

УДК 57.083.34:611.1

DOI 10.17802/2306-1278-2026-15-2-85-95

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ АНТИТЕЛ ЧЕЛОВЕКА В ОЦЕНКЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ, ПРОШЕДШИХ ПРЕКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ НА ЖИВОТНОЙ МОДЕЛИ

Е.А. Торгунакова, Е.А. Сенокосова, Е.О. Кривкина, М.Ю. Ханова, М.С. Коломеец,
А.В. Миронов, 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

- Разработаны мультиплексные панели иммунофлуоресцентной визуализации для мониторинга ремоделирования тканеинженерных сосудистых протезов у павианов с применением человек-специфических антител.
- С помощью сканирующей лазерной микроскопии подтверждено, что антитела позволяют детектировать ключевые элементы новообразованной сосудистой ткани спустя 6 месяцев после имплантации протезов в бедренные артерии павианов. Среди выявленных элементов – эндотелиальные клетки, внеклеточный матрикс, гладкомышечноподобные и фибробластоподобные клетки.
- Ремоделированная ткань, сформированная на основе ТСП, по многим параметрам схожа с нативной сосудистой стенкой. Это подтверждает эффективность разработанных панелей для преclinical испытаний и расширяет возможности детекции процессов ремоделирования у моделей павианов.

Цель	Разработка панелей иммунофлуоресцентного исследования на основе человек-специфических антител для возможности расширения детекции ремоделирования тканеинженерных конструкций в ходе преclinical испытаний на модели павианов.
Материалы и методы	Выполнена сравнительная оценка чувствительности иммунофлуоресцентных антител на образцах интактных внутренних грудных артерий человека и образцах эксплантированных тканеинженерных сосудистых протезов (ТСП), имплантированных в бедренные артерии павианов на 6 месяцев. Доказана таргетность человек-специфических антител CD31, vWF, Coll IV, α -SMA и Vimentin в отношении павианов. Разработаны панели флуоресцентной визуализации ремоделирования ТСП. Интенсивность флуоресценции оценивали с помощью сканирующей лазерной микроскопии. Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism 8.
Результаты	Доказано, что использование человек-специфических антител CD31, vWF, Coll IV, α -SMA и виментин позволило детектировать следующие элементы новообразованной сосудистой ткани, сформированных на основе ТСП спустя 6 месяцев после их имплантации в бедренные артерии павианов: эндотелиальные клетки, внеклеточный матрикс, гладкомышечноподобные и фибробластоподобные клетки.
Заключение	Разработанные мультиплексные панели иммунофлуоресцентной визуализации отразили основные признаки ремоделирования ТСП у павианов, по многим параметрам схожей с нативной сосудистой стенкой, что подтверждает их эффективность для мониторинга формирования новообразованной сосудистой ткани.
Ключевые слова	Тканеинженерные сосудистые протезы • Конфокальная микроскопия • Иммунофлуоресценция • Тестирование антител • Таргетность

Поступила в редакцию: 27.01.2026; поступила после доработки: 06.03.2025; принята к печати: 08.04.2026

Для корреспонденции: Евгения Александровна Торгунакова, evgeniyatorgunakova@mail.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Evgeniya A. Torgunakova, evgeniyatorgunakova@mail.ru, address: 6, Academician L.S. Barbarash Boulevard, Kemerovo, Russian Federation, 650002

EFFECTIVENESS OF HUMAN FLUORESCENT ANTIBODIES IN EVALUATING THE REMODELING OF TISSUE-ENGINEERED CONSTRUCTS HAVING UNDERGONE PRECLINICAL TESTING IN AN ANIMAL MODEL

E.A. Torgunakova, E.A. Senokosova, E.O. Krivkina, M.Yu. Khanova, M.S. Kolomeets,
A.V. Mironov, L.V. Antonova

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

Highlights

- Multiplex immunofluorescence imaging panels have been developed for monitoring the remodeling of tissue-engineered vascular prostheses in baboons using human-specific antibodies.
- Scanning laser microscopy has confirmed that antibodies can detect key elements of newly formed vascular tissue 6 months after implantation of prostheses into the femoral arteries of baboons. The identified elements include endothelial cells, extracellular matrix, smooth muscle-like and fibroblast-like cells.
- The remodeled tissue formed on the basis of TSP is similar in many respects to the native vascular wall. This confirms the effectiveness of the developed panels for preclinical testing and expands the possibilities of detecting remodeling processes in baboon models.

Aim	To develop immunofluorescence assay panels based on human-specific antibodies to enable the detection of tissue-engineered construct remodeling during preclinical trials in baboon models.
Methods	A comparative assessment of the sensitivity of immunofluorescent antibodies was performed using samples of intact human internal mammary artery and explanted tissue-engineered vascular prostheses implanted into the femoral arteries of baboon for six months. The cross-reactivity and targeting capability of human antibodies against CD31, vWF, collagen IV, α -smooth muscle actin, and vimentin were demonstrated in relation to baboon tissues. Immunofluorescence visualization panels for assessing the remodeling of tissue-engineered vascular prostheses were developed. Fluorescence intensity was evaluated using scanning laser microscopy. Fluorescence intensity was assessed using scanning laser microscopy. Statistical data processing was performed using GraphPad Prism 8.
Results	It was demonstrated that the use of human antibodies against CD31, vWF, collagen IV, α -smooth muscle actin, and vimentin enabled the detection of key components of newly formed vascular tissue six months after implantation of tissue-engineered vascular prostheses into the femoral arteries of baboons, including endothelial cells, extracellular matrix, smooth muscle-like cells, and fibroblast-like cells.
Conclusion	The developed multiplex immunofluorescence imaging panels reflected the main features of tissue-engineered construct remodeling in primates, which is similar to the native vascular wall in many parameters, confirming their effectiveness for monitoring the formation of newly formed vascular tissue.
Keywords	Tissue-engineered vascular prostheses • Confocal microscopy • Immunofluorescence • Antibody validation • Targeting

Received: 27.01.2026; received in revised form: 06.03.2026; accepted: 08.04.2026

Список сокращений

БА – бедренная артерия КМ – конфокальная микроскопия
ВГА – внутренняя грудная артерия ТСП – тканеинженерный сосудистый протез

Введение

Иммунофлуоресцентный анализ имеет большое значение в детекции тканеобразования на искусственных носителях, особенно при разработке тканеинженерных сосудистых протезов (ТСП), способных к ремоделированию [1]. В этой связи стано-

вится необходимым создание комплексной панели иммунофлуоресцентных маркеров для выявления клеточных элементов и белковых структур, определяющих процессы ремоделирования. Выбор адекватной животной модели является критически важным для преклинической оценки биосовместимости

и долгосрочной эффективности разрабатываемых медицинских изделий. Хотя мелкие животные модели, такие как крысы и мыши, широко используются, они не всегда адекватно отражают физиологические и иммунологические особенности человека. В этом ключе использование овец и нечеловекообразных приматов предпочтительнее вследствие большей схожести анатомии, обмена веществ и гемостазиологического профиля с человеком [2, 3].

