

УДК 616.13-77:577.11

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЭЛЕКТРОСПИННИНГА В СОЗДАНИИ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ СОСУДИСТЫХ ГРАФТОВ МАЛОГО ДИАМЕТРА: ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ (ОБЗОР)

Л. В. АНТОНОВА, В. Г. МАТВЕЕВА, Л. С. БАРБАРАШ

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия*

В обзоре представлены основные тенденции, которых придерживаются современные ученые при создании тканеинженерных сосудистых графтов (ТИСГ). В последние годы активно ведутся работы, направленные на создание «готовых к использованию» графтов для нужд экстренной сосудистой хирургии, способных поддерживать клеточную миграцию, пролиферацию и жизнеспособность в условиях организма. Для этого разрабатываются высокопористые трубчатые конструкции с максимальным сходством архитектоники поверхностей со структурой внеклеточного матрикса с целью скорейшего и эффективного заселения конструкции собственными клетками после имплантации в сосудистое русло. Высокопористые конструкции на основе нано- и микроволокон способны стимулировать воссоздание собственного эндотелиального монослоя на внутренней поверхности и образование ткани *de novo* в толще стенок трубчатых конструкций за счет миграции собственных клеточных элементов из крови и окружающих тканей.

Популярным материалом для изготовления каркасов будущих ТИСГ являются биосовместимые биорезорбируемые полимеры, а наиболее популярным методом изготовления – метод электроспиннинга, позволяющий получать высокопористые сосудистые графты разного диаметра с различными прочностными характеристиками. Однако в процессе электроспиннинга из нано- и микро-размерных нитей формируются поры, размер которых зачастую недостаточен для миграции и пролиферации собственных клеток в толщу стенки графта после его имплантации в сосудистое русло. Поэтому в обзоре дополнительно освещены подходы по увеличению пор матрикса, изготовленных методом электроспиннинга.

**Ключевые слова:** электроспиннинг, тканеинженерный сосудистый графт, биodeградируемые полимеры.

## ELECTROSPINNING AND BIODEGRADABLE SMALL-DIAMETER VASCULAR GRAFTS: PROBLEMS AND SOLUTIONS (REVIEW)

L. V. ANTONOVA, V. G. MATVEEVA, L. S. BARBARASH

*Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute  
for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia*

This review describes the main trends in the creation of tissue-engineered vascular grafts. These grafts are intended for use in urgent vascular surgery. Therefore, they should be ready-to-use and be able to sustain cell migration, proliferation, and viability *in vivo*. To achieve this aim, various research groups attempt to develop highly porous tubular constructs with surface architectonics similar to the extracellular matrix structure. This promotes a colonization of this construct by the host cells after the vascular implantation. Highly porous constructs made of nano- and microfibers are able to enhance the restoration of the endothelial monolayer on the inner surface and *de novo* tissue formation in the walls due to migration of cells from the bloodstream and surrounding tissues. Biocompatible biodegradable polymers are frequently used as a material for the scaffolds of tissue-engineered vascular grafts; electrospinning is the most widespread technique for the preparation of highly porous vascular grafts. However, pore size is often not enough for efficient cell migration and proliferation after the vascular implantation. Therefore, we focused on techniques for increasing the pore size.

**Key words:** electrospinning; tissue-engineered vascular graft; biodegradable polymers.

Сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смерти во всем мире. В 2008 году смертность от сердечно-сосудистых заболеваний составила 17,3 млн человек, в том числе от ишемической болезни сердца – 7,3 млн [1]. Атеросклеротическое поражение сосудов вызывает образование под интимальным слоем бляшек, которые сокращают площадь поперечного сечения просвета сосудов, приводя к снижению притока крови к тканям, расположенным ниже зоны поражения

[2]. В настоящее время эффективной методикой оперативного восстановления кровотока в суженной или закупоренной артерии является операция артериального шунтирования или протезирования с использованием сосудистых протезов. Шунтирующие операции, как правило, выполняются для реваскуляризации периферических или коронарных сосудов [3]. Суть их заключается в создании кровотока в обход непроходимого участка артерии. Каждый год несколько миллионов пациентов по всему

миру нуждаются в протезировании артерий малого и среднего диаметра, так как именно патология данных сосудов является основной причиной смерти населения во всем мире [4–6].

Сегодня использование аутотрансплантатов остается стандартным клиническим подходом для протезирования кровеносных сосудов малого диаметра (внутренний диаметр (ID) < 6 мм). Однако при использовании этих протезов отмечены следующие проблемы и недостатки:

1. Необходимость проведения дополнительных хирургических процедур с увеличением риска и материальных затрат [7].

2. Травматичность получения аутотрансплантатов, повышающая вероятность развития инфекционно-воспалительных осложнений в области «изъятия» сосуда [8].

3. Около 30 % пациентов не обладают подходящими для трансплантации сосудами (отсутствие у пациента подходящего для трансплантации сосуда, ввиду их предыдущего использования, вовлеченности в патологический процесс или потребности в нескольких сосудах) [9].

4. Аутоветны, несмотря на артериализацию стенок после трансплантации, не отличаются адекватными вазомоторными свойствами, склонны к тромбированию и аневризматическому расширению [10, 11].

**Тканевая инженерия кровеносных сосудов**

Тканевая сосудистая инженерия является перспективным подходом в преодолении проблем, связанных с использованием аутотрансплантатов

и негативных свойств синтетических протезов. В настоящее время в области тканевой инженерии сосудов малого диаметра ведутся исследования в таких направлениях, как: использование децеллюляризованных ксенососудов для создания биоинженерных сосудистых трансплантатов, природных и/или биodeградируемых синтетических полимеров для создания каркаса сосудистых трансплантатов, бескаркасные тканеинженерные сосудистые графты (рис.).

В идеале основные характеристики тканеинженерного и нативного сосуда должны совпадать.

