

Тканеинженерная заплатка, модифицированная фактором роста эндотелия сосудов, для реконструкции сосудистой стенки

Для корреспонденции:

Виктория Владимировна Севостьянова,
sevostv@gmail.com

Поступила в редакцию 2 июня 2020 г.

Исправлена 27 июня 2020 г.

Принята 16 июля к печати 2020 г.

Цитировать:

Севостьянова В.В., Миронов А.В., Антонова Л.В., Кривкина Е.О., Матвеева В.Г., Великанова Е.А., Тарасов Р.С., Глушкова Т.В., Барбараш Л.С. Тканеинженерная заплатка, модифицированная фактором роста эндотелия сосудов, для реконструкции сосудистой стенки. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2020;24(4):114-128. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-4-114-128>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2019-0002 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

Вклад авторов

Концепция и дизайн работы: В.В. Севостьянова, А.В. Миронов, Л.В. Антонова, Р.С. Тарасов, Л.С. Барбараш
Сбор и анализ данных: В.В. Севостьянова, А.В. Миронов, Л.В. Антонова, Е.О. Кривкина, В.Г. Матвеева, Е.А. Великанова, Т.В. Глушкова
Статистическая обработка данных: В.В. Севостьянова, Глушкова Т.В.
Написание статьи: В.В. Севостьянова, А.В. Миронов
Исправление статьи: Л.В. Антонова, Р.С. Тарасов, Л.С. Барбараш
Утверждение окончательной версии: все авторы

ORCID ID

В.В. Севостьянова, <https://orcid.org/0000-0003-0195-8803>
А.В. Миронов, <https://orcid.org/0000-0002-8846-5077>
Л.В. Антонова, <https://orcid.org/0000-0002-8874-0788>
Е.О. Кривкина, <https://orcid.org/0000-0002-2500-2147>
В.Г. Матвеева, <https://orcid.org/0000-0002-4146-3373>
Е.А. Великанова, <http://orcid.org/0000-0002-1079-1956>
Р.С. Тарасов, <https://orcid.org/0000-0003-3882-709X>

В.В. Севостьянова, А.В. Миронов, Л.В. Антонова, Е.О. Кривкина, В.Г. Матвеева, Е.А. Великанова, Р.С. Тарасов, Т.В. Глушкова, Л.С. Барбараш

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

Актуальность. Коммерческие сосудистые заплатки на основе синтетических материалов и тканей животного происхождения для реконструкции сонной артерии при каротидной эндартерэктомии обладают рядом недостатков, связанных с возникновением послеоперационных осложнений: тромбоза и рестеноза. Решением данной проблемы может стать разработка биологически активных материалов, способных к деградации и стимулирующих регенерацию тканей.

Цель. Оценить свойства и эффективность биodeградируемой заплатки на основе полигидроксibuтирата / валерата и поликапролактона с инкорпорированным фактором роста эндотелия сосудов в сравнении с немодифицированным полигидроксibuтиратом / валератом и поликапролактоном и коммерческой сосудистой заплаткой.

Методы. Пористые заплатки из смеси полигидроксibuтирата / валерата и поликапролактона с введенным фактором роста эндотелия сосудов изготавливали методом эмульсионного электроспиннинга. Далее изучали морфологию и механические свойства модифицированных заплат, а также имплантировали их в стенку брюшной аорты крыс на 1, 3, 6 и 12 мес. с последующим гистологическим и иммунофлуорисцентным анализом для оценки эндотелизации, заселения клетками и кальцификации.

Результаты. Заплатки из полигидроксibuтирата / валерата и поликапролактона с фактором роста эндотелия сосудов обладали высокопористой структурой и прочностью, не отличающейся от прочности аорты крысы и внутренней грудной артерии человека. На внутренней поверхности данных заплат через 3 мес. имплантации формировался эндотелиальный монослой. Заплатки из полигидроксibuтирата / валерата и поликапролактона с фактором роста эндотелия сосудов быстрее заселялись клетками с формированием межклеточного матрикса относительно заплат из ксеноперикарда, и их ремоделирование не сопровождалось персистирующим воспалением, которое провоцировали немодифицированные образцы полигидроксibuтирата / валерата и поликапролактона при долгосрочной имплантации.

Выводы. Фактор роста эндотелия сосудов в составе биodeградируемых заплат из полигидроксibuтирата / валерата и поликапролактона стимулировал их эндотелизацию и увеличивал биосовместимость, способствовал ремоделированию с образованием элементов стенки кровеносного сосуда. Таким образом, заплатки из полигидроксibuтирата / валерата и поликапролактона с фактором роста эндотелия сосудов имеют высокий потенциал применения в тканевой инженерии сосудистой стенки.

Т.В. Глушкова, <https://orcid.org/0000-0003-4890-0393>
Л.С. Барбараш, <https://orcid.org/0000-0001-6981-9661>

© В.В. Севостьянова, А.В. Миронов, Л.В. Антонова,
Е.О. Кривкина, В.Г. Матвеева, Е.А. Великанова, Р.С. Тарасов,
Т.В. Глушкова, Л.С. Барбараш, 2020
Статья открытого доступа, распространяется по лицензии
[Creative Commons Attribution 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Ключевые слова: биodeградируемый полимер; сосудистая заплатка; тканевая инженерия; фактор роста эндотелия сосудов; эндотелизация

Введение

Одной из ведущих причин смертности населения в развитых странах является острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу как осложнение атеросклероза брахиоцефальных сосудов [1]. По данным Всемирной организации здравоохранения, за 2013 г. смертность от острого нарушения мозгового кровообращения составила 6,5 млн человек. При этом ожидается возрастание числа случаев, что связано с распространением факторов риска острого нарушения мозгового кровообращения в популяции [2]. В свою очередь, 10–15 % случаев инсульта обусловлено каротидным стенозом, причиной которого является атеросклероз сонной артерии [3]. При этом клинически значимый стеноз сонной артерии отмечают у пациентов в возрасте 60–79 лет в 0,5 % случаев, а у пациентов в возрасте от 80 лет и старше — в 10 % случаев, он сопровождается очаговой неврологической симптоматикой и является причиной церебральной эмболии, транзиторных ишемических атак и тромбоземболических инсультов [2].

Основным методом лечения стеноза сонных артерий является каротидная эндартерэктомия (КЭА). Показано, что КЭА значительно снижает риск инсульта у пациентов с выраженным стенозом бифуркации сонной артерии [4]. При классической КЭА осуществляют продольный разрез общей сонной артерии с переходом на внутреннюю сонную артерию, после чего удаляют атеросклеротическую бляшку и закрывают разрез наложением первичного сосудистого шва или с помощью заплаты [5; 6]. По сравнению с наложением первичного шва, КЭА с заплатой имеет меньший риск развития послеоперационных осложнений [4]. Так, наложение первичного шва ассоциировано с частотой рестеноза от 1 до 36 %. Результаты ряда метаанализов демонстрируют значимое снижение частоты рестенозов и ипсилатерального инсульта после использования заплат

по сравнению с первичным ушиванием артериотомии [7–9]. Также, по данным Европейского общества сосудистой хирургии за 2017 г., рутинное использование заплат снижает риск периоперационного ипсилатерального инсульта до 1,5 % и ассоциировано с уменьшением тромбоза внутренней сонной артерии в течение 30-дневного послеоперационного периода до 0,5 % по сравнению с закрытым швом, для которого характерна частота инсульта (4,5 %) и тромбоза (3,1 %) [4].

Из коммерческих сосудистых имплантатов в клинической практике для ангиопластики сонной артерии используют заплатки из ксеногенных тканей, таких как бычий перикард и подслизистая оболочка тонкого кишечника свиньи, и синтетических материалов, например PTFE и Dacron [10–12]. Однако их применение может сопровождаться осложнениями: тромбозом, аневризмами или рестенозом [13]. Причиной этого является различие в комплаентности имплантата и тканей стенки артерии. Комплаентность, или изменение диаметра кровеносного сосуда в заданном диапазоне давлений, является одним из важных факторов, определяющих биосовместимость сосудистого имплантата, так как несоответствие комплаентности сосуда и протеза приводит к изменению кровотока в зоне анастомоза, тромбозам и гиперплазии неоинтимы [14]. В связи с этим актуальна разработка биоматериалов, свойства которых будут соответствовать свойствам нативных тканей в месте имплантации. Данная проблема может быть решена с использованием подхода тканевой инженерии, заключающегося в регенерации тканей *in situ* на основе искусственного внеклеточного матрикса.

