

УДК 616.13-77:577.11

DOI 10.17802/2306-1278-2019-8-2-87-97

БИОДЕГРАДИРУЕМЫЙ СОСУДИСТЫЙ ПРОТЕЗ С АРМИРУЮЩИМ ВНЕШНИМ КАРКАСОМ

Л.В. Антонова ✉, Е.О. Кривкина, М.А. Резвова, В.В. Севостьянова, А.В. Миронов,
Т.В. Глушкова, К.Ю. Клышников, Е.А. Овчаренко, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», ул. Сосновый бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

• В статье представлены результаты разработки и тестирования биodeградируемых сосудистых протезов с внешним армирующим каркасом.

Актуальность	Основные способы укрепления стенки тканеинженерного сосудистого графта представляют собой использование армирующих конструкций, изготовленных из биостабильных или биodeградируемых полимеров. Однако совмещение метода электроспиннинга с целью изготовления биodeградируемого трубчатого каркаса и метода послойного наплавления армирующей нити для создания внешнего армирующего каркаса требует оценки сохранения единства конструкции в ходе долгосрочной имплантации, а также реакции окружающих тканей на армирующее покрытие.
Цель	Разработать технологию изготовления биodeградируемого сосудистого протеза малого диаметра с внешним армирующим покрытием и оценить состоятельность разработанной конструкции в эксперименте.
Материалы и методы	Методом двухфазного электроспиннинга из полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона (PHBV/PCL) изготовлены трубчатые каркасы диаметром 4,0 мм с послойным введением в структуру графта дифференцировочных факторов (GF mix): VEGF – во внутреннюю 1/3 стенки, bFGF и SDF-1a – во внешние 2/3 стенки. Внешний спиралевидный каркас из PCL изготавливали методом послойного наплавления. Изучены физико-механические свойства и структура поверхности разработанных конструкций. Сосудистые графты с армирующим внешним каркасом имплантированы в сонную артерию пяти овец сроком на 12 месяцев с последующим изучением эксплантированных образцов с помощью сканирующей электронной микроскопии и гистологических методов исследования.
Результаты	Выбор температурного режима спекания 160 °C в процессе экструзии позволил интимно и без повреждения зон, свободных от армирующего покрытия, соединить нить PCL с наружной поверхностью трубчатого каркаса PHBV/PCL/GFmix. Получали PCL нить толщиной 380–400 мкм, шаг спирали армирующего каркаса составил 1 мм. Наличие армирующего каркаса в 3 раза повысило прочность на разрыв и модуль Юнга графтов в поперечном направлении. Спустя 12 месяцев имплантации целостность конструкции сохранялась, существенной резорбции внешнего армирующего каркаса не выявлено, в тканях, окружавших нити каркаса, отсутствовало воспаление и кальцификация.
Заключение	В ходе долгосрочной имплантации сохранено единство биodeградируемого сосудистого протеза PHBV/PCL/GF mix с внешним армирующим спиралевидным каркасом из PCL. Результаты гистологического исследования свидетельствуют о высокой биосовместимости разработанной конструкции.
Ключевые слова	Биodeградируемые полимеры • Сосудистые графты • Электроспиннинг • Экструзия • Армирующий каркас

Поступила в редакцию: 04.04.19; поступила после доработки: 10.05.19; принята к печати: 28.05.19

Для корреспонденции: Антонова Лариса Валерьевна, e-mail: antonova.la@mail.ru; адрес: 650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

Corresponding author: Antonova Larisa V., e-mail: antonova.la@mail.ru; address: Russian Federation, 650002, Kemerovo, 6, Sosnoviy Blvd.

BIODEGRADABLE VASCULAR GRAFT REINFORCED WITH A BIODEGRADABLE SHEATH

L.V. Antonova , E.O. Krivkina, M.A. Rezvova, V.V. Sevostyanova, A.V. Mironov, T.V. Glushkova, K.Yu. Klyshnikov, E.A. Ovcharenko, Yu.A. Kudryavceva, L.S. Barbarash

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

Highlights

- The article reports the results of the development and testing of biodegradable vascular grafts with a reinforced sheath.

