

УДК 616.12-089.819.843:577.1:621.31]-092.9:599.323.45

ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЙ МАТРИКС, МОДИФИЦИРОВАННЫЙ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ МОЛЕКУЛАМИ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ

Л. В. АНТОНОВА, Е. О. КРИВКИНА, Е. А. СЕРГЕЕВА, В. В. СЕВОСТЬЯНОВА, А. Ю. БУРАГО, Н. Н. БУРКОВ, Р. Ф. ШАРИФУЛИН, Е. А. ВЕЛИКАНОВА, Ю. А. КУДРЯВЦЕВА, О. Л. БАРБАРАШ, Л. С. БАРБАРАШ

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

Важной задачей тканевой инженерии кровеносных сосудов является поиск материалов для изготовления искусственного матрикса, применяемого в качестве основы для восстановления тканей. Особый интерес представляет модификация матриксов для создания биологически активной среды в месте имплантации. Возможным решением данной проблемы может стать комбинирование биodeградируемых полимеров, ростовых факторов и хемоаттрактантных молекул.

Цель. Оценить реакцию окружающих тканей на нетканые матриксы из полигидроксibuтирата/валерата (ПГБВ) и поликапролактона (ПКЛ) с VEGF, bFGF и SDF-1 α , имплантированные на переднюю поверхность сердца крыс.

Материалы и методы. Нетканые матриксы ПГБВ/ПКЛ, немодифицированные и модифицированные сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF), основным фактором роста фибробластов (bFGF) или хемоаттрактантной молекулой SDF-1 α , изготавливали методом двухфазного электроспиннинга и имплантировали на переднюю поверхность сердца крыс сроком на 2 недели, 1, 2 и 3 месяца. По истечении срока наблюдения матриксы эксплантировали с прилежащими тканями и проводили гистологическое исследование.

Результаты. Имплантация пустых и биофункционализированных ПГБВ/ПКЛ-матриксов не вызывала местной воспалительной реакции. В матриксах с VEGF и прилежащих к ним тканях отмечали активный ангиогенез на протяжении 3 месяцев. Образцы этой группы отличались умеренной клеточной инфильтрацией. ПГБВ/ПКЛ+bFGF-матриксы были значительно заселены фибробластами и окружены наиболее выраженной соединительнотканной капсулой. В матриксах с инкорпорированным SDF-1 α наблюдали активную инфильтрацию клетками, синтезирующими внеклеточный матрикс, и неоангиогенез с образованием более крупных кровеносных сосудов относительно всех исследуемых образцов. Таким образом, инкорпорированные молекулы после высвобождения из матрикса проявляли биологическую активность в окружающих тканях в течение всего эксперимента.

Заключение. Введение ростовых факторов и хемоаттрактантных молекул в биodeградируемые полимеры позволяет создавать тканеинженерные матриксы, обладающие бионаправленностью своего действия. Данный подход с использованием VEGF, bFGF и SDF-1 α может быть использован в разработке функционально активного биodeградируемого сосудистого графта, способствующего формированию *in situ* ткани *de novo* после имплантации.

Ключевые слова: тканевая инженерия, матрикс, ростовые факторы.

TISSUE ENGINEERED SCAFFOLD MODIFIED BY BIOACTIVE MOLECULES FOR DIRECTED TISSUE REGENERATION

L. V. ANTONOVA, E. O. KRIVKINA, E. A. SERGEEVA, V. V. SEVOSTYANOVA, A. YU. BURAGO, N. N. BURKOV, R. F. SHARIFULIN, E. A. VELIKANOVA, YU. A. KUDRYAVTSEVA, O. L. BARBARASH, L. S. BARBARASH

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

Search of an ideal polymer for the preparation of the artificial scaffolds is an important goal of vascular tissue engineering. Biofunctionalization of the scaffolds may assist in creation of the bioactive environment at the site of implantation. Combination of biodegradable polymers and growth factors may be an appropriate approach for the directed regeneration of the vascular tissues.

Purpose. To assess tissue reaction to nonwoven scaffolds prepared from poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV)/ polycaprolactone (PCL) with vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), and stromal-derived growth factor-1 α (SDF-1 α) implanted into the rat pericardial sac.

Materials and methods. Nonwoven PHBV/PCL scaffolds with and without VEGF, bFGF, and SDF-1 α were prepared using electrospinning and implanted into the rat pericardial sac for 2 weeks, 1, 2, and 3 months with the further histological examination.

Results. Implantation of the scaffolds did not cause any inflammatory reaction. We detected an active neoangiogenesis in both PHBV/PCL/VEGF and PHBV/PCL/SDF-1 α scaffolds and adjacent tissues at all the time points. Moreover, we observed a considerable cell infiltration and production of extracellular matrix in PHBV/PCL/SDF-1 α scaffolds. PHBV/PCL/bFGF scaffolds were colonized by fibroblasts and were surrounded by a connective tissue capsule. Therefore, growth factors retained their bioactivity in the tissues during the whole time of the experiment.