Тканеинженерный матрикс для восстановления тканей кровеносных сосудов должен обладать способностью к быстрой эндотелизации для предупреждения тромбообразования. Для ускорения формирования эндотелия и регуляции процесса

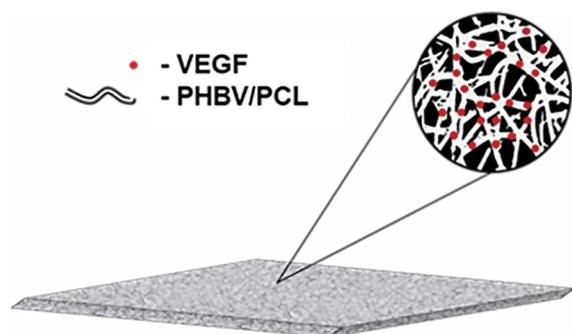


Рис. 1. Схема биоактивной сосудистой заплаты из полигидроксибутирата / валерата и поликапролактона с инкорпорированным фактором роста эндотелия сосудов

регенерации сосудистой ткани в ряде исследований изучали возможность использования различных биомолекул и их эффективность при введении в место имплантации искусственного матрикса. Так, Н. Talacia с соавт. модифицировали трубчатый матрикс из поликапролактона (poly(ϵ -caprolactone), PCL) фибриновым гелем, содержащим моноцитарный хемотаксический протеин-1 (англ. monocyte chemoattractant protein-1) [15]. Локальное высвобождение моноцитарного хемотаксического протеина-1 способствовало привлечению воспалительных клеток и ремоделированию имплантата с формированием всех структур стенки кровеносного сосуда через 3 мес. имплантации в аорту крыс. Причинами быстрого заживления имплантата являлись значительное высвобождение моноцитарного хемотаксического протеина-1 и привлечение макрофагов, которые создают биохимически благоприятную среду для миграции стволовых клеток в место имплантации [15]. Однако не до конца понятно влияние моноцитарного хемотаксического протеина-1 на скорость эндотелизации имплантатов.

В свою очередь, попытки привлечь циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки с помощью иммобилизации на внутренней поверхности сосудистого графта стромального фактора-1 α не привели к успеху, так как эндотелий формировался только в зонах, близких к анастомозу, и отсутствовал в центральной части имплантатов [16].

Наиболее перспективным ростовым фактором в этой области является фактор роста эндотелия сосудов (англ. Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF). Было показано, что иммобилизация VEGF на внутренней поверхности сосудистых графтов из подслизистой тонкого кишечника или сополимера PCL и полимолочной кислоты (англ. Polylactic Acid, PLA) способствовала адгезии эндотелиальных клеток и стимулировала формирование эндотелия [17; 18]. Ранее мы исследовали возможность доставки VEGF в место регенерации в составе биodeградируемого матрикса с помощью инкорпорирования ростового фактора эмульсионным электроспиннингом внутрь полимерных волокон материала [19]. Биodeградация матрикса после имплантации способствовала пролонгированному локальному высвобождению биомолекул. Эффективность данного подхода продемонстрирована при разработке сосудистых графтов [20].

Настоящее исследование направлено на создание тканеинженерных сосудистых заплат из биodeградируемых биосовместимых полимеров, полигидроксибутирата / валерата (poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), PHBV) и PCL, с инкорпорированным VEGF (рис. 1). Цель работы заключалась в оценке механических и биологических свойств VEGF-модифицированных заплат PHBV/PCL в сравнении с полимерным материалом без ростового фактора и коммерческой заплатой.

Методы

1. Изготовление сосудистых заплат

Заплаты с проангиогенным фактором изготавливали методом эмульсионного электроспиннинга (рис. 1). Для этого в смесь растворов 5%-го PHBV и 10%-го PCL в трихлорметане вводили VEGF (10 мг/мл) в физиологическом растворе в соотношении 20:1. Раствор помещали в герметично закрытый флакон для предотвращения испарения растворителя и изготавливали устойчивую эмульсию при комнатной температуре с использованием магнитной мешалки IKA C-MAG HS 7 (IKA-Werke, Германия) при 1 000 об/мин. Электроспиннинг эмульсии осуществляли на установке Nanop-01A (MECC, Япония) при следующих параметрах: напряжение — 20 кВ, скорость подачи раствора — 0,5 мл/ч, расстояние до коллектора — 15 см, игла с внутрен-

ним диаметром 0,413 мм. В качестве коллектора использовали металлический барабан диаметром 104 мм, вращающийся со скоростью 200 об/мин. При изготовлении сосудистых заплат, не содержащих VEGF, использовали смесь 5%-го PHBV и 10%-го PCL в трихлорметане и параметры электроспиннинга, описанные выше, за исключением напряжения, которое составляло 18 кВ.

Заплаты из PHBV / PCL выступали в качестве группы контроля при оценке эффективности использования модификации VEGF. Также в качестве группы сравнения использовали коммерческие сосудистые заплаты «КемПериплас-Нео», изготовленные из эпоксиобработанного бычьего перикарда (ЗАО «НеоКор», Кемерово, Россия) и используемые при проведении каротидной эндартерэктомии.

2. Оценка морфологии

Сравнительный анализ структуры проводили для внутренней поверхности полимерных образцов (сторона, обращенная к коллектору) и серозной стороны ксеноперикарда в коммерческих заплатах «КемПериплас-Нео».

«КемПериплас-Нео» фиксировали 1%-м раствором глутарового альдегида, после чего подвергали процессу обезвоживания в этаноле с возрастающей концентрацией (70, 80, 95 %) с досушиванием в термостате при температуре 37 °С. Образцы заплат из PHBV / PCL / VEGF, PHBV / PCL и «КемПериплас-Нео» размером 0,5 × 0,5 см подвергали золото-палладиевому напылению с получением покрытия толщиной 7–9 нм при использовании системы для напыления EM ACE200 (Leica Mikrosysteme, Австрия) и изучали на сканирующем электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 10 кВ.

Диаметр волокон и размер пор полимерных материалов определяли с использованием программы ImageJ (Национальные институты здравоохранения США).

3. Механические свойства

Изучение механических свойств сосудистых заплат из PHBV / PCL / VEGF, PHBV / PCL и «КемПериплас-Нео» проводили в условиях одноосного растяжения на универсальной испытательной машине серии Z (Zwick / Roell, Германия) с использованием датчика с номинальной силой 50 Н. Ско-

рость перемещения траверсы при испытании составила 50 мм/мин.

В качестве контроля использовали нативную внутреннюю грудную артерию человека, а также аорту крыс с целью оценки условий, в которых функционировала заплата после имплантации. Сегменты внутренней грудной артерии человека забирали при проведении аортокоронарного шунтирования у пациентов, подписавших информированное согласие на взятие материала. Участки крысиной аорты получали от самцов популяции Вистар, возраст которых составлял 6 мес., а масса тела — 400–450 г.

Все образцы (n = 7 в каждой группе) готовили с помощью вырубного прессы ZCP 020 (Zwick / Roell, Германия) с использованием ножа специальной формы (B083, соответствующий стандарту ISO 37:2017) с длиной рабочего сегмента 10 мм. Толщину всех образцов измеряли толщиномером TP-10 (АО «Кировский завод “Красный инструментальщик”», Киров, Россия) с пределом допустимой погрешности ± 0,01 мм (прижимное усилие не более 1,5 Н).

Предел прочности материала оценивали как максимальное напряжение при растяжении до начала разрушения. Упруго-деформационные свойства материала оценивали по относительному удлинению до начала разрушения образца и модулю Юнга.