**Функциональные требования, предъявляемые к сосудистым графтам**

Важной функцией тканеинженерного сосудистого графта (ТИСГ), интегрированного в смежные кровеносные сосуды, является поддержание нагрузки от давления крови и обеспечение циркуляции крови без протекания, что достигается приданием протезам удовлетворительных механических свойств и проницаемости. Другие основные требования к тканеинженерным сосудистым графтам – это биосовместимость и биоактивность. Кроме этого, механические свойства, экспрессия адгезивных лигандов, кинетика высвобождения биологически активных молекул, инкорпорированных в поверхность скаффолдов, должны в разумной степени имитировать окружение нативного внеклеточного матрикса (ВКМ). Полезно использовать рентабельные и гемосовместимые материалы с регулируемыми свойствами [12]. Однако нет необходимости в точном воспроиз-

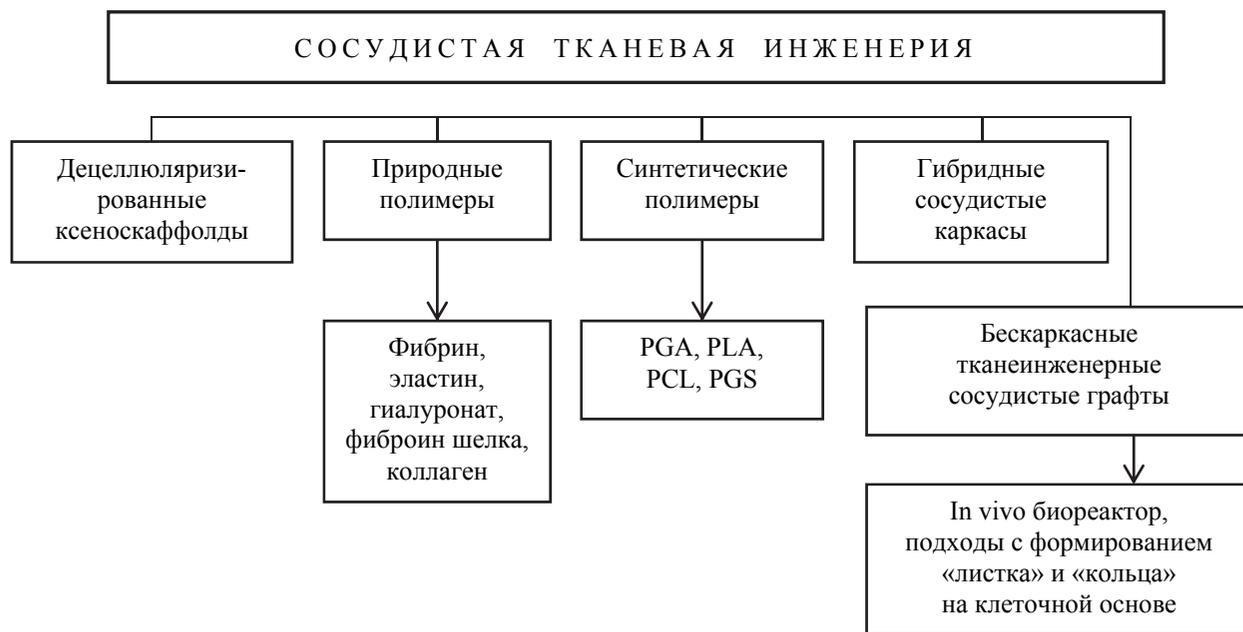


Рис. Основные направления разработок в области сосудистой тканевой инженерии

ведении структуры нативной ткани. Достаточно, чтобы ТИСГ удовлетворял основным критериям [13, 14]. Например, графт для имплантации в артериальный сосуд должен обладать прочностью на разрыв выше 260 кПа, что предотвращает возможность его разрыва на фоне повышения артериального давления [3, 14]. Для противостояния циклической нагрузке в пределах физиологического диапазона крайне важна соответствующая эластичность графта [14]. Спроектированный тканеинженерный сосудистый графт должен быть совместим со смежным сосудом пациента и обеспечивать антитромботический потенциал [2]. Важно, чтобы имплантированный тканеинженерный сосудистый графт минимизировал возможность развития гиперплазии неоинтимы и допускал регенерацию из смежных артериальных тканей.

В последние годы активно ведутся работы, направленные на создание «готовых к использованию» графтов, предполагающих имплантацию бесклеточных каркасов сосудов для дальнейшего заселения клетками в условиях организма. Цель этого подхода заключается в разработке доступных трансплантатов для экстренной сосудистой хирургии.

#### Метод электроспиннинга

Метод электроспиннинга является универсальным методом для изготовления нано/микромасштабных волокон, обладающих большим потенциалом для имитации микроархитектоники природного ВКМ, что является одним из факторов успешного функционирования имплантируемого тканеинженерного сосудистого графта [15]. Кроме того, электроспиннинг позволяет изменять диаметр нитей внутри и снаружи создаваемой конструкции [16]. Доступны многочисленные обзоры, рассматривающие фундаментальные принципы и использование электроспиннинга, его историческое развитие и различные варианты модификации данной технологии [17–23]. Способность метода электроспиннинга объединять достоинства синтетических и естественных материалов делает его особенно привлекательным для изготовления ТИСГ, где требуются высокая механическая стойкость, представленная высокой прочностью на разрыв, и эластичность. Кроме того, объединение натуральных полимеров с субстратами, имеющими сайты для связывания с клетками, может способствовать формированию монослоя эндотелиальных клеток и их дальнейшей пролиферации. Технология электроспиннинга также предполагает точный контроль над составом, диаметром и ориентацией волокон, которые оказывают влия-

ние на размер и распределение пор, что в целом формирует общую архитектуру графта.

#### Скаффолды на основе биodeградируемых полимеров, изготовленные методом электроспиннинга

Основным требованием к биodeградируемым скаффолдам является создание микроструктуры, способной обеспечить структурную поддержку и направленную регенерацию тканей. В этом аспекте идеальный каркас должен обладать хорошей биосовместимостью, способностью к биodeградации с управляемой кинетикой разложения, адекватными механическими свойствами. При этом процедура изготовления каркаса не должна быть сложной. По сравнению с природными, биodeградируемые полимеры, как правило, демонстрируют более высокие механические свойства, пригодные для создания сосудистых графтов. Кроме того, полимер может быть получен в больших количествах, а его производство отличается высокой воспроизводимостью основных характеристик при синтезе различных партий [24, 25]. Среди биodeградируемых полимеров в сосудистой тканевой инженерии используют полигликолевую кислоту (PGA), полимолочную кислоту (PLA), поли-ε-капролактон (PCL), полиглицеролсебакат (PGS) и полигидроксиалканоаты (PHA).

В 1999 году группой исследователей была предложена конструкция скаффолда из сополимера PGA и PHA [26]. Смешанная популяция аутологичных клеток (эндотелиальные, гладкомышечные и фибробластоподобные), полученная из сонных артерий овцы, культивировалась на скаффолдах, после чего ТИСГ были имплантированы в брюшную аорту ягнят на 5 месяцев. За это время все графты оставались проходимы, аневризм не отмечено. Гистологический анализ подтвердил наличие эластических волокон в средней оболочке и эндотелиальных клеток – во внутренней. Во время периода имплантации механические свойства ТИСГ изменились и стали схожи с показателями нативных сосудов.