Conclusions. Incorporation of the growth factors into biodegradable polymers is an appropriate approach for the creation of the tissue engineered scaffolds for directed tissue regeneration. VEGF, bFGF, and SDF-1 α may be used for the creation of biodegradable vascular graft promoting de novo formation of the vascular tissue after the implantation.

Key words: tissue engineering, scaffold, growth factors.

Введение

На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания, в особенности ишемическая болезнь сердца, являются основной причиной смерти населения во всем мире [1]. К ишемической болезни сердца приводит поражение коронарных артерий. Количество операций аортокоронарного шунтирования неуклонно растет [2]. Как правило, для восстановления кровотока в качестве шунта используются собственные артерии и вены пациента, однако в ряде случаев они отсутствуют в результате ранее проведенных операций либо не могут быть использованы вследствие имеющихся или перенесенных заболеваний [3]. Поэтому актуальным является поиск подходов к искусственному созданию кровеносных сосудов малого диаметра. Одно из перспективных направлений этой области – разработка сосудистых графтов из биосовместимых материалов, способных имитировать структуру внеклеточного матрикса и управлять процессами регенерации и репарации тканей в организме.

В качестве материала для конструирования искусственного матрикса используют природные или синтетические полимеры. При помощи различных технологий можно добиться вытягивания полимера в микро- и нанонити с формированием из них необходимой структуры матрикса. Основные методы формования полимерных волокон – вытягивание, темплатный синтез и электроспиннинг [4]. Последний является наиболее эффективным методом в силу своей универсальности, лабильности режимов и простоты эксплуатации, что делает его лидером в получении материалов для регенеративной медицины [5].

Метод электроспиннинга позволяет создавать высокопористые тканеинженерные матриксы на основе одного или нескольких полимеров. С помощью различных режимов можно добиться разнообразной морфологии поверхностей: изменению подлежат диаметр и ориентация нитей полимера, вследствие этого – формирование диаметра пор матрикса [6]. Отличительной чертой материалов, изготовленных методом электроспиннинга, является поверхность, схожая по своей архитектонике с естественным внеклеточным матриксом за счет формирования волокон микро- и наноразмерного уровня [7]. Но существующие качественные отличия полимерных имплантатов от нативных

тканей, связанные с отсутствием биоактивного функционала, не допускают их к реализации в клинике. Основными проблемами использования синтетических сосудистых графтов являются тромбоз, инфекция, недостаточная прочность и неспособность к росту. Часть из них можно решить благодаря наделению матрикса биофункциональным потенциалом [8].

Если рассматривать вопрос создания функционально активного сосудистого графта, то его эндотелизация на ранних сроках имплантации является предупреждением процесса тромбообразования и тем самым залогом долгосрочной проходимости. Направленная стимуляция формирования ткани *in situ* способна как активировать миграцию клеток в матриксе, их пролиферацию и дифференцировку, так и расширить капиллярную сеть в толще пористого материала, увеличивая приток кислорода и питательных веществ, ускоряя процессы ремоделирования тканей. Управление данными процессами осуществляют сигнальные белки или ростовые факторы [9]. Нами были выделены биологически активные молекулы, потенциально пригодные для наделения будущего графта биофункциональными свойствами с целью направленной регенерации тканей кровеносного сосуда.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor/VEGF), будучи ключевым регулятором ангиогенеза как при физиологических, так и при паталогических состояниях, стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток в постнатальном периоде [10]. Основным фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor/bFGF) ответствен за стимуляцию роста эндотелиальных клеток и организацию их в трубчатую структуру. bFGF ускоряет ангиогенез за счет роста новых кровеносных сосудов из уже существующей сосудистой сети, а также осуществляет хемотаксис, активацию и пролиферацию фибробластов, участвующих в репарации в очаге воспаления [11–13].

Стромальный фактор (stromal cell-derived factor 1/SDF-1 α) является хемоаттрактантной молекулой и также играет важную роль в ангиогенезе путем привлечения эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга, участвуя в различных этапах пролиферации эндотелиальных клеток, препятствуя их апоптозу и стимулируя формирование капиллярной трубки [14–16].

Среди различных способов локальной доставки ростовых факторов одним из наиболее перспективных является их инкорпорирование в полимерный матрикс в процессе электроспиннинга. Данный подход позволяет создавать трехмерные матриксы, модифицированные биологически активными молекулами [17].

В связи с этим целью настоящего исследования явилась оценка реакции тканей на тканеинженерные матриксы на основе комбинации полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона, модифицированные VEGF, bFGF и SDF-1 α , на модели околосердечной имплантации.

Материалы и методы

Электроспиннинг и модификация нетканых матриксов

Методом электроспиннинга из смеси 5 % раствора полигидроксibuтирата/валерата (ПГБВ, Sigma, США) и 10 % раствора поликапролактона (ПКЛ, Sigma, США) в хлороформе были изготовлены пустые ПГБВ/ПКЛ-матриксы при напряжении на конце иглы – 20 кВ, скорости потока раствора – 0,5 мл/ч, размер иглы – 22 G, расстояние между иглой и коллектором – 15 см. В качестве коллектора использовали металлический штифт диаметром 8 мм.