4. Имплантация заплат

Сосудистые заплаты из PHBV / PCL / VEGF, PHBV / PCL после стерилизации γ -излучением и ксеноперикардимального лоскута «КемПериплас-Нео» имплантировали в брюшную аорту 6-месячных самцов крыс популяции Вистар массой 400–450 г (n = 6 в каждой группе на каждый срок имплантации). Все процедуры осуществляли, соблюдая принципы гуманного обращения с животными, регламентированные требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123 от 18 марта 1986 г., г. Страсбург; приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (зарегистрировано в Минюсте России 15.08.2016 г. № 43232) и ГОСТ 33044-2014 «Межгосударственный стандарт. Принципы надлежащей лабораторной практики» (введен в действие Приказом Росстандарта от 20.11.2014 г. № 1700-ст). Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБНУ

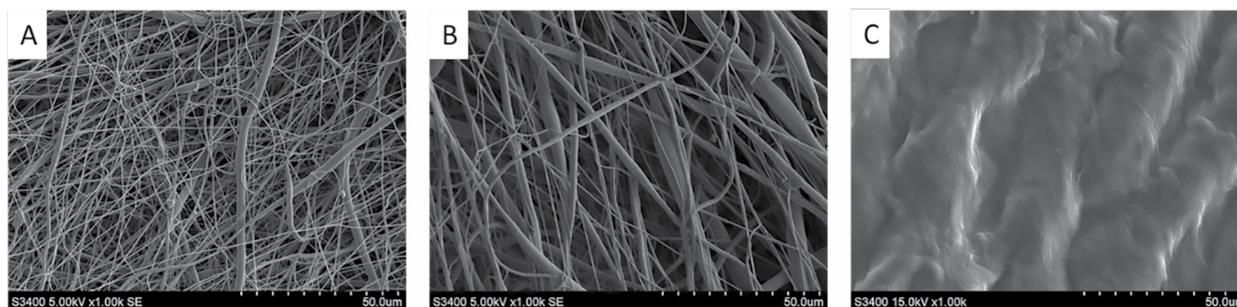


Рис. 2. Сканирующая электронная микроскопия внутренней поверхности сосудистых заплат: PHBV / PCL / VEGF (A), PHBV/PCL (B), «КемПериплас-Нео» (C)

«Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (протокол № 15 от 11.09.2018 г.).

Введение крыс в наркоз осуществляли 3%-м изофлураном, во время проведения операции использовали ингаляционный наркоз 1,5%-м изофлурана. Срединным лапаротомным доступом выделяли брюшную аорту ниже почечных артерий и выше бифуркации и пережимали. Далее выполняли продольную аортотомию длиной до 0,5 мм. В аортотомический дефект вшивали заплату с размерами 0,5 × 0,5 мм четырьмя узловыми швами с использованием нити Prolene 8/0. Запускали кровоток и ушивали разрез послойно с использованием шовного материала Лавсан 3-0. Все процедуры проводили в асептических условиях. После операции животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде на рационе питания. Крыс выводили из эксперимента внутрибрюшным введением пентобарбитала натрия (100 мг/кг массы тела) через 1, 3, 6 и 12 мес. после имплантации.

Полимерные и биологические заплаты выделяли с участками прилежащей аорты и делили на две части. Одну часть фиксировали в 10%-м забуференном формалине (BioVitrum, Россия) в течение 24 ч при температуре 4 °С. Вторую часть замораживали при -140 °С.

5. Гистологическое исследование

Образцы, помещенные в забуференный формалин, промывали проточной водой в течение 2 ч и обезживали в 5 сменах изопропанола по 30 мин. Далее заплаты заключали в парафин при 56 °С (3 смены парафина по 1 ч), наклеивали на блок и изготавливали срезы толщиной 8 мкм с использованием микротомы Microm HM 325 (Thermo Scientific, США). Полученные препараты сушили при 37 °С в течение ночи. Перед окрашиванием образцы депарафинизировали трехкратным погружением в ксилол по 5 мин с последующей дегидратацией в 95%-м этаноле трижды по 5 мин.

Образцы окрашивали гематоксилином и эозином по методу Ван-Гизона для изучения соедине-

Табл. 1. Механические свойства сосудистых заплат и нативных кровеносных сосудов

Материал	Толщина, мм Me (25; 75%)	Предел прочности, МПа Me (25; 75%)	Относительное удлинение, % Me (25; 75%)	Модуль Юнга, МПа Me (25; 75%)
PHBV / PCL / VEGF	0,4 (0,4; 0,5)	2,3 (2,1; 2,6) ^{1,2}	81,8 (77,0; 103,4) ^{1,3,4}	16,9(15,5; 17,5) ^{2,3,4}
PHBV / PCL	0,4 (0,4; 0,5)	3,9 (2,9; 4,5) ²	102,7 (79,4; 106,3) ^{2,3,4}	21,8 (19,2; 25,2) ^{2,3,4}
«КемПериплас-Нео»	0,7 (0,6; 0,7)	10,1 (9,1; 21,4) ³	65,0 (61,1; 67,3)	1,1 (1,0; 1,3)
ВГА человека	0,3 (0,2; 0,3)	2,5 (1,4; 3,3) ²	29,7 (23,5; 39,6)	2,4 (1,9; 3,2)
Аорта крысы	0,2 (0,2; 0,2)	3,5 (3,1; 4,3) ²	326,0 (309,9; 359,9) ^{2,3}	0,2 (0,2; 0,2)

Примечание. ВГА — внутренняя грудная артерия, PHBV — полигидроксibuтират / валерат, PCL — поликапролактон, VEGF — фактор роста эндотелия сосудов; Me (25; 75 %) — медиана и квантили; ¹ p < 0,05 относительно PHBV / PCL; ² p < 0,05 относительно ксеноперикарда; ³ p < 0,05 относительно ВГА человека; ⁴ p < 0,05 относительно аорты крысы.

тельной ткани, а также ализариновым красным С на наличие кальция, согласно стандартным протоколам, и исследовали с использованием светового микроскопа Axiolmager.A1 (Carl Zeiss, Германия) с окуляром 10× и объективами 10× и 20×.

6. Иммунофлуоресцентное окрашивание

Из замороженных образцов заплат изготавливали срезы толщиной 8 мкм с использованием криотома Microm HM 525 (Thermo Scientific, США). Окрашивание срезов осуществляли с использованием специфических первичных антител: антител мыши к CD31 крысы (ab119339, Abcam, Великобритания) и антител кролика к CD34 крысы (ab185732, Abcam), антител мыши к коллагену I типа (ab6308, Abcam) и антител кролика к коллагену IV типа (ab6586, Abcam), антител к фактору фон Виллебранда, конъюгированных с FITC (ab8822, Abcam). В случае неконъюгированных первичных антител на срезы наносили смесь вторичных антител: антитела козы к Ig мыши, конъюгированные с AlexaFluor568 (ab175473, Abcam) и антитела осла к Ig кролика, конъюгированные с AlexaFluor488 (ab150105, Abcam). Препараты докрашивали ядерным красителем DAPI (Sigma-Aldrich, США) и анализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 700 (Carl Zeiss) с параметрами: окуляр 10×, объектив 20×.

7. Статистическая обработка данных

Для проведения статистического анализа использовали Prism (Graph Pad Software, США). Нормальность распределения оценивали при помощи критерия Колмогорова – Смирнова. Достоверность различий между двумя независимыми группами определяли с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. При сравнении трех и более независимых групп использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса, для попарного сравнения групп применяли критерий Данна. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как медиана и 25-й и 75-й процентиля Me (25%; 75%).

Результаты

1. Особенности морфологии заплат

Анализ структуры поверхности показал, что по сравнению с используемыми в клинической практике заплатами на основе ксеноперикарда, тка-

неинженерные сосудистые заплаты из PHBV / PCL / VEGF и PHBV / PCL имели высокопористую структуру (рис. 2). Диаметр волокон в структуре PHBV / PCL составил 1,49 мкм (0,74; 1,67), в то время как волокна образцов, содержащих VEGF, были меньшего диаметра — 0,74 (0,56; 0,93) ($p < 0,05$). При равной толщине образцов и более тонких волокнах для PHBV / PCL / VEGF отмечено уменьшение размера пор до 3,87 мкм² (1,26; 12,46) ($p < 0,05$) относительно немодифицированного материала PHBV / PCL, размер пор которого составлял 27,93 мкм² (4,27; 69,70). Для ксеноперикардальных заплат была характерна поверхность, образованная плотноупакованными пучками коллагеновых волокон без возможности оценки их размера.