При этом доклинические испытания прототипов медицинских изделий на обезьянах занимают примерно 1% от всех исследований на животных. Но именно этот процент работ позволил совершить ряд крупных открытий, спасти жизнь, сохранить здоровье миллионам людей и открыть перспективу успешной профилактики и лечения многих заболеваний [2]. Приматы демонстрируют значительное сходство с человеком с точки зрения физиологии сердечно-сосудистой системы и механизмов тромбообразования, а также высокую предрасположенность к развитию атеросклероза [4–6]. Показатели крови и реактивность у человека и приматов также очень схожи [7]. Нечеловекообразные обезьяны, такие как бабуины, обладают значительным преимуществом в плане большей доступности клеточных маркеров, неинвазивных технологий визуализации, методов оценки тромбоза и ограниченной фиброзной инкапсуляции по сравнению с другими моделями крупных животных. Таким образом, эксперименты на приматах значительно сложнее, чем опыты на классических лабораторных животных – мышах, крысах, кроликах, морских свинках, и, безусловно, дороже. Но в силу чрезвычайной информативности альтернативы им нет [2].

Иммунофлуоресценция – метод, основанный на применении антител, конъюгированных с флуорофорами. Целью данного метода является обнаружение клеточных и внеклеточных структур, а также белков интереса в исследуемых биологических образцах. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия – усовершенствованный вариант флуоресцентной микроскопии, который обеспечивает высокое оптическое разрешение и возможность трехмерной реконструкции тканей за счет подавления расфокусированного света. Применение конфокальной микроскопии (КМ) особенно полезно при анализе многослойных образцов или структур с выраженной пространственной архитектурой, какими являются сосудистые протезы.

Информация, полученная с помощью вышеуказанных методов, используется для комплексной оценки тканеинженерных конструкций. Флуоресцентные технологии в данной области можно рассматривать как универсальные инструменты, позволяющие затронуть несколько видов анализа: морфологический, функциональный и молекулярный. Их совокупное применение формирует ком-

плексное представление о процессе формирования новообразованной ткани.

Таргет и таргетность в иммунофлуоресцентном окрашивании

Иммунофлуоресценция основана на высокоаффинном связывании антител с молекулами-мишенями, что обеспечивает избирательную визуализацию заданных структур в клетках и тканях [8]. Таргет (мишень) в данном контексте – это конкретный белок или другой клеточный компонент (например, CD31, виментин, β -актин), для которого выбраны антитела с известным эпитопом [9, 10]. Эпитоп представляет собой уникальный участок антигена, комплементарный вариабельному участку антитела, и именно он задает молекулярную специфичность взаимодействия. Таргетность отражает способность антител связываться исключительно со своим эпитопом при минимальном фоновом связывании. Высокая таргетность критична для точной локализации флуоресцентного сигнала и предотвращения ложноположительных результатов, особенно при изучении субклеточных структур и белковых комплексов [11].

При этом даже при высокой таргетности возможны ложные сигналы из-за остаточного связывания вторичных антител, поэтому протоколы включают тщательное титрование концентраций реагентов и дополнительные промывки буфером с детергентом, минимизируя фон и сохраняя четкое окрашивание без сигнала в ядре или мембране. Корректное определение мишени и обеспечение высокой таргетности антител являются центральными факторами, гарантирующими воспроизводимость и достоверность результатов иммунофлуоресцентного анализа.

Применение КМ для оценки структуры и функциональности тканевых конструкций

КМ – один из наиболее широко используемых методов получения изображений высокого разрешения в тканевой инженерии [12]. Введение пространственного отверстия (пинхола) в конфокальной плоскости перед детектором позволяет устранить расфокусированный свет от образца, что приводит к значительному улучшению осевого разрешения по сравнению с обычным широкопольным микроскопом [13].

КМ имеет два основных режима – конфокальная отражательная (Confocal Reflection Microscopy, CRM) и конфокальная флуоресцентная (CFM). CRM фиксирует данные о клетках в трех измерениях за конкретное время. В отражательной КМ изображение формируется за счет эластично рассеянного света, поэтому метод не требует введения красителей, минимизирует подготовку образца и особенно подходит для безметочного исследования внеклеточного матрикса. [10]. Например, волокна коллагена дают сильный сигнал обратного рассея-

ния, за счет чего можно получать высококонтрастные трехмерные карты их структуры и длительно отслеживать ремоделирование тканеинженерных конструктов [14]. В флуоресцентном режиме точечное лазерное возбуждение в сочетании с пинхолом обеспечивает субмикронное оптическое сечение, что позволяет визуализировать метки конкретных молекул или клеток, реконструировать 3-D распределение жизнеспособности, экспрессии маркеров и миграции в объемных каркасах [15, 16]. Высокое пространственное разрешение обоих режимов делает их востребованными в механобиологии: миниатюрные устройства для осевой или сдвиговой нагрузки интегрируются в конфокальную ячейку, исследователи наблюдают деформацию волокон внеклеточного матрикса и динамику цитоскелета клеток под механическим воздействием, количественно определяя модуль упругости биоматериалов [17]. Одновременная съемка в отражательной КМ (для структуры матрикса) и флуоресцентной КМ (для клеточных маркеров) дает целостное представление о взаимосвязи «клетка – каркас», что критически важно при разработке и оценке тканеинженерных конструкций [18].