ПГБВ/ПКЛ-матриксы с инкорпорированными биологически активными молекулами были изготовлены методом двухфазного электроспиннинга. Для этого VEGF (Invitrogen, США), bFGF (Invitrogen, США) или SDF-1 α (R&D Systems, США) в фосфатно-солевом буфере (10 мкг/мл) вводили в полимерный раствор ПГБВ/ПКЛ в хлороформе. Соотношение раствора полимера к раствору биомолекул составило 20:1. Далее проводили электроспиннинг при напряжении 23 кВ с использованием иглы размером 27 G и при остальных параметрах, как для немодифицированных ПГБВ/ПКЛ-матриксов, с изготовлением трех видов образцов: ПГБВ/ПКЛ+VEGF, ПГБВ/ПКЛ+bFGF и ПГБВ/ПКЛ+SDF-1 α .

Околосердечная имплантация матриксов

Из изготовленных матриксов вырезали плоские образцы размером 10×10 мм и имплантировали крысам-самцам линии Wistar в возрасте 5 месяцев (m=250–300 г) под общим наркозом изофлюраном – 1,5 %, с предварительным введением в наркоз 3 % изофлюрана. Животных разделили на группы в соответствии с видом имплантированного матрикса: ПГБВ/ПКЛ (n=20), ПГБВ/ПКЛ+VEGF (n=20), ПГБВ/ПКЛ+bFGF (n=20),

ПГБВ/ПКЛ+SDF-1 α (n=20). Доступ к сердцу осуществляли с помощью левосторонней торакотомии с расширением пространства между двумя ребрами и вскрытием перикарда. Матриксы фиксировали на передней поверхности сердца, на эпикард за один центральный узел, позволяющий матриксу занять место между основанием и верхушкой сердца.

Животных содержали в полипропиленовых клетках (по пять особей в каждой) при свободном доступе к пище и воде на рационе питания. Эксперимент проводили, соблюдая принципы гуманного обращения с животными, регламентированные требованиями Европейской конвенции (Страсбург, 1986). Через 2 недели, 1, 2 и 3 месяца животных выводили из эксперимента, матриксы выделяли вместе с прилежащими тканями и помещали в 10% забуференный формалин (Electron Microscopy Sciences, США).

Гистологическое исследование

Образцы эксплантированных матриксов после 24-часовой фиксации в 10 % забуференном формалине обезжировали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Срезы изготавливали на ротационном микротоме ACCUCUT SRM 200 (SAKURA, Япония) с дальнейшим окрашиванием полученных образцов гематоксилин-эозином и по Ван Гизону.

Гистологическую картину полученных образцов оценивали на микроскопе Axio Imager A1 (Zeiss, Германия) при увеличении $\times 100$ и $\times 200$. Документирование и обработку изображений производили с помощью цифровой видеокамеры AxioCam (Zeiss, Германия) и программы Axiovision (Zeiss, Германия). Подсчет количества сосудов и оценку заселения матрикса клетками проводили в 5 полях зрения на следующих участках: в матриксе, соединительнотканной капсуле и прилежащих тканях. Последующий пересчет проведен на 1 мм². В качестве контроля использовали немодифицированные ПГБВ/ПКЛ-образцы.