Background	Tissue-engineered vascular grafts can be reinforced by a biostable or biodegradable polymer sheath. A combination of electrospinning, routinely used for fabrication of biodegradable tubular grafts, and the layer-by-layer coating allows forming a polymeric sheath ensuring long-term integrity and high biocompatibility of the vascular grafts after the implantation.
Aim	To evaluate mechanical properties and in vivo performance of biodegradable small-diameter vascular grafts with a reinforcing sheath.
Methods	Tubular grafts (4 mm diameter) were fabricated from poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly(ϵ -caprolactone) by emulsion electrospinning with the incorporation of vascular endothelial growth factor (VEGF) into the inner third of the graft and basic fibroblast growth factor (bFGF) along with stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α) into the outer two thirds of the graft wall. Poly(ϵ -caprolactone) sheath was formed by the layer-by-layer coating. Upon graft fabrication, scanning electron microscopy was performed to assess the grafts' surface, tensile testing allowed evaluating mechanical properties. The samples were implanted into the ovine carotid artery (n = 5 animals) for 12 months with the subsequent histological examination.
Results	Sintering temperature of 160°C during the extrusion allowed effective and delicate merging of poly(ϵ -caprolactone) coating with the outer surface of the poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly(ϵ -caprolactone) tubular graft. The thickness of poly(ϵ -caprolactone) fiber was 380–400 μ m, the increment of the reinforcing filament was 1 mm. The reinforcing sheath led to a 3-fold increase in durability and elastic modulus of the vascular grafts. At the 12-months follow-up, the grafts reported retained integrity. No signs of inflammation or calcification were found.
Conclusion	The poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly(ϵ -caprolactone) vascular grafts with hierarchically incorporated growth factors and the reinforced poly(ϵ -caprolactone) spiral sheath demonstrated improved mechanical properties while retaining integrity and high biocompatibility after the long-term implantation into the ovine carotid artery.
Keywords	Biodegradable polymers • Vascular grafts • Electrospinning • Extrusion • Reinforcing sheath

Received: 04.04.19; received in revised form: 10.05.19; accepted: 28.05.19

Список сокращений

bFGF – основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor)	PHBV – полигидроксibuтират/валерат
DAPI – флуоресцентный краситель (4', 6-диамидин-2-фенилиндол)	SDF-1 α – хемоаттрактантная молекула (stromal cell-derived factor-1 alpha)
GFmix – микс ростовых факторов (VEGF, bFGF и SDF-1 α)	VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor)
PCL – поликапролактон	СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

Введение

Тканевая инженерия представляет собой новую область современной медицины, объединяющую подходы биоинженерии и клеточной биологии с целью создания живых тканей для лечения патоло-

гических состояний, связанных со значительным повреждением или утратой тканей и органов [1].

Ведутся активные разработки по созданию функционально активных тканеинженерных сосудистых протезов малого диаметра, созданных из биосовместимых

биodeградируемых полимеров [2, 3]. При этом дополнительное инкорпорирование в состав полимерных сосудистых матриксов (графтов) биологически активных веществ (ростовых факторов и хемоаттрактантов) стимулирует привлечение и дифференцировку эндогенных прогениторных клеток *in situ* [4, 5]. Такая тканеинженерная конструкция может быть изготовлена в короткие сроки и индивидуально под каждого пациента на основании данных современных диагностических методов исследования сосудистого русла (МРТ, ангиография), позволяющих с высокой точностью определять диаметр требуемого сосудистого имплантата и его длину [6]. Перспективность предлагаемых методов и подходов подтверждена современными разработками в данном направлении в России и мире [7, 8]. Среди них наиболее привлекательным является метод электроспиннинга, который позволяет изготавливать полимерные структуры, состоящие из нано- и микроволокон [9, 10]. С помощью данного метода можно контролировать морфологию волокон и их диаметр – от десятков нанометров до нескольких микрометров. Материалы, состоящие из волокон наноразмерной толщины, полученные электроспиннингом, обладают высоким соотношением площади поверхности к объему, а также имеют в своей структуре взаимосвязанные поры, что создает благоприятные условия для миграции и пролиферации клеток. Также метод электроспиннинга может быть легко адаптирован для получения трубчатых матриксов [11, 12]. Нано- и микроструктура матриксов, изготовленных методом электроспиннинга, имитирует ориентацию и расположение различных фибриллярных белков соединительной ткани, благодаря чему они могут быть использованы для создания тканеинженерных сосудистых графтов [13, 14]. Сосудистые графты, полученные методом электроспиннинга, демонстрируют возможность ремоделирования как клеточной составляющей, так и внеклеточного матрикса в экспериментах с имплантацией *in situ* [13, 15].