Подбор оптимальной экспериментальной модели для испытаний ТСП – сложная задача, требующей получения данных, максимально сопоставимых с физиологическими характеристиками человека. Для тестирования ТСП в качестве модели для оценки потенциальных рисков протеза был выбран *Раріо hamadryas* (павиан), крупнейший примат, доступный в российских питомниках [19]. Физиологическое сходство между павианами и людьми, особенно в метаболизме и гемостазиологическом профиле, послужило важным обоснованием этого выбора. Новизна настоящей работы заключается в оценке применимости человек-специфических антител на ремоделированных после имплантации ТСП тканях нечеловекообразных приматов, в частности павианов. Используемая в настоящем исследовании панель исходно не была рассчитана на данный биологический материал. Антитела имели прописанную реактивность к человеку, а одно из которых, к африканской зеленой макаке. Возможность прямого сопоставления гистологических и иммуногистохимических особенностей тканей человека и приматов в рутинной практике крайне ограничена. С учетом того, что доклинические исследования на павианах остаются единичными в мировой литературе, методические работы такого рода представляют особый интерес.

Цель настоящего исследования – разработка панелей иммунофлуоресцентного исследования на основе человек-специфических антител для возможности расширения детекции ремоделирования тканеинженерных конструкций в ходе преclinical испытаний на модели павианов.

Материалы и методы

Гистологическое исследование

Эксплантированные образцы ТСП (Подробная технология изготовления ТСП, включая состав полимерного каркаса, была ранее опубликована нами в другой работе(19)), имплантированных в бедренные артерии (БА) павианов на 6 месяцев, фрагменты интактных контрлатеральных БА павианов и участки внутренней грудной артерии (ВГА) человека, забранные во время проведения аортокоронарного шунтирования с предварительным подписанием пациентами добровольного информированного согласия, фиксировали в 10% забуференном формалине (B06-001/М, BioVitrum, Novosibirsk, Russia,) в течение 24 часов, затем промывали проточной водопроводной водой для удаления фиксирующего раствора и обезвоживания в IsoPrep (06-002/М, BioVitrum, Novosibirsk, Russia), оставляли в последней порции на ночь. Затем пропитывали образцы 3 порциями парафина при 56 °С в течение 60 минут в каждой порции. Пропитанные образцы заливали ГИСТОМИКСОМ (247, BioVitrum, Novosibirsk, Russia). Далее изготавливали срезы толщиной 8 мкм с помощью микротомы (HM 325, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), помещали в термостат и сушили в течение ночи при 37 °С. После полного высыхания образцы депарафинизировали в 3 порциях о-ксилола (103118, JSC LENREACTIV, Russia, Saint-Petersburg) в течение 1–2 мин и дегидратировали в 3 порциях 96 % спирта в течение 1–2 мин. Далее депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы окрашивали Гематоксилином Гарриса (05-004, BioVitrum, Russia, Novosibirsk) в течение 15–20 минут, с дальнейшей промывкой в воде до 10 минут. Далее на срезы наносили несколько капель эозина (05-011/L, BioVitrum, Russia, Novosibirsk) на 30 секунд и промывали в воде. После срезы помещали в 96 % спирт. Просветление срезов проводили в о-ксилоле несколько минут с его дальнейшим удалением. На последнем этапе срезы заключали в монтирующую среду Витрогель (12-005, BioVitrum, Russia, Novosibirsk) и исследовали методом световой микроскопии с использованием микроскопа AXIO Imager A1 (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) при увеличении объективов: ×10, ×20.

Методика вычисления интенсивности флуоресценции

Данный протокол был разработан для оценки интенсивности флуоресценции (Mean Fluorescence Intensity, MFI) на изображениях, полученных с использованием КМ. Для выполнения измерений использовали программное обеспечение ImageJ, в котором проводили анализ флуоресцентных изображений в формате RGB. Перед началом анализа изображение загружали в программу через меню.

Для анализа каждое изображение разделили на каналы RGB: Image > Color > Split Channels, что привело к созданию трех отдельных изображений для каждого канала: красного (red), зеленого (green) и синего (blue). В меню Analyze > Set Measurements выбирали параметр Mean gray value, который позволил получить среднюю интенсивность пикселей на всем изображении. После использовали команду Analyze > Measure, чтобы получить значения интенсивности для каждого канала. Эти значения отражали среднюю яркость флуоресцентного сигнала, что помогло количественно оценить распределение флуоресценции в исследуемых образцах. Для дальнейшего анализа было вычислено соотношение интенсивности между различными каналами. Точность и воспроизводимость измерений были получены за счет выбора единообразных параметров съемки и калибровки изображений.

Иммунофлуоресцентное исследование

Для сравнительного иммунофлуоресцентного исследования эксплантированных образцов ТСП, интактной БА павиана и ВГА человека с помощью криотома (Microm HM 525, Thermo Scientific) были изготовлены криосрезы толщиной 8 мкм. Полученные препараты фиксировали в 4% растворе параформальдегида в течение 10 мин, после чего проводили блокировку неспецифического связывания 1% раствором бычьего сывороточного альбумина в течение 1 часа при комнатной температуре. Далее срезы инкубировали с первичными антителами к CD31 (Abcam, ab28364, rabbit polyclonal), vWF (Abcam, ab8822, FITC-conjugated sheep polyclonal, Великобритания), Vimentin (Abcam, ab92547, clone EPR3776, rabbit monoclonal, Великобритания), α -SMA (Abcam, ab7817, clone 1A4, mouse monoclonal, Великобритания), Collagen I (Abcam, ab6308, clone COL-1, mouse monoclonal, Великобритания) и Collagen IV (Abcam, ab6586, rabbit polyclonal, Великобритания).

Для Vimentin использовали разведение 1:200; для α -SMA – 1:1000; для Collagen I и IV – 1:200; для FITC-конъюгированного vWF ab8822 – 1:100. Для CD31 использовали разведение 1:20.

Инкубацию с первичными антителами проводили при 4 °C в течение ночи во влажной камере. После промывок в фосфатно-солевом буфере с детергентом Tween 0,1% срезы инкубировали с вторичными антителами осли к IgG мыши, конъюгированными с Alexa Fluor 488-conjugated (A21202, Thermo Fisher, США) и антителами осли к IgG кролика, конъюгированными с Alexa Fluor 555-conjugated (A31572, Thermo Fisher Scientific, США) в рабочем разведении 1:500 в течение 2 часов при комнатной температуре в темноте. Для ab8822, представляющего собой уже FITC-конъюгированное антитело, стадия со вторичным антителом не требовалась.