Статистика

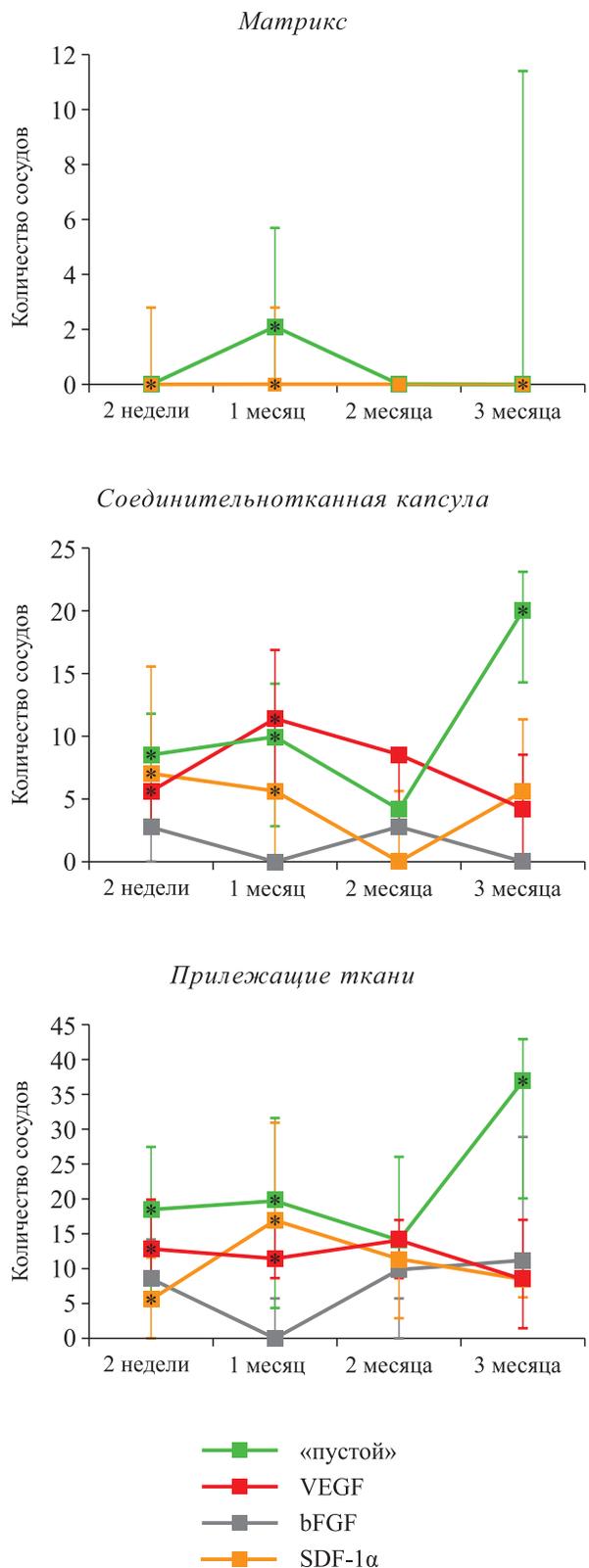
Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 10.0. Нормальность распределения оценивали при помощи критерия Колмогорова – Смирнова. Достоверность различий определяли непараметрическим критерием Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми при p<0,01. Данные представлены в виде медианы и 25-го и 75-го перцентилей (Me (25 %; 75 %)).

Результаты исследования

ПГБВ/ПКЛ-матрицы. Гистологическое исследование нетканых матриц комбинации ПГБВ/ПКЛ показало, что через 2 недели имплантации количество сосудов в прилежащих тканях достигало 8,55 (0; 140,25) на мм², а в капсуле – 2,8 (0; 5,7) на мм² (рис. 1). Через 1 месяц имплантации в матриксе, соединительнотканной капсуле и прилежащих тканях кровеносных сосудов зарегистрировано не было. К концу 2-го месяца имплантации в капсуле количество сосудов достигало 2,8 (0; 8,55) на мм². Через 3 месяца от начала эксперимента сосуды располагались только в прилежащих тканях, их количество составило 11,4 (5,7; 29) на мм². На всех этапах эксперимента наблюдали слабое заселение матриц клетками, которые были представлены преимущественно макрофагами и фибробластами. Через 3 месяца эксперимента вокруг ПГБВ/ПКЛ-матриц формировалась тонкая соединительнотканная капсула, характерная для биосовместимых материалов.

ПГБВ/ПКЛ+VEGF-матрицы. Анализ образцов ПГБВ/ПКЛ+VEGF показал, что через 2 недели имплантации данная группа по количеству новообразованных кровеносных сосудов в пористом материале значимо не отличалась от группы «пустых» матриц (рис. 1). Через 1 месяц имплантации в матриксах наблюдали достоверное увеличение числа сосудов относительно группы сравнения. Спустя 2 и 3 месяца имплантации количество сосудов в ПГБВ/ПКЛ+VEGF-матриксах не отличалось от данного показателя в немодифицированных образцах. В соединительнотканной капсуле вокруг ПГБВ/ПКЛ+VEGF количество сосудов было достоверно больше относительно группы «пустых» матриц через 1 и 3 месяца имплантации, а в прилежащих тканях: в 2 раза больше – через 2 недели, в 1,4 раза – спустя 2 месяца и в 3,2 раза через 3 месяца имплантации ($p < 0,01$). Матрицы этой группы характеризовались умеренной и равномерной инфильтрацией фибробластами и макрофагами толщи матрикса на всем протяжении эксперимента (рис. 2.9–2.16).

ПГБВ/ПКЛ+bFGF-матрицы. В группе матриц с bFGF кровеносных сосудов внутри пористого материала зарегистрировано не было (рис. 1). В соединительнотканной капсуле через 2 недели имплантации количество сосудов составило 7,125 (2,8; 15,625) на мм², что в 2,5 раза превысило число сосудов в группе сравнения в рассматриваемый период ($p < 0,01$). Однако спустя 3 месяца имплантации число сосудов на матриксах снижалось.



* $p < 0,01$ относительно ПГБВ/ПКЛ-матриц.