Однако, несмотря на множество экспериментальных работ с использованием различных комбинаций материалов, параметров процесса изготовления и способов последующей обработки изделия, механические свойства искусственных матриксов пока еще не в полной мере способны обеспечивать целостность тканеинженерной конструкции под давлением в кровеносном русле [16]. В результате чего увеличивается вероятность образования аневризм и разрыва сосудистой стенки. Таким образом, поддержание структурной и функциональной целостности графта как сразу же после имплантации, так и в процессе ремоделирования, является важной задачей создания сосудистых графтов малого диаметра. Кроме того, при разработке и испытании новых сосудистых имплантатов, следует учитывать, что имплантация сосудистых протезов в зоны, предусматривающие перегиб протезов в процессе функционирования, или имплантация протеза про-

тяженностью более 15 см (врожденные пороки сердца у детей, патология тибциальных артерий) требуют укрепления каркаса конструкции для сохранения просвета сосудистого графта в условиях перегиба.

Основные способы укрепления стенки тканеинженерного сосудистого графта представляют собой использование армирующих конструкций, изготовленных из биостабильных или биodeградируемых полимеров [17]. Как возможный способ создания прочной и эластичной стенки сосудистого графта был продемонстрирован подход с применением недеградируемой армирующей основы, которая представляет собой трубчатый каркас, связанный из полиэфиров нитей [18, 19]. Сосудистые графты, изготовленные по данной технологии, обладали прочностью в 5–10 раз превышающей таковой показатель протезов из чистого полиуретана.

При создании графтов для регенерации кровеносного сосуда *in situ* с замещением полимерной конструкции новой тканью логичным является применение биodeградируемых полимеров для изготовления армирующего слоя.

При этом стоит учитывать, что особенность структуры армирующего каркаса, его крепление (спекание или соединение) с поверхностью PHBV/PCL- графта, может вызвать особую тканевую реакцию, отличную от реакции на биodeградацию основного каркаса графта.

Цель исследования – разработать технологию изготовления биodeградируемого сосудистого протеза малого диаметра с внешним армирующим покрытием и оценить состоятельность разработанной конструкции в эксперименте.

Материалы и методы

Изготовление полимерных графтов с армирующим каркасом

Для решения данной проблемы, были объединены приемы создания биофункционализированных сосудистых графтов и метода послойного наплавления полимерной нити для формирования внешнего армирующего каркаса. При создании биоактивного трубчатого каркаса сосудистого протеза был использован метод двухфазного электроспиннинга. С помощью данного метода были изготовлены образцы сосудистых графтов диаметром 4 мм на основе композиции полигидроксипропирата/валерата и поликапролактона (PHBV/PCL) (Sigma Aldrich, США) в соотношении 1:2 с инкорпорированными биологически активными молекулами (GFmix): сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF; Sigma Aldrich, США) инкорпорирован во внутреннюю треть стенки протеза, основной фактор роста фибробластов (basic fibroblast growth factor, bFGF; Sigma Aldrich, США) и хемоаттрактантная молекула SDF-1 α (stromal cell-derived factor-1 alpha, SDF-1 α ; Sigma Aldrich, США) – во внешние 2/3 стенки протеза. Конечная концентрация каждого вида биомолекул составила 500 нг/мл полимерного раствора.

Для формирования армирующей спирали на внешней поверхности трубчатого каркаса PNBV/PCL/GFmix диаметром 4 мм использовали метод послойного наплавления (fused deposition modeling, FDM), который позволяет изготавливать модели из нагретого термопластичного материала путем его экструзии. Внешний спиралевидный каркас из поликапролактона (PCL) молекулярной массой (Mn) 90000 Да (Sigma Aldrich, США) изготавливали на оригинальной установке, состоящей из каретки с экструдером и вращающегося вала (Рис. 1) в следующем режиме: скорость вращения вала – 1 об/сек, скорость движения каретки – 1 мм/сек, скорость подачи пластика – 0,5 мм/сек (сопло экструдера – 0,5 мм), температура подачи волокна – 160 °С.

С помощью стерео-микроскопа SZ2-IL-ST (Olimpus, Япония) с окуляр-микрометром определена толщина армирующей PCL-нити, шаг спирали и степень ее впадения в стенку трубчатого каркаса PNBV/PCL/GFmix.