Для контрастирования ядер клеток образцы инкубировали с красителем DAPI (10 мкг/мл, Sigma-Aldrich, США) в течение 40 минут. Для избавления от автофлюоресценции окрашенные срезы обрабатывали Autofluorescence Eliminator Reagent (Millipore, США) по методике производителя. Завершающим этапом препараты заключали под покровное стекло с использованием монтирующей среды ProLong (Thermo Fisher, США). Препараты анализировали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 700 (Carl Zeiss, Германия). Конфокальную съемку выполняли при фиксированных параметрах детекции для всех сравниваемых образцов. Z-stack формировали из 4 оптических срезов с шагом 2,0 мкм. Размер пинхола устанавливали на уровне 1 AU. Мощность лазерного излучения, коэффициент усиления детектора и offset подбирали на препаратах отрицательного контроля, после чего не изменяли в пределах одной серии для исключения систематической ошибки при сравнении интенсивности флуоресценции.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов выполняли в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Результаты оценки интенсивности флуоресценции для контрольной и экспериментальной групп представлены в виде столбчатых диаграмм. Для статистического анализа использовался t-критерий Стьюдента, с учетом стандартного отклонения для каждого условия.

Результаты

Результаты сравнительного гистологического исследования

На основании результатов гистологического исследования эксплантированных проходных сосудов протезов выявлено, что спустя 6 месяцев имплантации ТСП в БА павианов, полимерные каркасы протезов подверглись незначительной деградации, выступив основой для формирования новообразованной трехслойной сосудистой ткани толщиной, соответствующей нативному сосуду (неоинтима, медиа и адвентиция): 1 130,3 мкм. Неоинтима была сформирована толщиной 192,9 (138,4; 258,1) мкм, а неоадвентиция – толщиной 233,2 (188,1; 510,4) мкм. Сформировалась неомедиа в совокупности с полимерным каркасом толщиной 704,2 (509,9; 856,3) мкм. Признаки воспаления и кальцификации стенки проходных протезов отсутствовали.

При сравнительной оценке морфологии интактной БА павиана и ВГА человека продемонстрировано выраженное структурное сходство между исследуемыми артериями (рис. 1). В обоих случаях хорошо различимы слои сосудистой стенки: интимальный, медийный и адвентициальный. Отмечается

наличие компактного слоя гладкомышечных клеток в меди, типичного для артерий мышечного типа, а также однородная структура интимы без признаков гиперплазии или воспалительного инфильтрата. Адвентиция представлена рыхлой соединительной тканью с единичными клеточными элементами.

Подтверждение таргентности флуоресцентных человек-специфических антител к павиану

Для подтверждения таргентности антител нами была выбрана методика количественной оценки интенсивности флуоресценции. Для каждого маркера измеряли среднюю яркость в стандартизованных областях интереса, вычитали фоновое свечение из контрольных срезов без первичного антитела, а полученные значения сопоставляли между сериями экспериментов. В результате оценки таргентности флуоресцентных антител было проведено сравнение интенсивности флуоресценции для различных таргетов, включая vWF/CD31, α -SMA/виментин и Coll IV/Coll I, в образцах ткани павиана и человека (рис. 2).

Наибольшую таргентную контрастность показали антитела против виментина, α -SMA и vWF, где разница интенсивности флуоресценции была значительно высокой между исследуемыми образцами. Антитела против коллагена IV и CD31 демонстрируют стабильную таргентность, с сопоставимыми уровнями сигнала в образцах ВГА и БА. В то же время, антитела против коллагена I показали низкую таргентность ткани павиана, что проявлялось минимальной интенсивностью флуоресцентного сигнала и, вероятно, связано с ограниченной перекрестной реактивностью по сравнению с образцами ВГА.

Имунофлуоресцентные панели для анализа сосудистых протезов

Для анализа ремоделирования ТСП были разра-

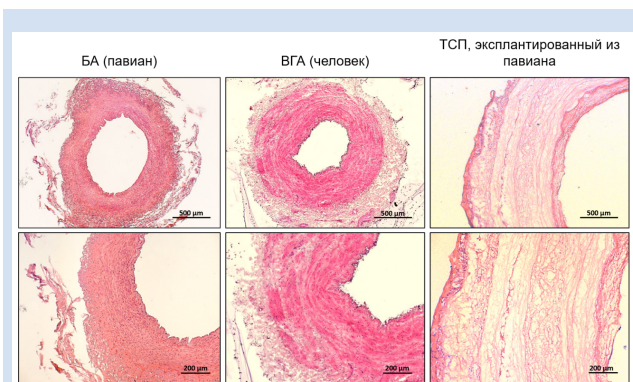


Рисунок 1. Результаты гистологического исследования БА павиана, ВГА человека и ТСП, эксплантационного из павиана. Линейка = 500 мкм и 200 мкм для изображений гематоксилин и эозин

Примечание: БА – бедренная артерия; ВГА – внутренняя грудная артерия; ТСП – тканеинженерный сосудистый протез.

Figure 1. Results of histological examination of the baboon femoral artery (FA), human internal mammary artery (IMA), and tissue-engineered vascular prosthesis (TEVP) explanted from a baboon. Scale bar = 500 μ m and 200 μ m for hematoxylin and eosin images

ботаны и использованы три панели антител, визуализированные методом КМ:

1. CD31 и фактор Виллебранда (vWF)
2. Коллаген I (Coll I) и коллаген IV (Coll IV)
3. α -актин гладких мышц (α -SMA) и виментин (vimentin)

Качественный анализ фокусировался на распределении маркеров, их колокализации и морфологических паттернах.

Панель 1: CD31 и vWF – оценка эндотелиального слоя

На внутренней поверхности ремоделированных ТСП выявлено формирование непрерывного слоя CD31⁺ клеток вдоль просвета, что свидетельствует об успешной эндотелизации (рис. 3). Стоит отметить, что интактная БА павиана не имела столь качественной эндотелизации.