2. Механические свойства заплат и нативных кровеносных сосудов

По данным механических испытаний заплаты из PHBV / PCL с VEGF обладали меньшей прочностью по сравнению с материалом из чистого PHBV / PCL в 1,73 раза ($p < 0,05$) (табл. 1).

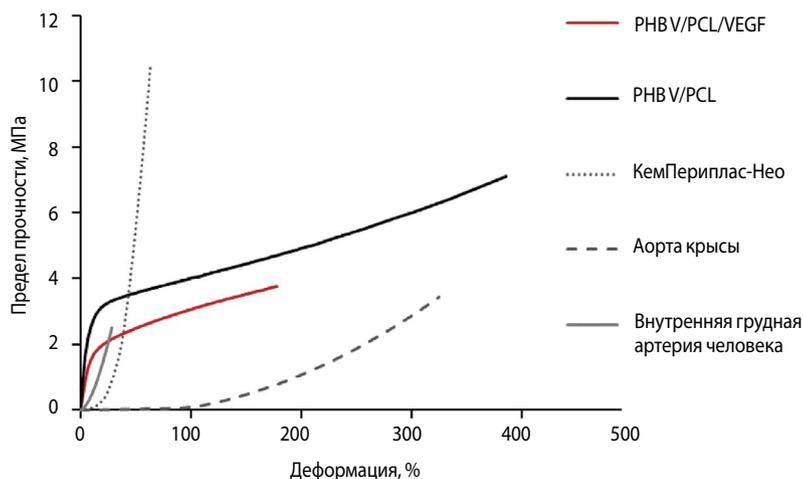
Не отмечено различий по пределу прочности материалов из PHBV / PCL / VEGF, внутренней грудной артерии и аорты крысы ($p > 0,05$). Также не наблюдалось достоверное изменение относительного удлинения в полимерных заплатах PHBV / PCL после введения в их состав ростового фактора ($p > 0,05$). Заплаты из PHBV / PCL характеризовались высокой жесткостью по сравнению с нативными сосудами и ксеноперикардом. Введение VEGF снижало жесткость полимерного материала в 1,28 раза (рис. 3).

В свою очередь, заплаты из ксеноперикарда демонстрировали большую механическую прочность относительно тканеинженерных заплат из PHBV / PCL, PHBV / PCL / VEGF и нативных артерий, а также меньшую жесткость по сравнению с синтетическими материалами ($p < 0,05$).

3. Проходимость аорты после протезирования сосудистыми заплатами

Оценка участков аорты с имплантированными заплатами показала формирование обтурирующего тромба в сосуде с ксеноперикардальной заплатой в одном случае через 12 мес., а также пристеночного тромба в группе PHBV / PCL / VEGF у одного животного через 1 мес. после имплантации. Во всех остальных образцах наличие тромбов не отмечалось. При этом в группе с заплатами PHBV / PCL

Рис. 3. Кривая «предел прочности – деформация» для сосудистых заплат и нативных кровеносных сосудов



проходимость аорты во всех точках исследования составляла 100 %.

На внутренней поверхности всех изучаемых заплат происходило формирование неоинтимы (рис. 4). В группах с имплантированными полимерными заплатами как с ростовым фактором, так и без него неоинтима имела небольшую толщину. Тогда как на ксеноперикарде неоинтима достигала толщины заплаты через 1 мес., а через 3 и 6 мес. в половине образцов отмечали гиперплазию, которая обуславливала уменьшение просвета сосуда, но не приводила к полному стенозу (табл. 2).

4. Формирование элементов сосудистой стенки

Начало образования эндотелия на внутренней поверхности PNBV / PCL / VEGF отмечали через 1 мес. имплантации в виде групп эндотелиальных клеток в зонах анастомозов, а к 3 мес. формировался монослой зрелого эндотелия (CD31+ / CD34-), который сохранялся и через 12 мес. имплантации (табл. 2, рис. 5). В свою очередь, в заплатах PNBV / PCL через 3 мес. эндотелиальные клетки располагались в зонах анастомозов, через 6 мес. также обнаруживали отдельные группы эндотелиальных клеток в центральной части заплат, а к концу исследования наблюдали монослой. На внутренней поверхности заплат из ксеноперикарда незрелый эндотелий (CD31+ / CD34+) определяли только в зонах анастомозов во всех точки исследования.

Полимерные заплаты были по всей толщине инфильтрованы макрофагами и фибробластами, синтезирующими внеклеточный матрикс через 1 мес.,

однако клетки располагались преимущественно во внешней части (табл. 2, рис. 4). При этом в образцах PNBV / PCL отмечали большое количество гигантских многоядерных клеток инородных тел. Клеточность в заплатах из PNBV / PCL с VEGF увеличивалась к 3 мес. и сохранялась до 12 мес. имплантации, а в PNBV / PCL через 6 и 12 мес. наблюдали формирование грануляционной ткани и значительное утолщение имплантатов. Заселение полимерных заплат клетками сопровождалось формированием внеклеточного матрикса, состоящего преимущественно из коллагена IV типа, и быстрой васкуляризацией (рис. 4, 5). В свою очередь, миграцию клеток в толщу ксеноперикарда отмечали только через 1 мес., после чего количество клеток в образцах снижалось.

5. Кальцификация

В обоих типах полимерных заплат формирование очагов кальция происходило через 3 мес. в зоне между материалом образцов и неоинтимой и в некоторых случаях вокруг шовного материала (рис. 4). К концу исследования в каждой из этих групп определяли кальцификаты в 4 из 6 образцов (табл. 2). Формирование кристаллического кальция с нарушением структуры материала наблюдали в одной из ксеноперикардальных заплат через 1 мес. исследования, а через 12 мес. 4 из 6 образцов демонстрировали кальциевую и структурную дегенерацию.

Обсуждение

Каротидная эндалтерэктомия с использованием сосудистой заплаты относится к основным способам хирургического лечения стеноза сонной арте-

Рис. 4.

Гистологическое исследование тканеинженерных сосудистых заплат из PNBV / PCL / VEGF, PNBV / PCL и коммерческих заплат из бычьего перикарда «Кем-Периплас-Нео» после имплантации в стенку брюшной аорты крыс через 1, 3, 6 и 12 мес. с окраской гематоксилином и эозином (объектив 20х, шкала = 200), окраской по Ван-Гизону (объектив 20х, шкала = 200) и окраской ализариновым красным С (объектив 10х, шкала = 200)