В 2001 году Shin'oka с коллегами выполнил первую трансплантацию ТИСГ 4-летнему ребенку [27]. Сосудистый графт состоял из PGA сетки с покрытием сополимером 50:50 L-лактида и ε-капролактона. Предварительно *in vitro* графт был заселен аутологичными эндотелиальными клетками, выделенными из периферической вены. После семи месяцев имплантации не было зарегистрировано аневризмы или стеноза имплантата.

Особое внимание исследователей в области создания ТИСГ из биорезорбируемых полиме-

ров привлечено к PCL – полимеру, обладающему высокой эластичностью и механической прочностью. Свойства PCL были изучены в различных форматах: как самостоятельной структуры [28, 29, 30], в виде многослойного покрытия (PGA – PCL – PGA) [31], в форме нанесенного методом электроспиннинга покрытия на каркас из PGS [32], как сополимера с L-лактидом [33, 34].

Продемонстрировано, что графты из PCL, выполненные методом электроспиннинга, имели показатели эластичности, аналогичные нативным артериям, и медленную деградацию, способствующую клеточной инфильтрации и регенерации тканей. В ходе 18-месячного наблюдения за PCL-графтами, изготовленными методом электроспиннинга и имплантированными в аорту крыс, выявлено, что в первые 6 месяцев графты индуцировали регенерацию тканей с быстрой колонизацией и хорошей неоваскуляризацией [28]. Гистологический анализ показал хорошее проникновение и распространение в трансплантате фибробластов и макрофагов в основном с внешней стороны (адвентиция). При этом фибробласты дифференцировались в миофибробласты, формировался собственный ВКМ, а макрофаги синтезировали ангиогенные факторы, индуцируя неоваскуляризацию. Однако после 6 месяцев имплантации отмечался четкий регресс в регенерации тканей с уменьшением количества капилляров и фибробластов, увеличением кальцификации и снижением клеточности интимы. Деградация ткани была вызвана исчезновением макрофагов, что повлекло снижение неоваскуляризации, приведшей к уменьшению притока кислорода и питательных веществ и сокращению количества миофибробластов. Кроме того, формирование кальцификатов было связано с процессом хрящевой метаплазии, что изначально инициировалось трансдифференцировкой гладкомышечных клеток в хондроциты в слоях гиперплазии интимы [28]. Таким образом, графты из PCL, разработанные de Valence и коллегами, продемонстрировали недостаточную регенерацию кровеносных сосудов при длительной имплантации *in vivo* (18 месяцев), что явилось неожиданностью после получения перспективных результатов в предыдущем 6-месячном эксперименте, выполненном E. Rektok и группой исследователей, в котором графты из PCL, изготовленные методом электроспиннинга и имплантированные в брюшную часть аорты крыс на 6 месяцев, показали хорошую проходимость, структурную целостность, быструю эндотелизацию, формирование ВКМ и деградацию волокон PCL [35].

### **Гибридные скаффолды из биорезорбируемых и природных полимеров, изготовленные методом электроспиннинга**

Учитывая особенности биорезорбируемых и природных полимеров, предприняли попытки создания гибридных скаффолдов, объединивших в себе адекватные механические свойства биорезорбируемых материалов с превосходной биологической совместимостью природных полимеров. В таблице 1 указаны самые актуальные и свежие исследования (2008–2013 годы) по созданию ТИСГ с использованием гибридных скаффолдов из природных и биодеградируемых полимеров с акцентом на способе получения и оценке механических и биологических характеристик.

В настоящее время для изготовления ТИСГ с использованием гибридных подходов особое внимание уделяется комбинации PCL с природными полимерами, такими как эластин [36, 37] и коллаген [37–39]. Так, добавление тропоэластина к PCL в процессе электроспиннинга позволило улучшить механические свойства гибридных скаффолдов, которые приблизились к показателям нативных кровеносных сосудов [24, 36] (табл.).

### **Феномен клеточной инфильтрации биодеградируемых сосудистых графтов, изготовленных методом электроспиннинга**

Проникновение клеток внутрь скаффолдов имеет большое значение с точки зрения производства 3D клеточных конструкций и усиления интеграции между тканью хозяина и скаффолдом после имплантации [42]. Матрицы на основе нанонитей, изготовленные методом электроспиннинга, считаются многообещающей структурой для поддержания клеточной адгезии и пролиферации. Однако существуют проблемы миграции клеток в толщу подобных матриц. Тем не менее проведено лишь несколько исследований, в которых авторы пытались раскрыть механизмы клеточного проникновения в толщу матриц, изготовленных методом электроспиннинга, и определены факторы, способствующие данному процессу. Li и другие первыми сообщили о своих наблюдениях за проникновением клеток в толщу стенки скаффолда, изготовленного методом электроспиннинга [43]. Фибробласты мигрировали в стенку графтов через поры и адгезировались под слоем нанонитей, изготовленных на основе poly-(lactico-glycolic кислота) (PLGA). Zhang и другие сообщили о различиях в скорости пролиферации и миграции стромальных клеток костного мозга

Таблица

Данные литературы (2008–2013 гг.) по изучению свойств TEUG, созданных на основе природных и биорезорбируемых полимеров методом электроспиннинга