Рис. 1. Количество кровеносных сосудов на ПГБВ/ПКЛ-матриксах и ПГБВ/ПКЛ-матриксах с инкорпорированными VEGF, bFGF и SDF-1α в пересчете на 1 мм²

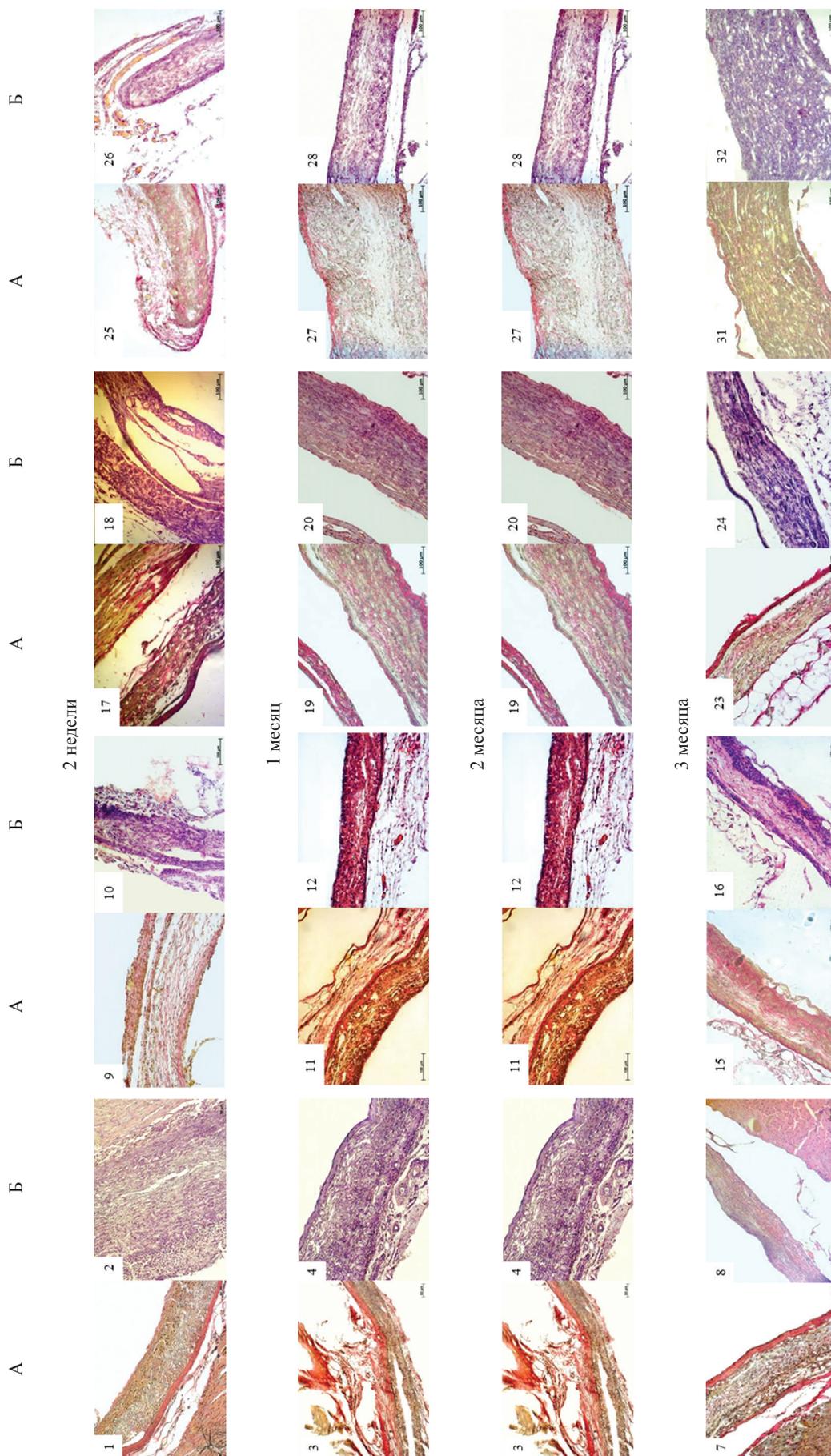


Рис. 2. Нетканые матрицы ПГВ/ПКЛ, имплантированные на поверхность сердца крыс на 2 недели, 1, 2 и 3 месяца:
 А – окрасивание по Ван-Гизону; Б – окрасивание гематоксилин-эозином;
 1-8 – «пустые» ПГВ/ПКЛ; 9-16 – ПГВ/ПКЛ+VEGF; 17-24 – ПГВ/ПКЛ+bFGF; 25-32 – ПГВ/ПКЛ+SDF-1a (ув. ×200)

Через 2 недели имплантации в прилежащих к ПГБВ/ПКЛ+bFGF-матриксам тканях количество сосудов было в 1,5 раза меньше, чем в группе контроля ($p < 0,01$). Толща матриксов характеризовалась интенсивной инфильтрацией фибробластами, вокруг которых располагался внеклеточный матрикс (рис. 2.17–2.24). Количество клеток, заселявших матриксы, значительно увеличивалось к 3-му месяцу. Соединительнотканная капсула вокруг образцов данной группы отличалась большей толщиной по сравнению с контролем и матриксами с VEGF и SDF-1 α .