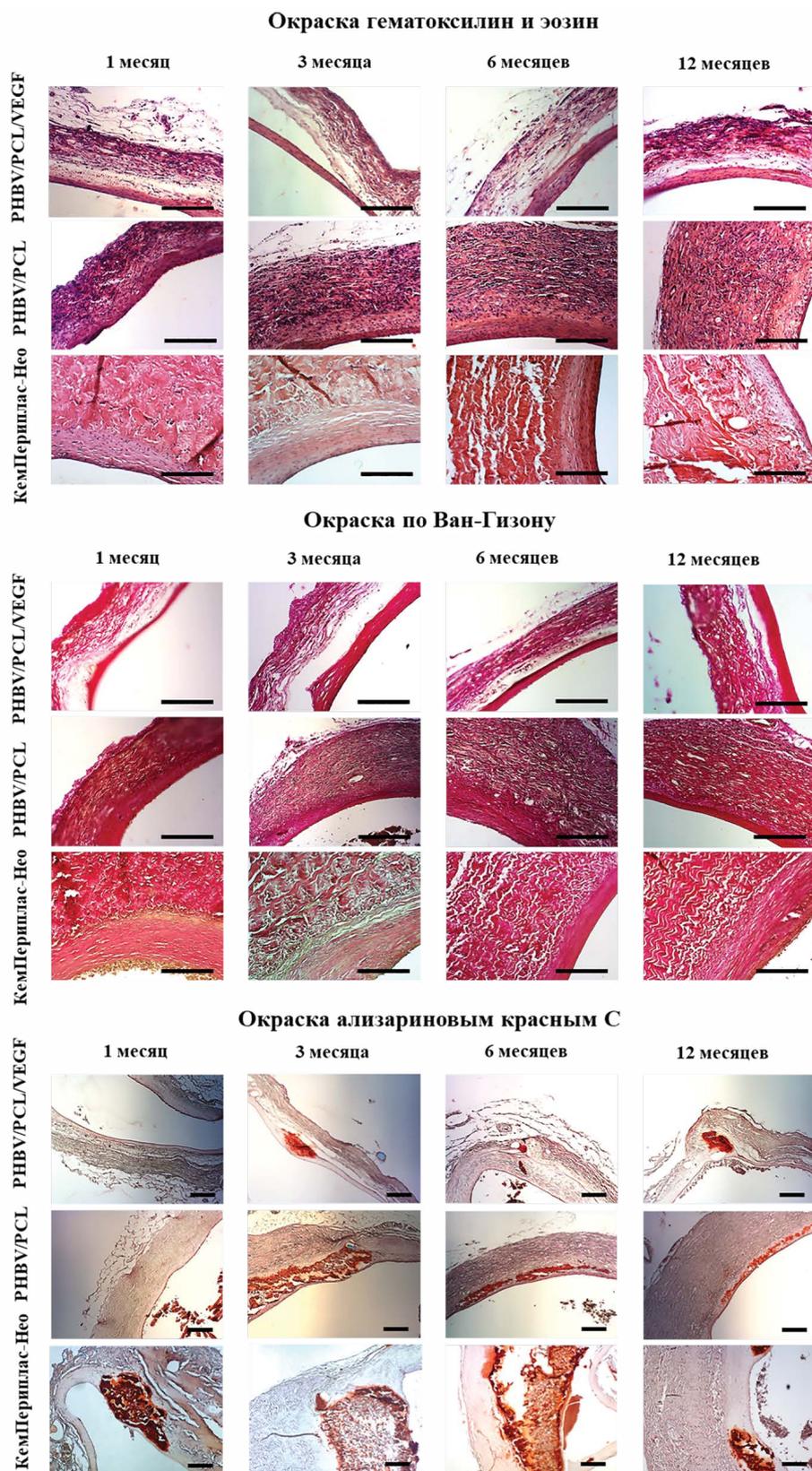
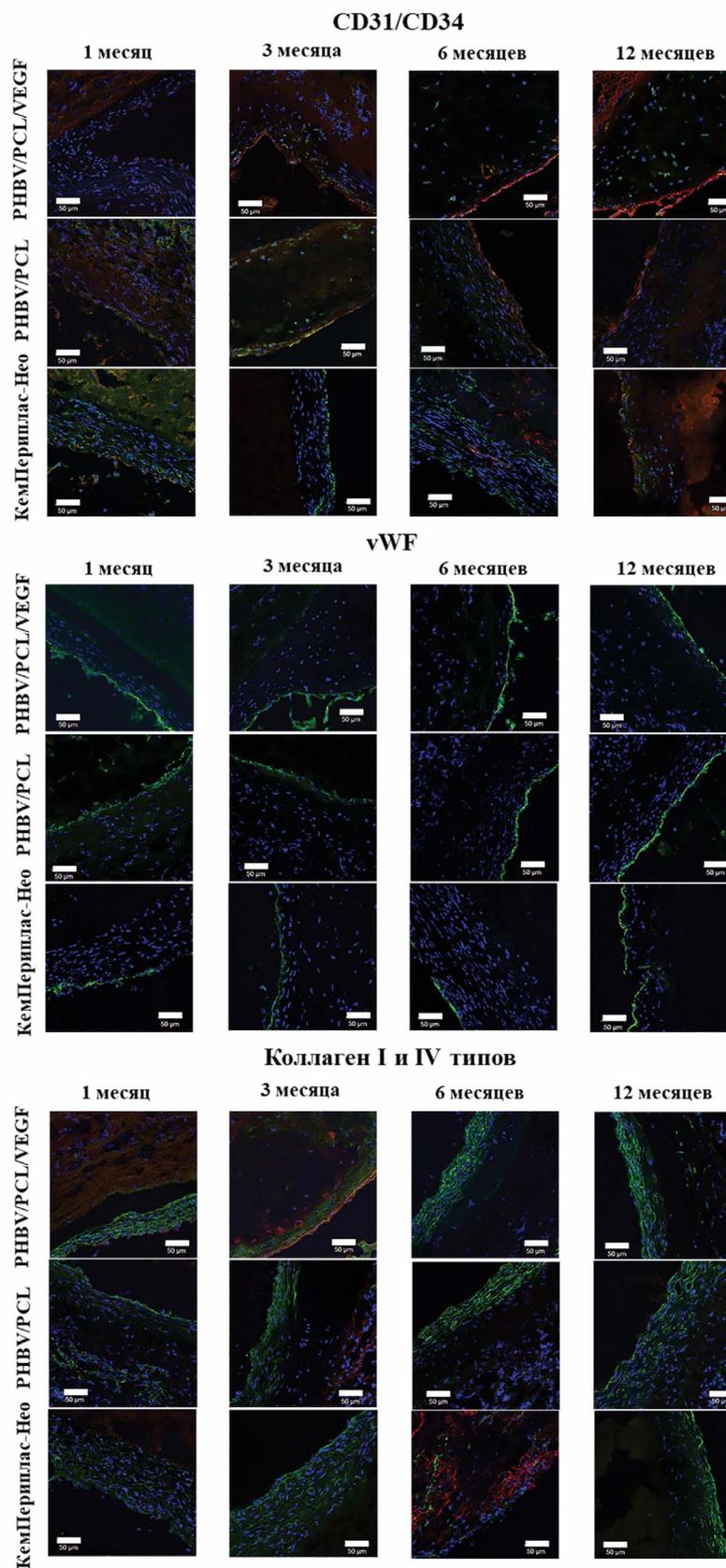


Рис. 5.

Иммунофлуорисцентное исследование тканеинженерных сосудистых заплат из PNBV / PCL / VEGF, PNBV / PCL и коммерческих заплат из бычьего перикарда «КемПериплас-Нео» после имплантации в стенку брюшной аорты крыс через 1, 3, 6 и 12 мес. с двойным окрашиванием на CD31 (красный) и CD34 (зеленый), окрашиванием на фактор фон Виллебранда (зеленый) и двойным окрашиванием на коллаген I (красный) и IV (зеленый) типов, объектив 20х, шкала = 50 мкм



кон в материале, что обусловлено присутствием водной фазы в полимерном растворе. При этом сохранялась высокопористая структура заплаты, имитирующая внеклеточный матрикс и способная обеспечить опору клетками, а также поступление питательных веществ [25]. Благодаря расстоянию между волокнами в материалах, изготовленных методом электроспиннинга, клетки могут проникать в толщу изделия и пролиферировать.

Важной характеристикой сосудистых заплат являются механические свойства. Заплаты должны обладать высокой прочностью и износостойкостью, а также эластичностью, близкой к данным свойствам нативной артерии [12]. Образцы PHBV / PCL / VEGF имели более низкую прочность относительно немодифицированных, что было обусловлено наличием внутри полимерных волокон водных резервуаров с VEGF, которые создавали точки, не выдерживающие значительную механическую нагрузку. Однако разработанные заплаты были сопоставимы по прочности с внутренней грудной артерией человека и аортой крысы, что свидетельствует об их способности выдержать напряжение, оказываемое током крови, после имплантации в стенку сосуда. Также введение VEGF приводило к снижению жесткости полимерного материала, однако значения не достигали характерных для биологических тканей. Несоответствие жесткости стенки артерии и имплантата может приводить к изменению кровотока в зоне анастомоза, увеличению гиперплазии неоинтимы и последующему стенозу сосуда [14; 26]. В свою очередь, использование заплат из PHBV / PCL с VEGF позволит избежать данных осложнений, благодаря деградации *in vivo* и замещению нативной тканью. Так, ранее мы показали изменение механических свойств пористого биодеградируемого материала в соответствии со свойствами нативных тканей после 6 мес. имплантации *in vivo* [27].