Материал	Метод формирования	Диаметр, мм	Механические свойства	Биологические свойства in vitro	Биологические свойства in vivo	Источник
Смесь PCL + эластин + коллаген I типа	Электроспиннинг трех слоев с разным соотношением полимеров с использованием цилиндрического вращающегося мандрена	2	СУШ – 91–189 gf; ДР – 2387–3000 мм рт. ст.; Р – 2,83–0,77 %/100 мм рт. ст. Повышение содержания PCL и снижение эластичности дает повышение SUШ и ДР и снижение Р	–	–	[37]
Рекомбинантный человеческий трополастин (внутренний слой) + PCL (наружный слой)	Электроспиннинг с использованием вращающегося мандрена, шивание в парах глютардегида	2,8	Е – 300 кПа, ДР – 1900 мм рт. ст.; Р – 0,065 кПа; ГП – минимальная. Контроль: внутренняя грудная артерия Е – 267±46 кПа, ДР – 2267±215 мм рт. ст.; Р – 0,09 кПа	SEM и ФМ (3 дня): адгезия и пролиферация HUVEC. Меньшая адгезия тромбоцитов по сравнению с ePTFE и PCL	Модель: кролики (1 мес.). Физиологическая интеграция, нет расширения, расхождения краев анастомоза. Механические свойства имплантированных графтов схожи с контролем	[36]
PGA + PLLA + коллаген I типа	Коллагеновая микрогубка + тканая трубка из нити (PLLA + PGA), изготовленная методом спиннинга в воздушной струе	4	Тест аксиального напряжения перед имплантацией: ППР – 30 мПа; Е – 210 мПа; после имплантации: ППР – 5–9 мПа; Е – 70–100 мПа; нативная сонная артерия: ППР – 7,5 мПа; Е – 60 мПа	Культура клеток NIH / 3T3 или HUVEC (3 дня). SEM анализ: лучшая адгезия и пролиферация для трансплантатов с коллагеном	Модель: собаки (12 мес.). Бесклеточный графт: 100 % проходимость, без тромбозов и аневризм, отличная клеточная регенерация; полная эндотелизация; ГМК, эластин, волокна коллагена. Волокна PGA полностью деградируют за 2 месяца, волокна PLLA не деградируют в течение 12 месяцев	[101]
Смесь PCL + коллаген I типа	Электроспиннинг с использованием вращающегося мандрена	4,75	СУШ – 3,0±1,1 N; ДР – 4915±155 мм рт. ст.; Р – 5,6±1,6 %/100 мм рт. ст. Тест аксиального напряжения: ППР – 4,0±0,4 мПа; Е – 2,7±1,2 мПа; e <sub>p</sub> – 140±13 %. Сохранение механических свойств при растяжении в перфузируемой системе биореактора при сверхфизиологических условиях в течение четырех недель. Нативная коронарная артерия свиньи: ППР – 2,5 мПа; Е – 1 мПа; e <sub>p</sub> – 100 %	ES и ГМК выделены из сонной артерии быка. Цитотоксичность через прямой контакт (7 дней – МТТ-тест): нет различий жизнеспособности клеток на образцах и ТКП. Биосовместимость (7 дней – МТТ-тест): адгезия и пролиферация ES и ГМК. Культура клеток на трубчатых графтах (48 ч – SEM и гистология): ГМК формируют множество клеточных слоев на внешней стороне, ES формируют монослой на внутренней стороне	–	[38]

Материал	Метод формирования	Диаметр, мм	Механические свойства	Биологические свойства in vitro	Биологические свойства in vivo	Источник
Смесь PCL + коллаген I типа	Электроспиннинг с использованием вращающегося мандрена	4,75	Тест циркулярного напряжения: перед имплантацией: ППП – 1,8 мПа; после имплантации: ППП – 0,8 мПа; по сравнению с нативной аортой: ППП – 1,2 мПа	ЕС получены из EPC изолированных из печени овец; ГМК изолированы из артерии овец; динамичное культивирование в пульсирующем биореакторе при физиологических условиях (9 дней). SEM + гистология: ЕС формируют сливающийся слой на внутренней стороне, ГМК – многослойную структуру на внешней стороне	Адгезии тромбоцитов (модель – живая овца) в течение 15 мин: нет адгезии на заселенных графтах, обильные адгезии на бесклеточных графтах. Модель: кролик (1 месяц): Бесклеточные графты: нет анервизм; большинство графтов оставались проходными 1 месяц; отсутствие воспалительной инфилльтрации	[39]
PCL/PLA + коллаген I типа	PCL/PLA электроспиннинг с использованием вращающегося мандрена + покрытие коллагеном после воздушной плазменной обработки	1,3	Тест аксиального напряжения: ППП – 7,0±0,4 мПа; E – 16±7,1 мПа; ep – 289±55 %. Тест циркулярного напряжения: ППП – 3,9±0,3 мПа; E – 16,6±4,4 мПа; ep – 292±87 %	ЕС-КА заселение в биореактор (вращение) в течение 4 ч + статическое культивирование (10 дней – SEM и гистология): ЕС-КА равномерно распределены и формируют хороший слой в просвете графта	Модель: кролик (7 недель) Бесклеточные графты без покрытия коллагеном: отсутствие протекания крови; графт проходим, структура целостная; реакция организма на инородное тело: нет клеточной инфилтрации	[41]

*Примечание.* ППП – предел прочности на разрыв; ДР – давление на разрыв; E – модуль эластичности; ep – удлинение при разрыве; P – растяжимость; СУШ – сила удержания швов ГП – гидравлическая проницаемость; ГМК – гладкомышечные клетки; ЕС – эндотелиальные клетки; EPC – эндотелиальные прогениторные клетки; ФБ – фибробласты; NH/3T3 – клеточная линия мышечных фибробластов; HUVEC – эндотелиальные клетки пупочной вены человека; ЕС-КА – эндотелиальные клетки коронарной артерии человека; ТКП – тканевой культуральный пластик; SEM – сканирующая электронная микроскопия; KM – конфокальная микроскопия; ФМ – флуоресцентная микроскопия; PCL/PLA – сополимер-капролактона и L-лактида в соотношении 70:30.

в скаффолды на основе PCL и гибридные скаффолды на основе PCL и желатина. Показано, что глубина проникновения клеток в стенку гибридных графтов в два раза выше, чем в графтах на основе чистого PCL [44].

Двуслойные сосудистые графты с чередованием слоев низкой и высокой пористости сформировали de Valence и соавторы. Исследовались два типа двуслойных сосудистых графтов из поликапролактона, изготовленных методом электроспиннинга: в одном случае низкопористый слой был обращен в сторону просвета, в другом – наружу [29]. С целью изучения механизмов клеточной миграции графты были имплантированы в брюшную часть аорты крыс на 3 и 12 недель, после чего графты эксплантировались и проводилась оценка гистологической картины. Не зарегистрировано различий в скорости эндотелизации внутренней поверхности у различных типов графтов. Толща стенок графтов была заселена преимущественно фибробластами и макрофагами и имела хорошо развитую сосудистую сеть. Однако прорастание клетками и неоваскуляризация стенки графтов с низкой пористостью внешнего слоя (адвентиция) были значительно снижены. Графты с низкопористым внутренним слоем (внутренний барьер) имели большую плотность клеточной инфильтрации со стороны адвентиции и небольшое количество клеток со стороны просвета. В то же время у графтов с низкопористым наружным слоем (внешний барьер) инфильтрация клеток со стороны адвентиции была значительно ниже, а со стороны просвета клеточность была схожей с графтами с низкопористым внутренним слоем. Сделано заключение, что из кровотока в материал трансплантата способно проникать лишь незначительное количество клеток, а основная регенерация тканей происходит за счет клеток, находящихся в адвентиции. Поэтому размещение слоя низкой пористости со стороны просвета сосудистого имплантата обеспечивает хорошую миграцию клеток со стороны адвентиции и не влияет на скорость эндотелизации. И наоборот, размещение слоя низкой пористости на внешней стороне ингибирует целлюляризацию имплантата.