ПГБВ/ПКЛ+SDF-1 α -матриксы. Внутри матриксов с инкорпорированным SDF-1 α не было обнаружено новообразованных кровеносных сосудов на протяжении всего эксперимента (рис. 1). Количество сосудов в соединительнотканной капсуле вокруг образцов через 1 месяц имплантации было достоверно выше относительно группы сравнения ($p < 0,01$). В последующие сроки имплантации достоверных различий по числу кровеносных сосудов в капсуле матриксов с SDF-1 α и немодифицированных образцов не наблюдали. В прилежащих к ПГБВ/ПКЛ+SDF-1 α -матриксам тканях количество сосудов через 2 недели и 1 месяц имплантации превышало таковое для «пустых» матриксов, а через 3 месяца было 1,3 раза меньше по отношению к контролю ($p < 0,01$). Интенсивная инфильтрация фибробластами и макрофагами толщи ПГБВ/ПКЛ+SDF-1 α -матриксов наблюдалась на протяжении всего эксперимента (рис. 2.25–2.32). Кроме того, нетканые матриксы данной группы были окружены тонкой соединительнотканной капсулой.

Морфологическое исследование тканей сердца основывалось на оценке гистологической картины препаратов, которая не показала очевидной разницы в строении миокарда между группой сравнения и группами матриксов с инкорпорированными биологически активными молекулами. Во всех исследованных образцах не было обнаружено морфологических признаков повреждения миокарда и признаков воспалительной инфильтрации окружающих тканей.

Обсуждение

Искусственный матрикс представляет собой основу тканеинженерного органа. Требования, предъявляемые к его свойствам, зависят главным образом от строения и функций будущего органа. Так, для создания тканеинженерных сосудов матрикс должен иметь форму трубки с высокопористыми стенками, быть биосовместимым и тромборезистентным, обладать механическими

свойствами, характерными для кровеносных сосудов [18]. Кроме того, для эффективной регенерации тканей сосуда тканеинженерный матрикс должен создавать биологически активное микроокружение, стимулирующее привлечение клеток и поддержание их жизнедеятельности. Одним из способов придания биологической активности искусственному матриксу является его модификация ростовыми факторами и хемоаттрактантными молекулами.

Введение биологически активных молекул в биодеградируемый полимер методом электроспиннинга позволяет создавать трехмерные матриксы, состоящие из микро- и нановолокон с инкорпорированными ростовыми факторами. Высвобождение биомолекул из матриксов данного вида происходит в процессе пассивной диффузии из пор, пронизывающих волокно, а также в результате биодеградации полимера. Таким образом, матрикс является не только механической опорой для клеток, но также и средством доставки биомолекул в зону регенерации. Применение подобных матриксов достаточно перспективно в разработке тканеинженерного сосудистого графта для проведения операций аортокоронарного шунтирования. В связи с этим для изучения особенностей реакции тканей ПГБВ/ПКЛ-матриксы, модифицированные VEGF, bFGF, SDF-1 α , имплантировали на переднюю поверхность сердца крыс. Выбор данного способа имплантации позволяет оценить как влияние имплантируемого материала на ткани сердца, так и процессы регенерации на пористом матриксе в месте потенциального использования сосудистых графтов.

Результаты проведенного эксперимента продемонстрировали биосовместимость с тканями сердца всех ПГБВ/ПКЛ-матриксов, в независимости от модификации.

Инкорпорирование VEGF в полимерный материал способствовало усилению клеточной миграции в поры матрикса относительно немодифицированных ПГБВ/ПКЛ-матриксов. Так, группа ПГБВ/ПКЛ+VEGF через 2 недели после имплантации характеризовалась умеренной клеточной инфильтрацией в толще матрикса начиная с краев полимерного образца. К 3-му месяцу исследования клетки проникали во внутренние слои и располагались по всей толщине матрикса. Известно, что VEGF способен выполнять роль хемоаттрактанта для моноцитов/макрофагов, экспрессирующих рецептор VEGFR1 [19]. В свою очередь, макрофаги являются основными клетками, определяющими биосовместимость имплантируемых материалов. При активации макрофаги

синтезируют IL-1, который является важным медиатором воспалительного процесса и стимулирует рост и активность фибробластов [20].

Являясь важнейшим регулятором ангиогенеза, VEGF в составе ПГБВ/ПКЛ-матрикса также стимулировал образование кровеносных сосудов в имплантированном полимерном материале и прилежащих тканях. Практически на всех сроках околосердечной имплантации ПГБВ/ПКЛ+VEGF-матрикса количество сосудов в материале, соединительнотканной капсуле и окружающих тканях было больше числа кровеносных сосудов в тех же участках немодифицированных матриксов в соответствующие периоды имплантации. Наибольшее количество сосудов в соединительнотканной капсуле и прилежащих тканях, вероятно, связано с естественной реакцией организма в ответ на имплантацию на ранних сроках и стимулированием неоангиогенеза за счет высвобождения VEGF из полимера на поздних сроках имплантации.