Использование подхода тканевой инженерии *in situ*, а именно заселение искусственного матрикса собственными клетками организма в месте имплантации с формированием структур нативных тканей, демонстрирует значительные успехи при создании кровеносных сосудов. Этот подход также применяют при разработке новых сосудистых заплат. Частичное восстановление сосудистой стенки на месте имплантации биодеградируемой заплаты показано

в работах с имплантатами из бензилового эфира гиалуроновой кислоты, на основе тканого слоя PLA, окруженного с двух сторон слоями пористого спонжа из сополимера PCL и PLA, а также из шелка тутового шелкопряда, обработанного 4-гексилрезорцином [28–30]. В настоящей работе изучение способности разрабатываемых заплат поддерживать регенерацию сосудистой стенки *in situ* также стало одной из главных задач.

Импантированные заплаты как из полимерных материалов, так и ксеноперикарда демонстрировали проходимость в течение 12 мес. имплантации. Хотя на образцах из ксеноперикарда отмечали тенденцию к гиперплазии неоинтимы на более поздних сроках исследования. При этом клинические исследования свидетельствуют о низком уровне рестенозов в отдаленном периоде при применении ксеноперикардальных заплат для каротидной эндартерэктомии [13; 31].

Оценка эндотелизации внутренней поверхности имплантатов показала, что VEGF стимулировал формирование эндотелиального слоя на полимерных заплатах. Так, образование эндотелия на заплатах с VEGF начиналось в первый месяц имплантации, и к 3 мес. формировался монослой эндотелиальных клеток, в то время как на немодифицированном PHBV / PCL монослой формировался только к 12 мес. При этом на заплатах из ксеноперикарда непрерывного эндотелиального слоя не отмечено даже через год имплантации.

Необходимым условием при регенерации сосудистой стенки является стабильная популяция клеток в толще биодеградируемого имплантата. Результаты оценки формирования среднего слоя стенки кровеносного сосуда на месте имплантата продемонстрировали, что наилучшее заселение клетками происходило в заплатах с VEGF. Высокую популяцию клеток, которые синтезировали внеклеточный матрикс и формировали новую ткань, наблюдали в этих образцах на протяжении 12 мес. Пористая структура заплат способствовала миграции клеток в толщу изделия. Это подтверждается более низким содержанием клеток в заплатах из ксеноперикарда через несколько месяцев имплантации, по сравнению с полимерными образцами, изготовленными методом электроспиннинга. В заплатах из PHBV / PCL также наблюдали высокую клеточность, однако после

3 мес. имплантации в части образцов она была представлена грануляционной тканью, состоящей из гигантских многоядерных клеток инородных тел. Длительное хроническое воспаление на поверхности биоматериала свидетельствует о персистенции воспаления, которое в дальнейшем приводит к фиброзу [32, 33]. В свою очередь, R.J. Smith с соавт. показали поляризацию макрофагов в противовоспалительный фенотип M2 в присутствии VEGF при ремоделировании имплантированных тканеинженерных сосудистых графтов, что также может объяснять отсутствие грануляционной ткани в заплатах из PHBV / PCL с VEGF [17].

Одной из важных проблем сердечно-сосудистой хирургии является кальцификация имплантатов, в том числе протезов сосудов и сосудистых заплат [34; 35]. Также известно, что кальцификации могут подвергаться биodeградируемые материалы, имплантированные в кровеносное русло и контактирующие с кровью [36]. Наиболее раннее формирование кальцификатов происходило в заплатах из ксеноперикарда. В образцах из PHBV / PCL и PHBV / PCL с VEGF также отмечали очаги кальция, однако на более поздних сроках имплантации. В ряде работ по оценке сосудистых тканеинженерных имплантатов *in vivo* на мелких лабораторных животных показано подобное формирование кальцификатов между неоинтимой и биоматериалом. Причины этого остаются не до конца ясными, хотя некоторые авторы связывают кальцификацию имплантатов с использованием длительно деградирующих полимеров, пористостью биоматериала, видом экспериментального животного и местом имплантации [36–38].

Тканеинженерная сосудистая заплата должна заселяться клетками организма с формированием структур стенки кровеносного сосуда. Использование VEGF для регуляции процесса ремоделирования биodeградируемой заплаты из PHBV / PCL позволило ускорить эндотелизацию, а также способствовало увеличению биосовместимости, оптимальному заселению клетками с формированием внеклеточного матрикса.

Заключение

Таким образом, проведено сравнение свойств и эффективности тканеинженерных заплат из PHBV / PCL, содержащих инкорпорированный VEGF,

относительно заплат из PHBV / PCL без ростового фактора и коммерческих заплат из ксеноперикарда, применяемых в клинической практике. Биodeградируемые сосудистые заплаты с ростовым фактором демонстрировали лучшую биосовместимость и после имплантации подвергались ремоделированию с образованием структур близких к структурам сосудистой стенки.

Список литературы / References

1. Мартынчик С.А., Соколова О.В. Медико-экономическая оценка и обоснование совершенствования организационных форм оказания стационарной помощи при мозговом инсульте. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2013;2(30):10. [Martynchik S.A., Sokolova O.V. Medical and economic assessment and rationale for improving organization of inpatient care for cerebral stroke. *Social Aspects of Population Health*. 2013;2(30):10. (In Russ.)]
2. Леманев В.Л., Лукьянчиков В.А., Беляев А.А. Цереброваскулярные заболевания и стенотическое поражение брахиоцефальных артерий: эпидемиология, клиническая картина, лечение. *Consilium Medicum*. 2019;21(9):29-32 [Lemenev V.L., Luk'ianchikov V.A., Beliaev A.A. Cerebrovascular disease and stenotic lesion of the brachiocephalic arteries: epidemiology, clinical manifestations, treatment. *Consilium Medicum*. 2019;21(9):29–32. (In Russ.)]. <http://dx.doi.org/10.26442/20751753.2019.9.190611>
3. Bonati L.H., Dobson J., Featherstone R.L., Ederle J., van der Worp H.B., de Borst G.J., Mali W.P.Th.M., Beard J.D., Cleveland T., Engelter S.T., Lyrer P.A., Ford G.A., Dormann P.J., Brown M.M., International Carotid Stenting Study investigators. Long-term outcomes after stenting versus endarterectomy for treatment of symptomatic carotid stenosis: the International Carotid Stenting Study (ICSS) randomised trial. *Lancet*. 2015;385(9967):529-538. PMID: 25453443, PMCID: PMC4322188. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61184-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61184-3)
4. Naylor A.R., Ricco J.-B., de Borst G.J., Debus S., de Haro J., Halliday A., Hamilton G., Kakisis J., Kakkos S., Lepidi S., Markus H.S., McCabe D.J., Roy J., Sillensen H., van den Berg J.C., Vermassen F., Esvs Guidelines Committee, Kolh P., Chakfe N., Hinchliffe R.J., Koncarl., Lindholt J.S., Vegade Ceniga M., Verzini F., Esvs Guideline Reviewers, Archie J., Bellmunt S., Chaudhuri A., Koelemay M., Lindahl A.-K., Padberg F., Venermo M. Editor's choice - management of atherosclerotic carotid and vertebral artery disease: 2017 clinical practice guidelines of the European society for vascular surgery (ESVS). *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2018;55(1):3-81. PMID: 28851594. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejvs.2017.06.021>
5. Печенкин А.А., Лызикив А.А. Каротидная эндалтерэктомия: исходы и перспективы. *Новости хирургии*. 2014;22(2):231-238. [Pechenkin A.A., Lyzikov A.A. Carotid endarterectomy: outcomes and prospects. *Novosti Khirurgii*. 2014;22(2):231-238. (In Russ.)]
6. Huizing E., Vos C.G., Hulsebos R.G., van den Akker P.J., Borst G.J., Ünlü Ç. Patch angioplasty or primary closure following carotid endarterectomy for symptomatic carotid artery stenosis. *Surg J (N Y)*. 2018;4(2):e96-e101. PMID: 29915809, PMCID:

- PMC6003887. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0038-1655757>
7. Bond R., Rerkasem K., AbuRahma A.F., Naylor A.R., Rothwell P.M. Patch angioplasty versus primary closure for carotid endarterectomy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(2):CD000160. PMID: 15106145. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD000160.pub2>
 8. Rerkasem K., Rothwell P.M. Patch angioplasty versus primary closure for carotid endarterectomy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;2009(4):CD000160. PMID: 19821267, PMCID: PMC7078573. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD000160.pub3>
 9. Rerkasem K., Rothwell P.M. Systematic review of randomized controlled trials of patch angioplasty versus primary closure and different types of patch materials during carotid endarterectomy. *Asian J Surg.* 2011;34(1):32-40. PMID: 21515211. [http://dx.doi.org/10.1016/S1015-9584\(11\)60016-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1015-9584(11)60016-X)
 10. Olsen S.B., Mcquinn W.C., Feliciano P. Results of carotid endarterectomy using bovine pericardium patch closure, with a review of pertinent literature. *Am Surg.* 2016;82(3):221-226. PMID: 27099058.
 11. Weber S.S., Annenberg A.J., Wright C.B., Braverman T.S., Mesh C.L. Early pseudoaneurysm degeneration in biologic extracellular matrix patch for carotid repair. *J Vasc Surg.* 2014;59(4):1116-1118. PMID: 23809202. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2013.05.012>
 12. Muto A., Nishibe T., Dardik H., Dardik A. Patches for carotid artery endarterectomy: Current materials and prospects. *J Vasc Surg.* 2009;50(1):206-213. PMID: 19563972, PMCID: PMC2759680. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2009.01.062>
 13. Texakalidis P., Giannopoulos S., Charis N., Giannopoulos S., Karasavidis T., Koullias G., Jabbour P. A meta-analysis of randomized trials comparing bovine pericardium and other patch materials for carotid endarterectomy. *J Vasc Surg.* 2018;68(4):1241-1256. PMID: 30244928. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2018.07.023>
 14. Harrison G.J., How T.V., Poole R.J., Brennan J.A., Naik J.B., Vallabhaneni S.R., Fisher R.K. Closure technique after carotid endarterectomy influences local hemodynamics. *J Vasc Surg.* 2014;60(2):418-427. PMID: 24657293. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2014.01.069>
 15. Talacua H., Smits A.I.P.M., Muylaert D.E.P., van Rijswijk J.W., Vink A., Verhaar M.C., Driessen-Mol A., van Herwerden L.A., Bouten C.V.C., Kluin J., Baaijens F.P.T. In situ tissue engineering of functional small-diameter blood vessels by host circulating cells only. *Tissue Eng Part A.* 2015;21(19-20):2583-2594. PMID: 26200255. <http://dx.doi.org/10.1089/ten.TEA.2015.0066>
 16. Lee K.-W., Johnson N.R., Gao J., Wang Y. Human progenitor cell recruitment via SDF-1 α coacervate-laden PGS vascular grafts. *Biomaterials.* 2013;34(38):9877-9885. PMID: 24060423, PMCID: PMC3882008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.08.082>
 17. Smith R.J. Jr, Yi T., Nasiri B., Breuer C.K., Andreadis S.T. Implantation of VEGF-functionalized cell-free vascular grafts: regenerative and immunological response. *FASEB J.* 2019;33(4):5089-5100. PMID: 30629890, PMCID: PMC6436645. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.201801856R>
 18. Shin Y.M., Lee Y.B., Kim S.J., Kang J.K., Park J.-C., Jang W., Shin H. Mussel-inspired immobilization of vascular endothelial growth factor (VEGF) for enhanced endothelialization of vascular grafts. *Biomacromolecules.* 2012;13(7):2020-2028. PMID: 22617001. <http://dx.doi.org/10.1021/bm300194b>
 19. Севостьянова В.В., Васюков Г.Ю., Борисов В.В., Бураго А.Ю., Формокидова Ю.Н., Головкин А.С. Стимуляция ангиогенеза матрицами из поликапролактона, содержащими VEGF. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2013;4:28-34. [Sevostyanova V.V., Vasukov G.Y., Borisov V.V., Burago A.Y., Formokidova Y.N., Golovkin A.S. Polycaprolactone scaffolds containing VEGF for angiogenesis stimulation. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2013;4:28-34. (In Russ.)]
 20. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Mironov A.V., Krivkina E.O., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Glushkova T.V., Elgudin Y.L., Barbarash L.S. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2018;7(2):25-36. <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36>
 21. Яриков А.В., Балябин А.В., Яшин К.С., Мухин А.С. Хирургические методы лечения стеноза сонных артерий (обзор). *Современные технологии в медицине.* 2015;7(4):189-200. [Yarikov A.V., Balyabin A.V., Yashin K.S., Mukhin A.S. Surgical treatment modalities of carotid artery stenosis (review). *Sovremennye tehnologii v medicine = Modern Technologies in Medicine.* 2015;7(4):189-200. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17691/stm2015.7.4.25>
 22. Neethling W.M.L., Hodge A.J., Clode P., Glancy R. A multi-step approach in anti-calcification of glutaraldehyde-preserved bovine pericardium. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2006;47(6):711-778. PMID: 17043620
 23. Saporito W.F., Pires A.C., Cardoso S.H., Correa J.A., de Abreu L.C., Valenti V.E., Miller L.M.R., Colombari E. Bovine pericardium retail preserved in glutaraldehyde and used as a vascular patch. *BMC Surg.* 2011;11:37. PMID: 22192162, PMCID: PMC3258210. <https://doi.org/10.1186/1471-2482-11-37>
 24. Ren S., Li X., Wen J., Zhang W., Liu P. Systematic review of randomized controlled trials of different types of patch materials during carotid endarterectomy. *PLoS ONE.* 2013;8(1):e55050. PMID: 23383053, PMCID: PMC3561447. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055050>
 25. Wu J., Hong Yi. Enhancing cell infiltration of electrospun fibrous scaffolds in tissue regeneration. *Bioact Mater.* 2016;1(1):56-64. PMID: 29744395, PMCID: PMC5883964. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2016.07.001>
 26. Roussis P.C., Giannakopoulos A.E., Charalambous H.P. Analytical side-to-side related anastomotic strategies and artery patching. *Open Biomed Eng J.* 2015;9:1-9. PMID: 25949745, PMCID: PMC4415203. <https://doi.org/10.2174/1874120701509010001>
 27. Глушкова Т.В., Севостьянова В.В., Антонова Л.В., Клышников К.Ю., Овчаренко Е.А., Сергеева Е.А., Васюков Г.Ю., Сейфалиан А.М., Барбараш Л.С. Биомеханическое ремоделирование биодеградируемых сосудистых графтов малого диаметра in situ. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2016;18(2):99-109. [Glushkova T.V., Sevostyanova V.V., Antonova L.V., Klyshnikov K.Y., Ovcharenko E.A., Sergeeva E.A., Vasyukov G.Yu., Seifalian A.M., Barbarash L.S. Biomechanical remodeling of biodegradable small-diameter vascular grafts in situ. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2016;18(2):99-109. (In Russ.)] <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2016-2-99-109>
 28. Pandis L., Zavan B., Bassetto F., Ferroni L., Iacobellis L.,