В исследовании Shabani и других наблюдали хорошее проникновение стволовых клеток в волокна, полученные методом электроспиннинга на основе poly-(эфир sulfones) (PES), покрытые коллагеном [45]. Исследования показали, что соответствующие гидрофильные участки поверхности могли способствовать взаимодействию клеток с матриксом, что в итоге привело к миграции клеток внутрь нетканых матриксов.

Другими авторами выдвинута гипотеза о том, что свободное расположение нановолокон в матриксе, изготовленном методом электроспиннинга, может позволить клеткам отодвигать окружающие волокна, после чего клетки в состоянии проникнуть внутрь матрикса через поры, еще меньшие, чем размер клетки [43, 46].

Однако существует мнение, что система пор микронного и субмикронного размера необходима для осуществления диффузии питательных веществ и выведения продуктов жизнедеятельности клеток, тогда как для миграции клеток в объем матрикса необходимы поры размером в десятки и сотни микрон, т. е. многократно превышающие размеры клеток [47]. Важным условием успешной интеграции клеток и полимерных матриксов, представляющих собой хаотическую трехмерную сетку, является наличие в структуре матрикса системы взаимосвязанных пор разного размера и отсутствие замкнутых пустот [47].

Несмотря на имеющиеся существенные преимущества электроспиннинга по сравнению с другими методами изготовления нетканых матриксов, существуют отдельные проблемы, снижающие эффективность таких графтов. Главная проблема связана с формированием слишком маленьких пор, препятствующих миграции клеток и приводящих к низкой клеточности стенки графта [48]. Для повышения размерности пор в скаффолдах, изготовленных методом электроспиннинга, предлагаются различные методы и подходы.

### **Увеличение размеров пор и пористости физическими и химическими методами**

#### *Выщелачивание соли из полимера*

Выщелачивание соли из раствора полимера широко используется для изготовления тканеинженерных конструкций. Суть данной технологии заключается в том, что соленые частицы сначала рассеиваются в растворе полимера, после растворения (выщелачивания) соли формируются поры, размер которых зависит от величины частиц [49]. Lee и другие впервые сообщили о возможности комбинации методики соленого выщелачивания и газового вспенивания с техникой электроспиннинга [50]. В другом методе электроспиннинга для подачи кристаллов соли использовали ножны, окружающие иглу с раствором полимера [51]. Совокупный выход позволяет инкорпорировать кристаллы соли в образующиеся в процессе электроспиннинга нити из поликапролактона. Некоторые авторы сочетали электроспиннинг с автоматической вибрацией, используемой для рассеивания

кристаллов соли на нановолокна [52]. При этом получали поры желаемой формы и размера в соответствии с размерами соленых частиц (от 20 до 300 нм) на фоне сохраненной структурной целостности скаффолдов.

Сообщается о значительном клеточном проникновении в микропористые скаффолды, изготовленные с помощью вышеописанных приемов с применением кристаллов солей, в сравнении с матриксами, изготовленными обычным методом электроспиннинга [51, 53]. Однако у данного метода есть свои недостатки: набухание волокна, неравномерность распределения пор, нарушение взаимосвязи между волокнами [54]. Также есть проблемы с выщелачиванием кристаллов соли, располагающихся в толще матрикса.

#### *Использование кристаллов льда в технологии электроспиннинга*

Об использовании ледяных кристаллов в технологии электроспиннинга впервые сообщили Simonet и коллеги [55]. Эта техника была названа криогенным электроспиннингом в исследовании Leong и соавторов [56]. В этих двух исследованиях электроспиннинговые волокна были собраны на ледяные кристаллы, сконцентрированные на поверхности охлажденного намоточного коллектора. Однако увеличение размера пор данным способом все же было ограничено изменением морфологии нитей (потеря формы и неравномерность диаметра), что негативно влияет на механические характеристики сформированного графта.

#### *Влажный электроспиннинг с использованием коагуляционной ванны в качестве коллектора*

Ванна с коагуляционной жидкостью в качестве дополнительного метода к методике электроспиннинга используется для сбора формирующихся нитей до их наматывания на вращающийся коллектор [57]. Такой прием называется «влажный электроспиннинг». Предварительный сбор нанонитей в коагуляционную ванну вызывает эффект дисперсии, что влияет на плотность нанонитей и их структуру [58, 59]. Распыленные нановолокна на жидкой поверхности распределяются с меньшей плотностью. Изменение вида (смена) растворителя в ванне позволяет регулировать поверхностные свойства создаваемых конструкций и в перспективе повысить клеточную миграцию в 3D-конструкции, выполненные вышеуказанным методом [58, 59]. Однако и у этого подхода есть свои слабые места – трудности в выборе подходящих растворителей, сложность формирования трубчатого каркаса вслед-

ствие преждевременного высыхания образцов (до получения пор желаемого размера).

#### *Лазерное/ультрафиолетовое облучение*

Лазер стал незаменимым инструментом в обработке поверхности биологических тканей в силу его точности при структурировании поверхности [60]. Лазерная модификация нитей, изготовленных методом электроспиннинга, была впервые использована Choi и соавторами для локального удаления нанонитей из поликапролактона [61]. Лазер высокой интенсивности и ультрабыстрого сиюминутного направления на определенный участок поверхности волокон, очень высокая температура, плавление и испарение волокон в небольшом локусе вызывали образование пустот. Таким образом, формировались поры желательной геометрической формы. Показано увеличение клеточного проникновения в матриксы, макропоры которого были выполнены с помощью лазерной фотолитографии [62–64]. Лазерная техника изменения архитектоники нановолокнистой поверхности может явиться многообещающим методом, способствующим улучшению клеточной адгезии, миграции и пролиферации на тканеинженерных конструкциях. Однако у лазерного метода микроструктурирования поверхности также имеются недостатки: отсутствие взаимосвязанности микропор/углублений (закрытые поры), ослабление структурной и механической целостности конструкции, потенциальная цитотоксичность, связанная со спеканием волокон.

#### **Клинические испытания ТИСГ**

К настоящему времени проведено небольшое количество клинических испытаний ТИСГ. Так, Shin'oka с коллегами выполнил имплантацию ТИСГ 25 лицам молодого возраста [65]. Имплантируемые ТИСГ состояли из полимерных каркасов на основе волокнистой сетки из PGA или PLLA, покрытой сополимером L-лактида и ε-капролактона (PCLA / PGA или PCLA / PLLA), смешанных в соотношении 50 : 50. При этом пациентам не проводилась длительная антитромбоцитарная и антикоагулянтная терапия.