Панель 2: Coll I и Coll IV – анализ внеклеточного матрикса

Coll IV типа в качестве базальной мембраны на поверхности неоинтимы присутствовал во всех

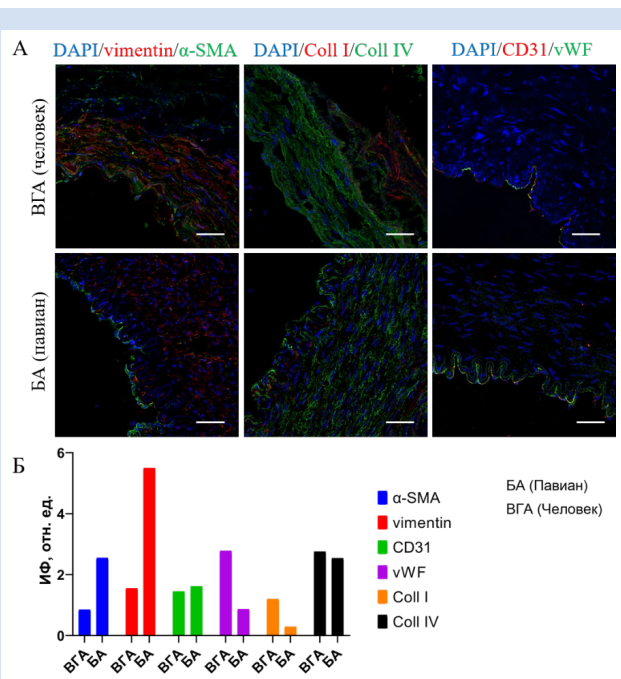


Рисунок 2. Результаты оценки интенсивности флуоресценции БА павиана и ВГА человека при иммунофлуоресцентной окраске антителами: А. КМ образцов, окрашенных иммунофлуоресцентными человек-специфическими антителами против маркеров α -SMA/виментин, Coll IV/Coll I и CD31/vWF, ядра клеток окрашены DAPI, линейка = 50 мкм. В. Сравнительный анализ интенсивности флуоресценции для различных таргетных молекул между артериями павиана и человека **Примечание:** БА – бедренная артерия; ВГА – внутренняя грудная артерия.

Figure 2. Results of fluorescence intensity assessment of the baboon femoral artery (FA), human internal mammary artery (IMA) using immunofluorescence staining with human-specific antibodies: A. Confocal microscopy of samples stained with immunofluorescent human antibodies against α -SMA/vimentin, Coll IV/Coll I, and CD31/vWF markers, Scale bar = 50 μ m. B. Comparative analysis of fluorescence intensity for different target molecules between baboon and human arteries

проходимых протезах, также его наличие зафиксировано в неоадвентиции. Coll I экспрессировался на участках с разной интенсивностью в неоинтиме и неоадвентиции (рис. 4).

Панель 3: α -SMA и виментин

На поверхности неоинтимы со стороны просвета проходимых протезов спустя 6 месяцев имплантации обнаружены клетки, в которых присутствовал виментин, распределение экспрессии данного маркера было схоже с нативной артерией (рис. 5). Толща неоинтимы проходимых протезов также содержала виментин в умеренном количестве и α -SMA.

Таким образом, полученные результаты подтверждают применимость разработанных панелей

на основе человек-специфических флуоресцентных антител для комплексной оценки ремоделирования ТСП, протестированных на модели павиана. Применение оптимизированных маркеров в составе трех разработанных панелей позволило получить воспроизводимые и информативные данные о клеточном составе и морфофункциональных изменениях ремоделированных ТСП.

Обсуждение

Использование разработанных иммунофлуоресцентных панелей позволило провести комплексную оценку ремоделирования ТСП. Такой подход по сравнению с анализом отдельных маркеров одновременно дает информацию о структурной организации, функциональной зрелости и степени

интеграции новообразованной ткани в зоне имплантации. Это особенно важно для ТСП, поскольку успешность их ремоделирования определяется не только присутствием клеток в стенке конструкции, но и формированием организованного эндотелиального слоя, внеклеточного матрикса и клеточных элементов, обеспечивающих механическую и функциональную состоятельность неоткани. Использование мультиплексных панелей позволяет более полно охарактеризовать процессы, лежащие в основе интеграции протеза *in vivo*.

Эндотелиальная панель (CD31/vWF) оказалась информативной не только для обнаружения эндотелиального слоя в ТСП, но и для оценки его функционального состояния: колокализация этих маркеров свидетельствует о зрелости эндотелиального слоя, а локальные зоны повышенного сигнала vWF⁺ могут отражать реакцию эндотелия на физиологическую нагрузку [20]. Матриксная панель (Coll IV/Coll I) дополняет эту картину, предоставляя информацию о формировании базальной мембраны и адаптации внеклеточного матрикса. Сохранение структурной целостности Coll IV и распределение Coll I отражают процесс ремоделирования на границе «протез–нативная ткань», что

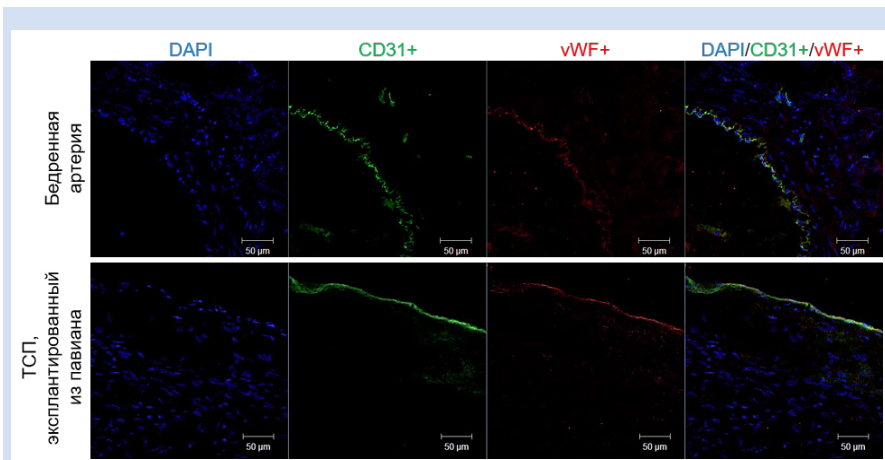


Рисунок 3. Сравнительные результаты иммунофлуоресцентного исследования эксплантированного из павиана ТСП и БА павиана на маркеры зрелых эндотелиальных клеток CD31 (красное свечение) и фактор Виллебранда vWF (зеленое свечение), ядра клеток окрашены DAPI (синее свечение). Линейка = 50 мкм