Значительное заселение пористого материала из ПГБВ/ПКЛ+bFGF клетками, окруженными обширным внеклеточным матриксом, количество которых увеличивалось к 3-му месяцу эксперимента, связано со способностью bFGF стимулировать пролиферацию фибробластов, что играет важную роль в процессах регенерации и репарации тканей. Также высвобождение bFGF из ПГБВ/ПКЛ-матрикса с последующей активацией фибробластов привело к формированию более толстой соединительнотканной капсулы вокруг полимерного материала по сравнению с остальными видами имплантированных матриксов. Достоверное увеличение количества кровеносных сосудов в тканях, окружающих матрикс с bFGF на 1-м месяце имплантации, вероятно, связано с участием данного ростового фактора в ангиогенезе только на этапе стабилизации новообразованных сосудов [21].

В свою очередь, введение в ПГБВ/ПКЛ-матрикс хемоаттрактантной молекулы SDF-1 α способствовало активному привлечению клеток, которые проникали в поры материала, постепенно заселяя его и синтезируя естественный внеклеточный матрикс. Через 3 месяца имплантации матриксы были полностью заселены клетками и окружены тонкой соединительнотканной капсулой. Одной из главных функций SDF-1 α является регуляция миграции клеток, имеющих рецептор к данному хемокину CXCR4. CXCR4 экспрессирует клетки крови (лимфоциты, моноциты и др.), гемопоэтические стволовые клетки и мезенхимальные стромальные клетки костного мозга. Мобилизация и миграция стволовых и прогениторных клеток в зону повреждения тканей происходит под дей-

ствием SDF-1 α , способствуя процессу регенерации [22]. Кроме того, SDF-1 α способен стимулировать ангиогенез, взаимодействуя с CXCR4 на поверхности эндотелиальных и гладкомышечных клеток, и тем самым обеспечивать выживание клеток и образование трубчатых структур [23]. Вероятно, это и объясняет образование наиболее крупных кровеносных сосудов на ПГБВ/ПКЛ+SDF-1 α -матриксах к окончанию трехмесячной околосердечной имплантации.

Таким образом, высвобождаемые из биodeградируемых ПГБВ/ПКЛ-матрикса VEGF, bFGF и SDF-1 α сохраняли свои функции и способствовали созданию биологически активной среды в области имплантации материала.

Заключение

Проведенное исследование показало высокую биосовместимость матриксов на основе ПГБВ/ПКЛ, изготовленных методом элетроспиннинга. Введение молекул VEGF в ПГБВ/ПКЛ-матриксы приводит к активному ангиогенезу в зоне имплантации последних. В свою очередь, инкорпорирование bFGF и SDF-1 α стимулирует заселение нетканых матриксов клетками и восстановление окружающих тканей. Комбинация VEGF, bFGF и SDF-1 α может быть использована в разработке функционально активного биodeградируемого сосудистого графта, способствующего формированию *in situ* ткани *de novo* после имплантации.

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 / REFERENCE

1. Бокерия Л. А., Гудкова Р. Г. Сердечно-сосудистая хирургия – 2014. Болезни и аномалии системы кровообращения. М.; 2015.
Bokeriya L. A., Gudkova R. G. Serdechno-sosudistaya khirurgiya – 2014. Bolezni i anomalii sistemy krovoobrashcheniya. Moscow; 2015. [In Russ].
2. Allender S., Scarborough P., O'Flaherty M., Capewell S. Patterns of coronary heart disease mortality over the 20th century in England and Wales: possible plateaus in the rate of decline. BMC Public Health. 2008; 8: 148–160. DOI: 10.1186/1471-2458-8-148.
3. Бокерия Л. А. Повторные операции у больных ишемической болезнью сердца – современное состояние проблемы. Бюллетень НЦССХ им. Бакулева РАМН. 2009; 10 (3): 5–27.
Bokeria L. A. Reoperations in patients with coronary heart disease state of the art (meta-analysis). Bulletin NTSSSH them. Bakuleva RAMS. 2009; 10 (3): 5–27. [In Russ].
4. Матвеев А. Т., Афанасов И. М. Получение нанолокон методом электроформования. М.; 2010.