Другие авторы улучшили растяжимость PGA-волокон, используемых Shin'oka, и оптимизировали свойства сосудистых графтов на их основе [66]. Перед операцией трансплантаты были заселены *in vitro* аутологичными клетками сосудов, выделенных из периферической вены с помощью биопсии. Эта процедура довольно длительная, что ограничивает ее клиническое использование: наращивание клеточной массы занимает примерно 60 дней, про-

цесс культивирования клеток на каркасах – около 10 дней, что значительно повышает риск загрязнения. Кроме того, данная методика требовала применения инвазивной техники для сбора клеток и наглядно продемонстрировала трудности получения здоровых клеток от пациентов с сосудистыми заболеваниями [66]. Во избежание подобных ограничений были изолированы и изучены другие типы клеток. Вместо аутологических клеток сосудов для заселения скаффолдов были использованы аутологичные мононуклеарные клетки, выделенные из костного мозга гребня подвздошной кости [66]. Мононуклеарные клетки костного мозга могут быть собраны в день проведения сосудистой операции, поскольку перед имплантацией требуется кратковременная инкубация (около 2 часов) клеток на скаффолде [66, 67]. В течение двух лет после имплантации ТИСГ были функционально состоятельными, не имели каких-либо признаков тромбоза, стеноза, обструкций, аневризмы или кальцификации [67, 68]. Наблюдение за пациентами в течение семи лет после имплантации не зарегистрировало смертности, связанной с ТИСГ. Тем не менее у 16 % больных обнаружен стеноз ТИСГ, который был успешно ликвидирован с помощью ангиопластики и стентирования [66–69]. Клинические испытания продемонстрировали как преимущества, так и некоторые ограничения данного подхода: формирование стеноза и снижение механических свойств, необходимых при использовании ТИСГ в условиях высокого артериального давления [65–69].

### Заключение

В обзоре представлены основные тенденции, которых придерживаются современные ученые в создании тканеинженерных сосудистых графтов. Ведется активная работа в направлении создания «готовых к использованию» графтов для нужд экстренной хирургии, способных поддерживать клеточную миграцию, пролиферацию и жизнеспособность в условиях организма. В последнее десятилетие делается упор на разработку высокопористых трубчатых конструкций с максимальным сходством архитектоники поверхностей со структурой внеклеточного матрикса для скорейшего и эффективного заселения конструкции собственными клетками после имплантации в сосудистое русло. Высокопористые конструкции на основе нано- и микроволокон способны стимулировать воссоздание собственного эндотелиального монослоя на внутренней поверхности и образование ткани *de novo* в толще стенок трубчатых конструкций вследствие миграции собственных клеточных элементов из окружающих тканей.

Популярным материалом для изготовления каркасов будущих ТИСГ являются биосовместимые биорезорбируемые полимеры, а наиболее популярным методом изготовления – метод электроспиннинга, позволяющий получать высокопористые сосудистые графты разного диаметра с различными прочностными характеристиками. Метод электроспиннинга не лишен недостатков: вследствие хаотического расположения нитей на намоточном коллекторе формируются поры, размер которых зачастую недостаточен для миграции и пролиферации собственных клеток в толщу стенки графта. В обзоре дополнительно освещены подходы по увеличению пор матриксов, изготовленных методом электроспиннинга.

При успешности экспериментальных разработок и последующих клинических испытаний ТИСГ появятся доступные трансплантаты, которые можно будет использовать в реконструктивной хирургии сосудов малого диаметра, а именно:

- при аортокоронарном шунтировании;
- в хирургии у детей с врожденными пороками сердца;
- при патологии тиббиальных артерий;
- при окклюзионной патологии венозной системы.

Однако пока идеальный сосудистый имплантат не создан! Поэтому надеемся, что представленные в обзоре материалы помогут исследователям избежать ошибок, выявленных в процессе осуществления многочисленных попыток создания тканеинженерного сосудистого графта.

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда (проект № 14-25-00050) в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний».

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. World Health Organization [Internet]. Cardiovascular diseases. Fact Sheet. 2012; 317. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/>. [10 March 2015, date last accessed].
2. *Stegemann J. P.* Review: advances in vascular tissue engineering using protein-based biomaterials. *Tissue Eng.* 2007; 13: 2601–2613.
3. *Gong Z., Niklason L. E.* Blood vessels engineered from human cells. *Trends Cardiovasc. Med.* 2006; 16: 153–156.
4. *Browning M. B., Dempsey D., Guiza V., Becerra S., Rivera J., Russell B.* et al. Multilayer vascular grafts based on collagen-mimetic proteins. *Acta Biomater.* 2011; 8: 1010–1021.
5. *Tu J. V., Pashos C. L., Naylor C. D., Chen E. L., Normand S. L., Newhouse J. P.* et al. Use of cardiac procedures and outcomes in elderly patients with myocardial infarction in the United States and Canada. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336: 1500–1505.