Физико-механические испытания

С целью оценки вклада армирующего слоя в механические свойства полимерных графтов каждый образец был разделен на 2 сегмента, на одном из которых формировали армирующий каркас из PCL нити ($n = 5$ в каждой группе). Оценка механических свойств осуществляли в продольном и поперечном направлениях в соответствии с ГОСТ ИСО 7198-2013. Испытания проведены на универсальной испытательной машине серии Z (Zwick/Roell GmbH, Германия), с использованием датчика с номинальной силой 50 Н, скорость перемещения траверсы при испытании составила 50 мм/мин. Для фиксации образцов в приборе использовали спецприспособления, позволяющие фиксировать трубчатые образцы вместе с армирующим каркасом в виде спирали без повреждения в зажимах.

Предел прочности графтов оценивали, как абсолютное значение максимальной силы, приложенной к образцу до начала разрушения (F_{max} , Н). Напряжение не учитывали в силу невозможности определения

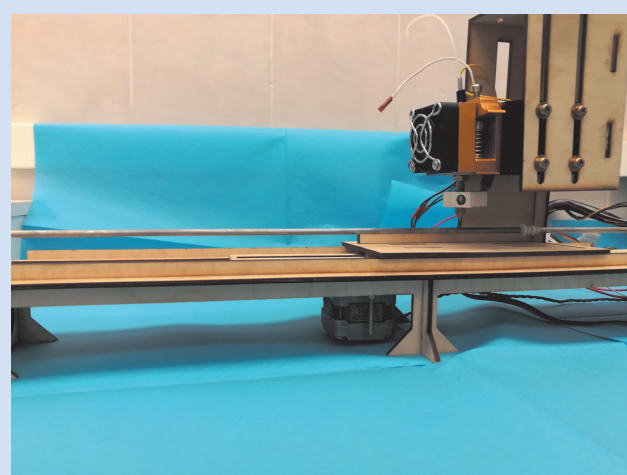


Рисунок 1. Оригинальная установка, содержащая экструдер и вращающийся вал

Figure 1. Original installation containing an extruder and a rotating shaft

точной площади поперечного сечения образца из-за формы каркаса в виде спирали. Упруго-деформативные свойства материала оценивали по относительному удлинению до начала разрушения образца (%) и модулю Юнга (МПа), который определяли в диапазонах физиологического давления (80–120 мм рт.ст.).

Имплантация сосудистых графтов в сонную артерию овец

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом учреждения. При обращении с животными соблюдались требования приказов №1179 МЗ СССР от 10.10.1983, №267 МЗ РФ от 19.06.2003, «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», принципы Европейской конвенции (Страсбург, 1986), Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996) и международные правила (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals – публикация US National Institutes of Health: NIH Publication No 85–23, ред. 1996).

Для оценки реакции окружающих тканей и поведения обмоточной спирали в условиях долгосрочной имплантации биodeградируемые сосудистые графты диаметром 4 мм длиной 40 мм с внешней обмоткой PCL-нитью были имплантированы в сонную артерию овец ($n = 5$) сроком на 12 месяцев.

За сутки до проведения операции животным не поставлялся корм. В день операции перед транспортировкой из вивария в экспериментальную операционную для индукции анестезии, а также в ходе наркоза внутримышечно вводили 5 мг/кг Zoletil®100. Животное фиксировали на операционном столе в положении «на правом боку», выполняли интубацию трахеи трубкой №8. В течение всего эксперимента проводили искусственную вентиляцию легких аппаратом MinorVet TH-1A (Китай) в режиме вспомогательной вентиляции легких (SIMV), с ингаляцией 100% кислорода. На вводимом наркозе использовали 5 об.%, а для поддержания анестезии – 2–3 об.% изофлурана. В носоглотку устанавливали датчик измерения температуры. Датчик измерения сатурации фиксировали на языке или щеке животного. С целью профилактики инфекционных осложнений внутримышечно вводили 1 мл/10 кг массы Гентама (Гентамицин+ Амоксициллин, ООО «Апи-Сан», Россия). В правую яремную вену устанавливали флексиюлю 20G для инфузионной терапии и введения гепарина. Интраоперационно проводили инфузию кристаллоидов (Рингер-лактат) со скоростью 500 мл/час.