Figure 3. Comparative results of immunofluorescence examination of tissue-engineered vascular prosthesis and femoral artery explanted from baboons for markers of mature endothelial cells CD31⁺ (red light) and Willebrand factor vWF (green light), nuclear cells stained with DAPI (blue light). Scale bar = 50 μ m

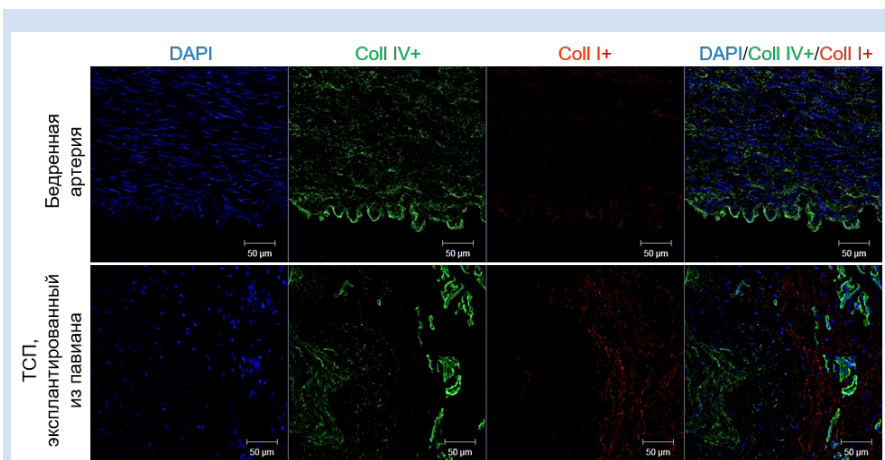


Рисунок 4. Сравнительные результаты иммунофлуоресцентного исследования эксплантированного из павиана ТСП и БА павиана на маркеры коллагена I типа (красное свечение) и коллагена IV типа (зеленое свечение), ядра клеток окрашены DAPI (синее свечение). Линейка = 100 мкм

Figure 4. Comparative results of immunofluorescence examination of tissue-engineered vascular prosthesis and femoral artery explanted from baboons for markers of type I collagen (red light) and type IV collagen (green light), nuclear cells stained with DAPI (blue light). Scale bar = 50 μ m

важно для долговременной стабильности тканеинженерной конструкции [1].

Панель α -SMA/виментин позволяет оценить функциональные характеристики сформированной неоткани, в частности степень организации гладкомышечного слоя. Совместный анализ этих маркеров помогает различить упорядоченное образование мышечных элементов и преобладание фиброзной ткани, что имеет фундаментальное значение для прогноза долговременной проходимости и механической состоятельности протеза [21]. Кроме того, такая оценка дает возможность более точно судить о направлении клеточной дифференцировки и характере тканевой перестройки в толще стенки протеза. В целом предложенные панели представляют собой информативный инструмент для комплексного анализа ремоделирования ТСП и могут быть использованы для более глубокой оценки качества их интеграции в экспериментальных моделях.

Заключение

Доказана высокая таргетность человек-специфических флуоресцентных антител, направленных против ключевых клеточных маркеров и белков внеклеточного матрикса, в оценке ремоделирования ТСП, прошедших преклинические испытания на модели павиана.

Конфликт интересов

Е.А. Торгунакова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Сенокосова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.О. Кривкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Ю. Ханова заявляет об отсутствии конфликта

Информация об авторах

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

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

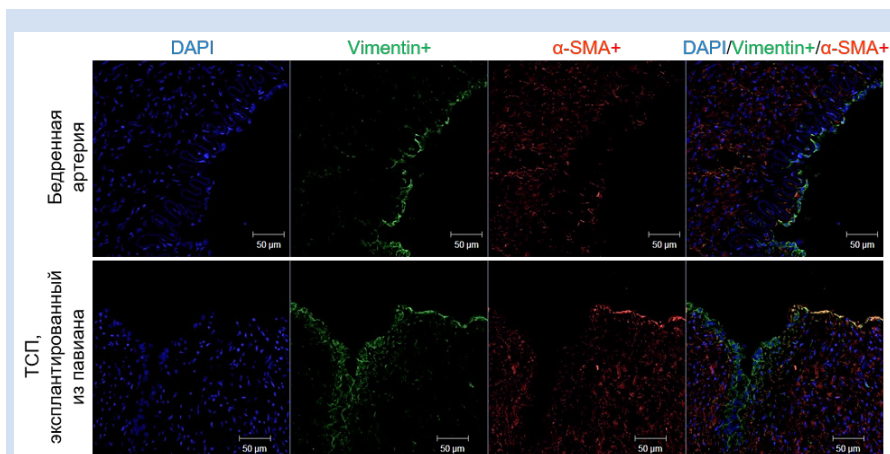


Рисунок 5. Сравнительные результаты иммунофлуоресцентного исследования эксплантированного из павиана ТСП и БА павиана на маркеры α -SMA (красное свечение) и виментин (зеленое свечение), ядра клеток окрашены DAPI (синее свечение). Линейка = 50 мкм

Figure 5. Comparative results of immunofluorescence examination of tissue-engineered vascular prosthesis and femoral artery explanted from baboons for markers α -SMA (red light) and vimentin (green light), nuclear cells stained with DAPI (blue light). Scale bar = 50 μ m

интересов. М.С. Коломеец заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Миронов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Результаты получены при поддержке Российской Федерации в лице Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий от «30» сентября 2022 г. № 075-15-2022-1202, комплексной научно-технической программы полного инновационного цикла «Разработка и внедрение комплекса технологий в областях разведки и добычи твердых полезных ископаемых, обеспечения промышленной безопасности, биоремедиации, создания новых продуктов глубокой переработки из угольного сырья при последовательном снижении эко-логической нагрузки на окружающую среду и рисков для жизни населения» (утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 11 мая 2022 г. № 1144-р).