6. Ratcliffe A. Tissue engineering of vascular grafts. *Matrix. Biol.* 2000; 19: 353–357.
7. Edelman E. R. Vascular tissue engineering: designer arteries. *Circ. Res.* 1999; 85: 1115–1117.
8. Anderson C., Odand M., Richardson C., Ney A., Nykamp B., Ausmus G. et al. Renewed Interest in Bovine Heterograft for Vascular Access: A Comparison Between Polytetrafluoroethylene and Bovine. 9-th Biennial Symposium on Dialysis Access Vascular Access for Hemodialysis IX Symposium. May 6–7, Lake Buena Vista. 2004; P. 73.
9. Teebken O. E., Haverich A. Tissue Engineering of Small Diameter Vascular Grafts. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2002; 23: 475–485.
10. Григорян А. С. Испытания новых тканеинженерных кровеносных сосудов в экспериментальных моделях. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2006; 3(5): 23–24.
- Grigoryan A. S. Ispytaniya novykh tkaneinzhenernykh krovonosnykh sosudov v eksperimental'nykh modelyakh. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya.* 2006; 3(5): 23–24. [In Russ].
11. Kapadia M. R., Popowich D. A., Kibbe M. R. Modified prosthetic vascular conduits. *Circulation.* 2008; 117(14): 1873–1882.
12. Ramakrishna S., Fujihara K., Teo W. E., Yong T., Ma Z., Ramaseshan R. Electrospun nanofibers: solving global issues. *Mater Today.* 2006; 9: 40–50.
13. Ratcliffe A. Tissue engineering of vascular grafts. *Matrix. Biol.* 2000; 19: 353–357.
14. L'Heureux N., Dusserre N., Marini A., Garrido S., de la Fuente L., McAllister T. Technology Insight: the evolution of tissue-engineered vascular grafts – from research to clinical practice. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 2007; 4: 389–395.
15. Barnes C. P., Sell S. A., Boland E. D., Simpson D. G., Bowlin G. L. Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2007; 59: 1413–1433.
16. Greenwald S. E., Berry C. L. Improving vascular grafts: the importance of mechanical and haemodynamic properties. *J. Pathol.* 2000; 190: 292–299.
17. Agarwal S., Wendorff J. H., Greiner A. Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer.* 2008; 49: 5603–5621.
18. Boudriot U., Dersch R., Greiner A., Wendorff J. H. Electrospinning approaches toward scaffold engineering – a brief overview. *Artif. Organs.* 2006; 30: 785–792.
19. Vasita R., Katti D. S. Nanofibers and their applications in tissue engineering. *Int. J. Nanomed.* 2006; 1: 15–30.
20. Burger C., Hsiao B. S., Chu B. Nanofibrous materials and their applications. *Annual Review of Materials Research.* 2006; 36: 333–368.
21. Tan S., Huang X., Wu B. Some fascinating phenomena in electrospinning processes and applications of electrospun nanofibers. *Polym. Int.* 2007; 56: 1330–1339.
22. Dersch R., Graeser M., Greiner A., Wendorff J. H. Electrospinning of nanofibres: towards new techniques, functions, and applications. *Aust. J. Chem.* 2007; 60: 719–728.
23. Greiner A., Wendorff J. H. Electrospinning: a fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007; 46: 5670–5703.
24. McKenna K. A., Hinds M. T., Sarao R. C. Mechanical property characterization of electrospun recombinant human tropoelastin for vascular graft biomaterials. *Acta Biomaterialia.* 2012; 8 (1): 225–233.
25. Koch S., Flanagan T. C., Sachweh J. S. Fibrin-polyacrylatebased tissue-engineered vascular graft in the arterial circulation. *Biomaterials.* 2010; 31 (17): 4731–4739.
26. Shum-Tim D., Stock U., Hrkach J. Tissue engineering of autologous aorta using a new biodegradable polymer. *Annals of Thoracic Surgery.* 1999; 68 (6): 2298–2305.
27. Shin'oka T., Imai Y., Ikada Y. Transplantation of a tissue-engineered pulmonary artery. *The New England Journal of Medicine.* 2001; 344 (7): 532–533.
28. De Valence S., Tille J., Mugnai D. Long term performance of polycaprolactone vascular grafts in a rat abdominal aorta replacement model. *Biomaterials.* 2012; 33 (1): 38–47.
29. De Valence S., Tille J. C., Giliberto J. P. Advantages of bilayered vascular grafts for surgical applicability and tissue regeneration. *Acta Biomaterialia.* 2012; 8 (11): 3914–3920.
30. Kuwabara F., Narita Y., Yamawaki-Ogata A. Long-term results of tissue-engineered small-caliber vascular grafts in a rat carotid arterial replacement model. *Journal of Artificial Organs.* 2012; 15 (4): 399–405.
31. Iwasaki K., Kojima K., Kodama S. Bioengineered three-layered robust and elastic artery using hemodynamically equivalent pulsatile bioreactor. *Circulation.* 2008; 118 (14, supplement): S. 52–57.
32. Wu W., Allen R. A., Wang Y. Fast-degrading elastomer enables rapid remodeling of a cell-free synthetic graft into a neoartery. *Nature Medicine.* 2012; 18 (7): 1148–1153.
33. Roh J. D., Nelson G. N., Brennan M. P. Small-diameter biodegradable scaffolds for functional vascular tissue engineering in the mouse model. *Biomaterials.* 2008; 29 (10): 1454–1463.
34. Uchida T., Ikeda S., Oura H. Development of biodegradable scaffolds based on patient-specific arterial configuration. *Journal of Biotechnology.* 2008; 133 (2): 213–218.
35. Pektok E., Nottelet B., Tille J. Degradation and healing characteristics of small-diameter poly( $\epsilon$ -caprolactone) vascular grafts in the rat systemic arterial circulation. *Circulation.* 2008; 118 (24): 2563–2570.
36. Wise S. G., Byrom M. J., Waterhouse A., Bannon P. G., Ng M. K. C., Weiss A. S. A multilayered synthetic human elastin/polycaprolactone hybrid vascular graft with tailored mechanical properties. *Acta Biomaterialia.* 2011; 7 (1): 295–303.
37. McClure M. J., Sell S. A., Simpson D. G., Walpoth B. H., Bowlin G. L. A three-layered electrospun matrix to mimic native arterial architecture using polycaprolactone, elastin, and collagen: a preliminary study. *Acta Biomaterialia.* 2010; 6 (7): 2422–2433.
38. Lee S. J., Liu J., Oh S. H., Soker S., Atala A., Yoo J. J. Development of a composite vascular scaffolding system that withstands physiological vascular conditions. *Biomaterials.* 2008; 29 (19): 2891–2898.
39. Tillman B. W., Yazdani S. K., Lee S. J., Geary R. L., Atala A., Yoo J. J. The in vivo stability of electrospun polycaprolactone-collagen scaffolds in vascular reconstruction. *Biomaterials.* 2009; 30 (4): 583–588.
40. Yokota T., Ichikawa H., Matsumiya G. In situ tissue regeneration using a novel tissue-engineered, small-caliber vascular graft without cell seeding. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2008; 136 (4): 900–907.
41. He W., Ma Z., Teo W. E. Tubular nanofiber scaffolds for tissue engineered small-diameter vascular grafts. *Journal of Biomedical Materials Research A.* 2009; 90 (1): 205–216.
42. Sachlos E., Czernuszka J. T. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform

fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur. Cell. Mater.* 2003; 5: 29–39.

43. Li W.-J., Laurencin C. T., Caterson E. J., Tuan R. S., Ko F. K. Electrospun nanofibrous structure: a novel scaffold for tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002; 60 (4): 613–621.

44. Zhang Y., Ouyang H., Lim C. T., Ramakrishna S., Huang Z. M. Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. Part B—Appl Biomater.* 2005; 72 (1): 156–165.

45. Shabani I., Haddadi-Asl V., Seyedjafari E., Babaeijandaghi F., Soleimani M. Improved infiltration of stem cells on electrospun nanofibers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009; 382 (1): 129–133.