- Matveev A. T., Afanasov I. M. Poluchenie nanovolokon metodom jelektroformovaniya. Moscow; 2010. [In Russ].
5. Teo W., Inai R., Ramakrishna S. Technological advances in electrospinning of nanofibers. Science and technology of advanced materials. 2011; 12: 1–19.
6. Greenwald S. E., Berry C. L. Improving vascular grafts: the importance of mechanical and haemodynamic properties. J. Pathol. 2000; 190: 292–299.
7. 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 (14): 1413–1433.
8. Антонова Л. В., Матвеева В. Г., Барбараш Л. С. Использование метода электроспиннинга в создании биодegradуемых сосудистых графтов малого диаметра: проблемы и решения (обзор). Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; 3: 12–22. DOI: 10.17802/2306-1278-2015-3-12-22.
- Antonova L. V., Matveeva V. G., Barbarash L. S. Electrospinning and biodegradable small-diameter vascular grafts: problems and solutions (review). Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2015; 3: 12–22. DOI: 10.17802/2306-1278-2015-3-12-22. [In Russ].
9. Briggs T., Arinze T. L. Growth factor delivery from electrospun materials. J. Biomater. Tissue Eng. 2011; 1 (2): 129–138. DOI: 10.1002/jbm.a.34730.
10. Повецхенко О. В., Повецхенко А. Ф., Коненков В. И. Эндотелиальные прогениторные клетки и неоваскулогенез. Успехи современной биологии. 2012; 132 (1): 69–76.
- Poveshhenko O. V., Poveshhenko A. F., Konenkov V. I. Endotelialnye progenitornye kletki i neovaskulogenez. Biology Bulletin Reviews. 2012; 132 (1): 69–76. [In Russ].
11. Vlodayevsky C. R., Brakenhielm E., Pawliuk R., Wariaro D., Post M. J., Wahlberg E. et al. Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hind-limb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2. Nature Med. 2003; 9 (5): 604–613. DOI: 10.1038/nm848.
12. Сологуб Т. В., Романцов М. Г., Кремьен Н. В., Александрова Л. М., Аникина О. В., Суханов Д. С. Свободно-радикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты). М.; 2008.
- Sologub T. V., Romancov M. G., Kremen'N. V., Aleksandrova L. M., Anikina O. V., Suhanov D. S. Svobodnoradikal'nye processy i vospalenie (patogeneticheskie, klinicheskie i terapevticheskie aspekty). Moscow; 2008. [In Russ].
13. Kano M. R., Morishita Y., Iwata C., Iwasaka S., Watabe T., Ouchi Y. et al. VEGF-A and FGF-2 synergistically promote neoangiogenesis through enhancement of endogenous PDGF-B–PDGFR signaling. Journal of Cell Science. 2005; 118: 3759–3768.
14. Zheng H., Fu G., Dai T., Huang H. Migration of endothelial progenitor cells mediated by stromal cell-derived factor-1alpha/CXCR4 via PI3K/Akt/eNOS signal transduction pathway. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 2007; 50(3): 274–280. DOI: 10.1097/FJC.0b013e318093ec8f.
15. Neuhaus T., Stier S., Totzke G., Gruenewald E., Fronhoffs S., Sachinidis A. et al. Stromal cell-derived factor 1alpha (SDF-1alpha) induces gene-expression of early growth response-1 (Egr-1) and VEGF in human arterial endothelial cells and enhances VEGF induced cell proliferation. Cell. Prolif. 2003; 36 (2): 75–86.
16. Ho T. K., Shiwen X., Abraham D., Tsui J., Baker D. Stromal-cell-derived factor-1 (SDF-1)/CXCL12 as potential target of therapeutic angiogenesis in critical leg ischaemia. Cardiology Research and Practice. 2012; 2012: 143209. DOI: 10.1155/2012/143209.
17. Севостьянова В. В., Антонова Л. В., Барбараш Л. С. Подходы к модификации искусственных матриц биологически активными молекулами для применения в тканевой инженерии кровеносных сосудов. Фундаментальные исследования. 2014; 11: 1960–1970.
- Sevostyanova V. V., Antonova L. V., Barbarash L. S. Approaches to the modification of scaffolds with bioactive molecules for blood vessels tissue engineering. Fundamental research. 2014; 11: 1960–1970. [In Russ].
18. Hasan A., Memic A., Annabi N., Hossain M., Paul A., Dokmeci M. R. et al. Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. Acta Biomater. 2014, 10 (1): 11–25. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.08.022.
19. Cursiefen C., Chen L., Borges L. P., Jackson D., Cao J., Radziejewski C. et al. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. J. Clin. Invest. 2004; 113 (7): 1040–1050.
20. Севастьянов В. И., Кирпичникова М. П. Биосовместимые материалы. М.; 2011.
- Sevastyanov V. I., Kirpichnikova M. P. Biosovmestimye materialy. Moscow; 2011.
21. Yun Y. R., Won J. E., Jeon E., Lee S., Kang W., Jo H. et al. Fibroblast growth factors: biology, function and application for tissue regeneration. J. Tissue Eng. 2010; 2010–218142. DOI: 10.4061/2010/218142.
22. Schantz J. T., Chim H., Whiteman M. Cell Guidance in Tissue Engineering: SDF-1 Mediates Site-Directed Homing of Mesenchymal Stem Cells within Three-Dimensional Polycaprolactone Scaffolds. Tissue eng. 2007; 13 (11): 2615–2624.
23. Cencioni C., Capogrossi M. C., Napolitano M. The SDF-1/CXCR4 axis in stem cell preconditioning. Cardiovascular Research. 2012; 94 (3): 400–407. DOI: 10.1093/cvr/cvs132.

Статья поступила 25.02.2016

Для корреспонденции:
Кривкина Евгения Олеговна
Адрес: 650002, г. Кемерово,
Сосновый бульвар, д. 6
Тел: 8 (3842) 64-38-02
E-mail: kriveo@kemcardio.ru

For correspondence:
Krivkina Evgeniya
Address: 6, Sosnoviy blvd., Kemerovo,
650002, Russian Federation
Tel. +7 (3842) 64-38-02
E-mail: kriveo@kemcardio.ru