Author Information Form

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

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

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

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

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

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

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

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

Khanova Mariam Yu., PhD, Researcher, 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

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

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

Antonova Larisa V., MD, Leading Researcher, 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

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

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

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Antonova, L. V., Sevostianova, V. V., Silnikov, V. N., Krivkina, E. O., Velikanova, E. A., Mironov, A. V., Shabaev, A. R., Senokosova, E. A., Khanova, M. Y., Glushkova, T. V., Akentieva, T. N., Sinitetskaya, A. V., Markova, V. E., Shishkova, D. K., Lobov, A. A., Repkin, E. A., Stepanov, A. D., Kutikhin, A. G., & Barbarash, L. S. (2023). Comparison of the Patency and Regenerative Potential of Biodegradable Vascular Prostheses of Different Polymer Compositions in an Ovine Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10), 8540. doi:10.3390/ijms24108540
2. Лапин Б.А., Данилова И.Г. Перспективные направления экспериментального использования обезьян. *Вестник Российской академии наук*. 2020;90(1):40-46. doi:10.31857/S0869587320010077.
3. Bergmeister H., Podesser B.K. Preclinical In Vivo Assessment of Tissue Engineered Vascular Grafts and Selection of Appropriate Animal Models. In: Walpoth, B.H., Bergmeister, H., Bowlin, G.L., Kong, D., Rotmans, J.I., Zilla, P. (eds) *Tissue-Engineered Vascular Grafts. Reference Series in Biomedical Engineering*. 2020; 63-93. Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-030-05336-9_5.
4. Taylor, C. B., Cox, G. E., Manalo-estrella, P., Southworth, J., Patton, D. E., & Cathcart, C. (1962). Atherosclerosis in rhesus monkeys. II. Arterial lesions associated with hypercholesterolemia induced by dietary fat and cholesterol. *Archives of pathology*, 74, 16–34.
5. Gresham, G. A., Howard, A. N., Mcqueen, J., & Bowyer, D. E. (1965). Atherosclerosis in primates. *British journal of experimental pathology*, 46(1), 94–103.
6. Clarkson, T. B., Lofland, H. B., Bullock, B. C., Lehner, N. D., St Clair, R., & Prichard, R. W. (1969). Atherosclerosis in some species of New World monkeys. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 162(1), 103–109. doi:10.1111/j.1749-6632.1969.tb56354.x
7. Didisheim, P., Dewanjee, M. K., Kaye, M. P., Frisk, C. S., Fass, D. N., Wahner, H. W., Tirrell, M. V., & Zollman, P. E. (1984). Nonpredictability of long-term in vivo response from short-term in vitro or ex vivo blood-material interactions. *Transactions - American Society for Artificial Internal Organs*, 30, 370–376.
8. Im, K., Mareninov, S., Diaz, M. F. P., & Yong, W. H. (2019). An Introduction to Performing Immunofluorescence Staining. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1897, 299–311. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_26
9. Wang, J., Guo, Y., Xu, D., Cui, J., Wang, Y., Su, Y., Liu, Y., Shen, Y., Jing, X., & Bai, W. (2022). The immunolocalization of cluster of differentiation 31, phalloidin and alpha smooth muscle actin on vascular network of normal and ischemic rat brain. *Scientific reports*, 12(1), 22288. doi:10.1038/s41598-022-26831-6
10. Saper C. B. (2009). A guide to the perplexed on the specificity of antibodies. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 57(1), 1–5. doi:10.1369/jhc.2008.952770
11. How to choose and use antibodies | Abcam. <https://www.abcam.com/en-us/technical-resources/guides/antibody-basics/how-to-choose-and-use-antibodies> (accessed 17.12.2025) (In Engl.)
12. Smith, L. E., Smallwood, R., & Macneil, S. (2010). A comparison of imaging methodologies for 3D tissue engineering. *Microscopy research and technique*, 73(12), 1123–1133. doi:10.1002/jemt.20859
13. Elliott A. D. (2020). *Confocal Microscopy: Principles and Modern Practices*. *Current protocols in cytometry*, 92(1), e68. doi:10.1002/cpsy.68
14. Zhu, J., & Kaufman, L. J. (2014). Collagen I self-assembly: revealing the developing structures that generate turbidity. *Biophysical journal*, 106(8), 1822–1831. doi:10.1016/j.bpj.2014.03.011
15. Bardsley, K., Deegan, A. J., El Haj, A., & Yang, Y. (2017). Current State-of-the-Art 3D Tissue Models and Their Compatibility with Live Cell Imaging. *Advances in experimental medicine and biology*, 1035, 3–18. doi:10.1007/978-3-319-67358-5_1
16. López-Chicón, P., Riba-Tietz, T., Fariñas, O., Gelber, P. E., Casaroli-Marano, R. P., & Vilarrodona, A. (2022). A Comparative Study Using Fluorescent Confocal Microscopy and Flow Cytometry to Evaluate Chondrocyte Viability in Human Osteochondral Allografts. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 9(10), 515. doi:10.3390/bioengineering9100515
17. Poole, J. J. A., & Mostaçõ-Guidolin, L. B. (2021). Optical Microscopy and the Extracellular Matrix Structure: A Review. *Cells*, 10(7), 1760. doi:10.3390/cells10071760
18. Wu, Y., & Wagner, W. D. (2024). Syndecan-4 Functionalization Reduces the Thrombogenicity of Engineered Vascular Biomaterials. *Annals of biomedical engineering*, 52(7), 1873–1882. doi:10.1007/s10439-023-03199-w
19. 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
20. Naito, Y., Williams-Fritze, M., Duncan, D. R., Church, S. N., Hibino, N., Madri, J. A., Humphrey, J. D., Shinoka, T., & Breuer, C. K. (2012). Characterization of the natural history of extracellular matrix production in tissue-engineered vascular grafts during neovessel formation. *Cells, tissues, organs*, 195(1-2), 60–72. doi:10.1159/000331405
21. Fayon, A., Menu, P., & El Omar, R. (2021). Cellularized small-caliber tissue-engineered vascular grafts: looking for the ultimate gold standard. *NPJ Regenerative medicine*, 6(1), 46. doi:10.1038/s41536-021-00155-x