46. Zhang Y. Z., Su B., Venugopal J., Ramakrishna S., Lim C. T. Biomimetic and bioactive nanofibrous scaffolds from electrospun composite nanofibers. *Int J. Nanomed.* 2007; 2 (4): 623–638.

47. Василец В. Н., Казбанов И. В., Недосеев С. Л., Нустратов В. М., Шварцкопф П. В. Физические методы создания и модифицирования биополимерных матриц. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009; XI (2): 43–46.

Vasilets V. N., Kazbanov I. V., Nedoseev S. L., Nistratov V. M., Shvartskopf P. V. Fizicheskie metody sozdaniya i modifitsirovaniya biopolimernykh matriksov. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2009; XI (2): 43–46. [In Russ].

48. Stankus J. J., Guan J. J., Fujimoto K., Wagner W. R. Microintegrating smooth muscle cells into a biodegradable, elastomeric fiber matrix. *Biomaterials.* 2006; 27 (5): 735–744.

49. Suh S. W., Shin J. Y., Kim J., Kim J., Beak C. H., Kim D. I. et al. Effect of different particles on cell proliferation in polymer scaffolds using a solvent-casting and particulate leaching technique. *Asaio J.* 2002; 48 (5): 460–464.

50. Lee Y. H., Lee J. H., An I. G., Kim C., Lee D. S., Lee Y. K. et al. Electrospun dual-porosity structure and biodegradation morphology of montmorillonite reinforced PLLA nanocomposite scaffolds. *Biomaterials.* 2005; 26 (16): 3165–3172.

51. Nam J., Huang Y., Agarwal S., Lannutti J. Improved cellular infiltration in electrospun fiber via engineered porosity. *Tissue Eng.* 2007; 13 (9): 2249–2257.

52. Kim T. G., Chung H. J., Park T. G. Macroporous and nanofibrous hyaluronic acid/collagen hybrid scaffold fabricated by concurrent electrospinning and deposition/leaching of salt particles. *Acta Biomater.* 2008; 4 (6): 1611–1619.

53. Ekaputra A. K., Prestwich G. D., Cool S. M., Huttmacher D. W. Combining electrospun scaffolds with electro-sprayed hydrogels leads to three-dimensional cellularization of hybrid constructs. *Biomacromolecules.* 2008; 9: 2097–2103.

54. Zhu X., Cui W., Li X., Jin Y. Electrospun fibrous mats with high porosity as potential scaffolds for skin tissue engineering. *Biomacromolecules.* 2008; 9: 1795–1801.

55. Simonet M., Schneider O. D., Neuenschwander P., Stark W. J. Ultraporous 3D polymer meshes by lowtemperature

electrospinning: use of ice crystals as a removable void template. *Polym. Eng. Sci.* 2007; 47 (12): 2020–2026.

56. Leong M. F., Rasheed M. Z., Lim T. C., Chian K. S. In vitro cell infiltration and in vivo cell infiltration and vascularization in a fibrous, highly porous poly(D,L-lactide) scaffold fabricated by cryogenic electrospinning technique. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2009; 91 (1): 231–240. doi: 10.1002/jbm.a.32208.

57. Smit E., Buttner U., Sanderson R. D. Continuous yarns from electrospun fibers. *Polymer.* 2005; 46 (8): 2419–2423.

58. Ki C. S., Kim J. W., Hyun J. H., Lee K. H., Hattori M., Rah D. K. et al. Electrospun three-dimensional silk fibroin nanofibrous scaffold. *J. Appl. Polym. Sci.* 2007; 106 (6): 3922–3928.

59. Yokoyama Y., Hattori S., Yoshikawa C., Yasuda Y., Koyama H., Takato T. et al. Kobayashi H. Novel wet electrospinning system for fabrication of spongiform nanofiber 3-dimensional fabric. *Mater. Lett.* 2009; 63 (9–10): 754–756.

60. Huang H., Guo Z. X. Human dermis separation via ultrashort pulsed laser plasma-mediated ablation. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2009; 42 (16). doi:10.1088/0022-3727/42/16/165204.

61. Choi H. W., Johnson J. K., Nam J., Farson D. F., Lannutti J. Structuring electrospun polycaprolactone nanofiber tissue scaffolds by femtosecond laser ablation. *J. Laser. Appl.* 2007; 19 (4): 225–231.

62. Lannuttia J., Reneker D., Mac T., Tomaskod D., Farson D. Electrospinning for tissue engineering scaffolds. *Mater Sci Eng C—Biomimet Supramol Syst.* 2007; 27 (3): 504–509.

63. Sundararaghavan H. G., Metter R. B., Burdick J. A. Electrospun fibrous scaffolds with multiscale and photopatterned porosity. *Macromol Biosci.* 2010. 10 (3): 265–270.

64. Yixiang D., Yong T., Liao S., Chan C. K., Ramakrishna S. Degradation of electrospun nanofiber scaffold by short wave length ultraviolet radiation treatment and its potential applications in tissue engineering. *Tissue. Eng. Part A.* 2008; 14 (8): 1321–1329.

65. Shin'oka T., Breuer C. Tissue-engineered blood vessels in pediatric cardiac surgery. *Yale Journ. of Biol. and Medic.* 2008; 81 (4): 161–166.

66. Cleary M. A., Geiger E., Grady C., Best C., Naito Y., Breuer C. Vascular tissue engineering: the next generation. *Trends in Mol. Medic.* 2012; 18 (7): 394–404.

67. Dean E. W., Udelsman B., Breuer C. K. Current advances in the translation of vascular tissue engineering to the treatment of pediatric congenital heart disease. *Yale Journ. of Biol. and Medic.* 2012; 85 (2): 229–238.

68. Rathore A., Cleary M., Naito Y., Rocco K., Breuer C. Development of tissue engineered vascular grafts and application of nanomedicine. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomed and Nanobiotechnol.* 2012; 4 (3): 257–272.

69. Naito Y., Shinoka T., Duncan D. Vascular tissue engineering: towards the next generation vascular grafts. *Adv. Drug. Deliver. Rev.* 2011; 63 (4): 312–323.

Статья поступила 25.06.2015

Для корреспонденции:

**Антонова Лариса Валерьевна**  
Адрес: 650002, г. Кемерово,  
Сосновый бульвар, д. 6  
Тел. 8 (3842) 64-42-38  
E-mail: antolv@kemcardio.ru

For correspondence:

**Antonova Larisa**  
Address: 6, Sosnoviy blvd., Kemerovo,  
650002, Russian Federation  
Tel. +7 (3842) 64-42-38  
E-mail: antolv@kemcardio.ru