D.L. Relationships between degradability of silk scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials.* 2010;31(24):6162-6172. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.04.028.
10. Horan R.L., Bramono D.S., Stanley J.R., Simmons Q., Chen J., Boepple H.E., Altman G.H. Biological and biomechanical assessment of a long-term bioresorbable silk-derived surgical mesh in an abdominal body wall defect model. *Hernia.* 2009;13(2):189-199. doi:10.1007/s10029-008-0459-9.
11. Antonova L.V., Velikanova E.A., Senokosova E.A., Mukhamdiyarov R.A., Krivkina E.O., Koshelev V.A., Mironov A.V., Shabaev A.R., Sardin E.S., Prokudina E.S., Khanova M.Y., Barbarash L.S. Features of polyurethane matrix remodeling in sheep model experiments. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2023;12(4S):110-119. doi:10.17802/2306-1278-2023-12-4S-110-119. (In Russian)
12. Kiritani S., Kaneko J., Ito D., Morito M., Ishizawa T., Akamatsu N., Tanaka M., Iida T., Tanaka T., Tanaka R., Asakura T., Arita J., Hasegawa K. Silk fibroin vascular graft: a promising tissue-engineered scaffold material for abdominal venous system replacement. *Sci Rep.* 2020;10(1):21041. doi:10.1038/s41598-020-78020-y.
13. Lu X., Zou H., Liao X., Xiong Y., Hu X., Cao J., Pan J., Li C., Zheng Y. Construction of PCL-collagen@PCL@PCL-gelatin three-layer small diameter artificial vascular grafts by electrospinning. *Biomed Mater.* 2022;18(1):015008. doi:10.1088/1748-605X/aca269.
14. Yang L., Wang X., Xiong M., Liu X., Luo S., Luo J., Wang Y. Electrospun silk fibroin/fibrin vascular scaffold with superior mechanical properties and biocompatibility for applications in tissue engineering. *Sci Rep.* 2024;14(1):3942. doi:10.1038/s41598-024-54638-0.
15. Li S., Yu D., Ji H., Zhao B., Ji L., Leng X. In vivo degradation and neovascularization of silk fibroin implants monitored by multiple modes ultrasound for surgical applications. *Biomed Eng Online.* 2018;17(1):87. doi:10.1186/s12938-018-0478-4.
16. Shaczkiy A. I. Gidroliticheskaya degradaciya modifitsirovanny'x polimerny'x matriksov mediko-biologicheskogo naznacheniya. *Uspexi v khimii i khimicheskoy tekhnologii.* 2011;25(3(119)):55-59. (In Russian)
17. Cai L., Gao N., Sun T., Bi K., Chen X., Zhao X. Application of an ultrasound semi-quantitative assessment in the degradation of silk fibroin scaffolds in vivo. *Biomed Eng Online.* 2021;20(1):48. doi:10.1186/s12938-021-00887-3.
18. Botes L., Laker L., Dohmen P.M., van den Heever J.J., Jordaan C.J., Lewies A., Smit F.E. Advantages of decellularized bovine pericardial scaffolds compared to glutaraldehyde fixed bovine pericardial patches demonstrated in a 180-day implant ovine study. *Cell Tissue Bank.* 2022;23(4):791-805. doi:10.1007/s10561-021-09988-8.
19. Deutsch O., Bruehl F., Cleuziou J., Prinzing A., Schlitter A.M., Krane M., Lange R. Histological examination of explanted tissue-engineered bovine pericardium following heart valve repair. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2020;30(1):64-73. doi:10.1093/icvts/ivz234.
20. Zhuravleva I.Y., Karpova E.V., Dokuchaeva A.A., Titov A.T., Timchenko T.P., Vasilieva M.B. Calcification of various bioprosthetic materials in rats: is it really different? *Int J Mol Sci.* 2023;24(8):7274. doi:10.3390/ijms24087274.
21. Hernandez J.L., Park J., Yao S., Blakney A.K., Nguyen H.V., Katz B.H., Jensen J.T., Woodrow K.A. Effect of tissue microenvironment on fibrous capsule formation to biomaterial-coated implants. *Biomaterials.* 2021;273:120806. doi:10.1016/j.biomaterials.2021.120806.
22. Lv J., Wang J., Zeng Y., Tian S., Wang F., Zhai Y., Zhou Q., Luo X., Zhang X., Liu B., Zhou C. In vitro chemical treatment of silk increases the expression of pro-inflammatory factors and facilitates degradation in rats. *J Appl Biomater Funct Mater.* 2024;22:1-10. doi:10.1177/22808000231222704.
23. Kolotov K.A., Rasputin P.G. Monocitarny'j xemotaksicheskij protein 1 v fiziologii i medicine. *Permskij medicinskij zhurnal.* 2018;35(3):99-105. doi:10.17816/pmj35399%105 (In Russian)
24. Sevastianov V.I., Rosanova I.B., Vasin S.L., Nemets E.A., Vasilets V.N. Protein adsorption as bridge between the short-term and long-term blood compatibility of biomaterials. In: eds. Park K.D., Know I.C., Yui N., Park S.Y., Park K *Biomaterials and drug delivery toward new millennium.* Seoul, Korea: Yan Rim Won Publ. Co., 2000. P. 497-515.
25. Prokudina E.S., Senokosova E.A., Antonova L.V., Krivkina E.O., Velikanova E.A., Akentieva T.N., Glushkova T.V., Matveeva V.G., Kochergin N.A. New tissue-engineered vascular matrix based on regenerated silk fibroin: in vitro study. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2023;15(4):41-49. doi:10.17691/stm2023.15.4.04. (In Russian)

Для цитирования: Прокудина Е.С., Антонова Л.В., Сенокосова Е.А., Кривкина Е.О., Синицкая А.В., Коломеец М.С., Кочергин Н.А. Исследование особенностей деградации, биосовместимости и кальцификации биоматериалов для сосудистой хирургии. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2024;13(4S): 138-149. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-138-149

To cite: Prokudina E.S., Antonova L.V., Senokosova E.A., Krivkina E.O., Sinitskaya A.V., Kolomeets M.S., Kochergin N.A. Study of degradation, biocompatibility and calcification characteristics of biomaterials for vascular surgery. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(4S): 138-149. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-138-149