REFERENCES

1. Antonova, L. V., Sevostianova, V. V., Silnikov, V. N., Krivkina, E. O., Velikanova, E. A., Mironov, A. V., Shabaev, A. R., Senokosova, E. A., Khanova, M. Y., Glushkova, T. V., Akentieva, T. N., Sinitetskaya, A. V., Markova, V. E., Shishkova, D. K., Lobov, A. A., Repkin, E. A., Stepanov, A. D., Kutikhin, A. G., & Barbarash, L. S. (2023). Comparison of the Patency and Regenerative Potential of Biodegradable Vascular Prostheses of Different Polymer Compositions in an Ovine Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10), 8540. doi:10.3390/ijms24108540
2. Lapin B.A., Danilova I.G. Perspektivny'e napravleniya eksperimental'nogo ispol'zovaniya obez'yan. *Vestnik Rossijskoj akademii nauk*. 2020;90(1):40-46. doi:10.31857/S0869587320010077.
3. Bergmeister H., Podesser B.K. Preclinical In Vivo Assessment of Tissue Engineered Vascular Grafts and Selection of Appropriate Animal Models. In: Walpoth, B.H., Bergmeister, H., Bowlin, G.L., Kong, D., Rotmans, J.I., Zilla, P. (eds) *Tissue-Engineered Vascular Grafts. Reference Series in Biomedical Engineering*. 2020; 63-93. Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-030-05336-9_5.
4. Taylor, C. B., Cox, G. E., Manalo-estrella, P., Southworth, J., Patton, D. E., & Cathcart, C. (1962). Atherosclerosis in rhesus monkeys. II. Arterial lesions associated with hypercholesterolemia induced by dietary fat and cholesterol. *Archives of pathology*, 74, 16–34.

5. Gresham, G. A., Howard, A. N., Mcqueen, J., & Bowyer, D. E. (1965). Atherosclerosis in primates. *British journal of experimental pathology*, 46(1), 94–103.
6. Clarkson, T. B., Lofland, H. B., Bullock, B. C., Lehner, N. D., St Clair, R., & Prichard, R. W. (1969). Atherosclerosis in some species of New World monkeys. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 162(1), 103–109. doi:10.1111/j.1749-6632.1969.tb56354.x
7. Didisheim, P., Dewanjee, M. K., Kaye, M. P., Frisk, C. S., Fass, D. N., Wahner, H. W., Tirrell, M. V., & Zollman, P. E. (1984). Nonpredictability of long-term in vivo response from short-term in vitro or ex vivo blood-material interactions. *Transactions - American Society for Artificial Internal Organs*, 30, 370–376.
8. Im, K., Mareninov, S., Diaz, M. F. P., & Yong, W. H. (2019). An Introduction to Performing Immunofluorescence Staining. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1897, 299–311. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_26
9. Wang, J., Guo, Y., Xu, D., Cui, J., Wang, Y., Su, Y., Liu, Y., Shen, Y., Jing, X., & Bai, W. (2022). The immunolocalization of cluster of differentiation 31, phalloidin and alpha smooth muscle actin on vascular network of normal and ischemic rat brain. *Scientific reports*, 12(1), 22288. doi:10.1038/s41598-022-26831-6
10. Saper C. B. (2009). A guide to the perplexed on the specificity of antibodies. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 57(1), 1–5. doi:10.1369/jhc.2008.952770
11. How to choose and use antibodies | Abcam. <https://www.abcam.com/en-us/technical-resources/guides/antibody-basics/how-to-choose-and-use-antibodies> (accessed 17.12.2025) (In Engl.)
12. Smith, L. E., Smallwood, R., & Macneil, S. (2010). A comparison of imaging methodologies for 3D tissue engineering. *Microscopy research and technique*, 73(12), 1123–1133. doi:10.1002/jemt.20859
13. Elliott A. D. (2020). *Confocal Microscopy: Principles and Modern Practices*. *Current protocols in cytometry*, 92(1), e68. doi:10.1002/cpcy.68
14. Zhu, J., & Kaufman, L. J. (2014). Collagen I self-assembly: revealing the developing structures that generate turbidity. *Biophysical journal*, 106(8), 1822–1831. doi:10.1016/j.bpj.2014.03.011
15. Bardsley, K., Deegan, A. J., El Haj, A., & Yang, Y. (2017). Current State-of-the-Art 3D Tissue Models and Their Compatibility with Live Cell Imaging. *Advances in experimental medicine and biology*, 1035, 3–18. doi:10.1007/978-3-319-67358-5_1
16. López-Chicón, P., Riba-Tietz, T., Fariñas, O., Gelber, P. E., Casaroli-Marano, R. P., & Vilarrodona, A. (2022). A Comparative Study Using Fluorescent Confocal Microscopy and Flow Cytometry to Evaluate Chondrocyte Viability in Human Osteochondral Allografts. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 9(10), 515. doi:10.3390/bioengineering9100515
17. Poole, J. J. A., & Mostaçõ-Guidolin, L. B. (2021). Optical Microscopy and the Extracellular Matrix Structure: A Review. *Cells*, 10(7), 1760. doi:10.3390/cells10071760
18. Wu, Y., & Wagner, W. D. (2024). Syndecan-4 Functionalization Reduces the Thrombogenicity of Engineered Vascular Biomaterials. *Annals of biomedical engineering*, 52(7), 1873–1882. doi:10.1007/s10439-023-03199-w
19. 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
20. Naito, Y., Williams-Fritze, M., Duncan, D. R., Church, S. N., Hibino, N., Madri, J. A., Humphrey, J. D., Shinoka, T., & Breuer, C. K. (2012). Characterization of the natural history of extracellular matrix production in tissue-engineered vascular grafts during neovessel formation. *Cells, tissues, organs*, 195(1-2), 60–72. doi:10.1159/000331405
21. Fayon, A., Menu, P., & El Omar, R. (2021). Cellularized small-caliber tissue-engineered vascular grafts: looking for the ultimate gold standard. *NPJ Regenerative medicine*, 6(1), 46. doi:10.1038/s41536-021-00155-x

Для цитирования: Торгунакова Е.А., Сенокосова Е.А., Кривкина Е.О., Ханова М.Ю., Коломеец М.С., Миронов А.В., Антонова Л.В. Эффективность флуоресцентных антител человека в оценке ремоделирования тканеинженерных конструкций, прошедших преκлинические испытания на животной модели. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2026;15(2): 85-95. DOI: 10.17802/2306-1278-2026-15-2-85-95

To cite: Torgunakova E.A., Senokosova E.A., Krivkina E.O., Khanova M.Yu., Kolomeets M.S., Mironov A.V., Antonova L.V. Effectiveness of human fluorescent antibodies in evaluating the remodeling of tissue-engineered constructs having undergone preclinical testing in an animal model. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2026;15(2): 85-95. DOI: 10.17802/2306-1278-2026-15-2-85-95