- Abatangelo G., Lepidi S., Cortivo R., Vindigni V. Hyaluronic acid biodegradable material for reconstruction of vascular wall: a preliminary study in rats. *Microsurgery*. 2011;31(2):138-145. PMID: 21268111. <https://doi.org/10.1002/micr.20856>
29. Ichihara Y., Shinoka T., Matsumura G., Ikada Y., Yamazaki K. A new tissue-engineered biodegradable surgical patch for high-pressure systems. *Interact CardioVasc Thorac Surg*. 2015;20:768–76. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivv017>
 30. Kim C.-W., Kim M.-K., Kim S.-G., Park Y.-W., Park Y.-T., Kim D.-W., Seok H. Angioplasty using 4-hexylresorcinol-incorporated silk vascular patch in rat carotid defect model. *Appl Sci*. 2018;8(12):2388. <https://doi.org/10.3390/app8122388>
 31. Карпенко А.А., Стародубцев В.Б., Игнатенко П.В., Кужугет Р.А., Ким И.Н., Горбатых В.Н. Непосредственные и отдаленные результаты различных методов реконструкции каротидной бифуркации. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2013;17(1):21-24. [Karpenko A.A., Starodubtsev V.B., Ignatenko P.V., Kuzhuget R.A., Kim I.N., Gorbatykh V.N. Immediate and long-term outcomes of carotid bifurcation remodeling. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2013;17(1):21-24. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2013-1-21-24>
 32. Должиков А.А., Колпаков А.Я., Ярош А.Л., Молчанова А.С., Должикова И.Н. Гигантские клетки инородных тел и тканевые реакции на поверхности имплантатов. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2017;(3):86-94. [Dolzhiikov A.A., Kolpakov A.Ya., Yarosh A.L., Molchanova A.S., Dolzhikova I.N. Giant foreign body cells and tissue reactions on the surface of implants. *Kursk Scientific and Practical Bulletin «Man and His Health»*. 2017;(3):86-94. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21626/vestnik/2017-3/15>
 33. Anderson J.M., Jones J.F. Phenotypic dichotomies in the foreign body reaction. *Biomaterials*. 2007;28(34):5114-5120. PMID: 17706278, PMCID: PMC2248374. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.07.010>
 34. Mehta R.I., Mukherjee A.K., Patterson T.D., Fishbein M.C. Pathology of explanted polytetrafluoroethylene vascular grafts. *Cardiovasc Pathol*. 2011;20(4):213-221. PMID: 20619685. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2010.06.005>
 35. Li X., Guo Y., Ziegler K.R., Model L.S., Eghbalieh S.D.D., Brenes R.A., Kim S.T., Shu C., Dardik A. Current usage and future directions for the bovine pericardial patch. *Ann Vasc Surg*. 2011;25(4):561-568. PMID: 21276709, PMCID: PMC3085588. <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2010.11.007>
 36. de Valence S., Tille J.-C., Mugnai D., Mrowczynski W., Gurny R., Möller M., Walpoth B.H. Long term performance of polycaprolactone vascular grafts in a rat abdominal aorta replacement model. *Biomaterials*. 2012;33(1):38-47. PMID: 21940044. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.09.024>
 37. Sugiura T., Tara S., Nakayama H., Yi T., Lee Y.-U., Shoji T., Breuer C.K., Shinoka T. Fast-degrading bioresorbable arterial vascular graft with high cellular infiltration inhibits calcification of the graft. *J Vasc Surg*. 2017;66(1):243-250. PMID: 27687327, PMCID: PMC5366287. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2016.05.096>
 38. Fukunishi T., Best C.A., Sugiura T., Shoji T., Yi T., Udelsman B., Ohst D., Ong C.S., Zhang H., Shinoka T., Breuer C.K., Johnson J., Hibino N. Tissue-engineered small diameter arterial vascular grafts from cell-free nanofiber PCL/chitosan scaffolds in a sheep model. *PLoS One*. 2016;11(7):e0158555. PMID: 27467821, PMCID: PMC4965077. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158555>

Tissue-engineered patch modified by vascular endothelial growth factor for reconstruction of vascular wall

Viktoriiia V. Sevostianova, Andrey V. Mironov, Larisa V. Antonova, Evgeniya O. Krivkina, Vera G. Matveeva, Elena A. Velikanova, Roman S. Tarasov, Tatiana V. Glushkova, Leonid S. Barbarash

Research Institute For Complex Problems Of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Corresponding author. Viktoriiia V. Sevostianova, sevostv@gmail.com

Background. Commercially available synthetic and animal-derived vascular patches used in patch angioplasty during carotid endarterectomy have several disadvantages, such as postoperative thrombosis or occlusion and restenosis. This problem may be resolved by the development of biologically active materials that are biodegradable and can stimulate tissue regeneration.

Aim. To evaluate the properties and efficacy of a biodegradable patch based on poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) and poly(ϵ -caprolactone) (PCL) into which vascular endothelial growth factor (VEGF) is incorporated, in comparison with unmodified PHBV/PCL and commercial vascular patches.

Methods. Porous patches were fabricated by emulsion electrospinning from a mixture of PHBV and PCL, into which VEGF was incorporated. The morphological and mechanical properties of these patches were tested, and they were implanted into the wall of rat abdominal aortas for 1, 3, 6 and 12 months. Histological and immunofluorescence examinations were performed to evaluate endothelialisation, cellular composition and calcification.

Results. PHBV / PCL patches with VEGF had a highly porous structure and demonstrated tensile strength similar to that of the aorta in rats and the internal thoracic artery in humans. After 3 months of implantation, an endothelial monolayer was formed on the inner surface of these patches. The patches were populated by cells that secreted the extracellular matrix faster than did cells of patches from the xenopericardium. Remodelling with PHBV / PCL patches was not accompanied by chronic inflammation; in contrast, inflammation was observed with long-term implantation of unmodified PHBV / PCL samples.

Conclusion. VEGF incorporated into biodegradable PHBV / PCL patches stimulated their endothelialisation, increased their biocompatibility and promoted remodelling and formation of the components of the blood vessel. PHBV / PCL / VEGF patches thus have a high potential for use in tissue engineering of the vascular wall.

Keywords: biodegradable polymer; endothelialisation; tissue engineering; vascular endothelial growth factor; vascular patch

Received 2 June 2020. Revised 27 June 2020. Accepted 16 July 2020.

Funding: This study was supported by the Complex Program of Basic Research under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences within the Basic Research Topic of Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases № 0546-2019-0002 “Pathogenetic basis for the development of cardiovascular implants from biocompatible materials using patient-oriented approach, mathematical modeling, tissue engineering, and genomic predictors”.

Conflict of interest: Authors declare no conflict of interest.

Author contributions

Conception and study design: V.V. Sevostianova, A.V. Mironov, L.V. Antonova, R.S. Tarasov, L.S. Barbarash

Data collection and analysis: V.V. Sevostianova, A.V. Mironov, L.V. Antonova, E.O. Krivkina, V.G. Matveeva, E.A. Velikanova, T.V. Glushkova

Statistical analysis: V.V. Sevostianova, T.V. Glushkova

Drafting the article: V.V. Sevostianova, A.V. Mironov

Critical revision of the article: L.V. Antonova, R.S. Tarasov, L.S. Barbarash

Final approval of the version to be published: V.V. Sevostianova, A.V. Mironov, L.V. Antonova, E.O. Krivkina, V.G. Matveeva, E.A. Velikanova, R.S. Tarasov, T.V. Glushkova, L.S. Barbarash

ORCID ID

V.V. Sevostianova, <https://orcid.org/0000-0003-0195-8803>

A.V. Mironov, <https://orcid.org/0000-0002-8846-5077>

L.V. Antonova, <https://orcid.org/0000-0002-8874-0788>

E.O. Krivkina, <https://orcid.org/0000-0002-2500-2147>

V.G. Matveeva, <https://orcid.org/0000-0002-4146-3373>

E.A. Velikanova, <http://orcid.org/0000-0002-1079-1956>

R.S. Tarasov, <https://orcid.org/0000-0003-3882-709X>

T.V. Glushkova, <https://orcid.org/0000-0003-4890-0393>

L.S. Barbarash, <https://orcid.org/0000-0001-6981-9661>

Copyright: © 2020 Sevostianova et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

How to cite: Sevostianova V.V., Mironov A.V., Antonova L.V., Krivkina E.O., Matveeva V.G., Velikanova E.A., R.S. Tarasov, Glushkova T.V., Barbarash L.S. Tissue-engineered patch modified by vascular endothelial growth factor for reconstruction of vascular wall. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2020;24(4):114-128. (In Russ.) <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-4-114-128>