Операцию выполняли под увеличением $\times 2,5$ – $3,5$ с использованием налобной бинокулярной лупы Heine с осветителем (Германия). После обработки и ограничения операционного поля выполняли разрез слева в проекции кивательной мышцы между яремной веной и трахеей, тем самым осуществляя доступ к сонной артерии. Мелкие ветви яремной вены и сонной артерии

лигировали и пересекали. Капиллярное кровотечение останавливали прижатием салфеткой. Сонную артерию тщательно отделяли от интимно прилегающего вагосимпатического ствола острым путем и с помощью гидропрепаровки введением смеси папаверина и 1% раствора лидокаина (с целью устранения спазма) с соблюдением техники “no-touch”, полностью выделяя сегмент артерии длиной 7–8 см. Перед пережатием артерии проводили системную гепаринизацию внутривенным введением 100 ЕД/кг массы гепарина и выполняли пережатие артерии атравматичными зажимами. После пережатия артерии на расстоянии около 6–7 см между зажимами выполняли иссечение участка артерии длиной 4 см под углом 45–60 градусов. При этом участок артерии высекали в виде параллелограмма так, что задняя (по отношению к оператору) стенка проксимальной части сонной артерии была длиннее передней в проксимальном анастомозе, а в дистальном анастомозе – задняя стенка дистальной части сонной артерии была короче передней. Заднюю стенку анастомоза (4–5 стежков) формировали «парашютной» техникой с последующим переходом на узловые швы на передней стенке. По окончании операции салфетки взвешивали для определения объема интраоперационной кровопотери. После запуска кровотока выполняли послыйный шов раны: глубокую фасцию с подкожной клетчаткой ушивали нитью Викрил 3-0. Кожу ушивали степлером.

Оценка целостности графтов в процессе эксперимента выполнялась через 3, 6, 9 и 12 месяцев после имплантации методом УЗИ с использованием портативной переносной системы цветной доплерографии премиум-класса M7 (Mindray, Китай).

Гистологическое исследование эксплантированных образцов графтов

Спустя 12 месяцев сосудистые графты с армирующим покрытием были эксплантированы и подвергнуты гистологическому исследованию с окраской фиксированных образцов гематоксилин-эозином, по Ван-Гизон, орсеином, ализариновым красным и DAPI.

Эксплантированные образцы фиксировали в формалине в течение 24 часов, затем отмывали в проточной воде для удаления излишков фиксатора, проводили обезвоживание образцов по спиртам восходящей концентрации в течение 5 часов, производили удаление спирта из образцов: спирт – ксилол (в течение часа), чистый ксилол (1 час) и смесь ксилол – парафин в течение ночи (16–18 часов), в термостате при температуре 37 °С. Пропитку образцов проводили в трех порциях парафина при 56 °С по 30–40 мин. Пропитанные образцы заливали в парафин HISTOMIX (BioVitrum, Россия). Далее образцы наклеивали на блок. Гистологические срезы толщиной 8 мкм изготавливали путем нарезки охлажденных блоков на микротоме HM 325 (Thermo Scientific, США). Полученные препараты подсушивали в течение ночи в

термостате при 37 °С. После полного высыхания препаратов проводили дальнейшую окраску с предварительной депарафинизацией в о-ксилоле (3 порции) – 1–2 мин и 96° спирте (3 порции) – 1–2 минуты.

Для окраски по гематоксин-эозину депарафинированные срезы отмывали в дистиллированной воде и помещали в раствор гематоксилина Гарисса (BioVitrum, Россия) на 15 мин с последующей отмывкой в воде в течение 3–10 мин. Далее срезы погружали в раствор эозина (BioVitrum, Россия) на 0,5 мин, отмывали в воде в течение 1 мин, дегидратировали в трех спиртах восходящей концентрации в течение 1 мин, просветляли в ксилоле 3 мин, контролируя ход просветления. Срезы заключали в монтирующую среду, накрывая покровным стеклом.

Депарафинизированные срезы, для окраски по Ван-Гизон, отмывали в воде, помещали в раствор гематоксилина Вейгерта (BioVitrum, Россия) на 2 мин, отмывали в воде до почернения среза. Окрашивали пикрофуксином (BioVitrum, Россия) 2–3 мин затем промывали в проточной воде, дегидратировали в спиртах восходящей концентрации до 5 минут, просветляли в ксилоле несколько минут, контролируя ход просветления. Срезы заключали в монтирующую среду, накрывая покровным стеклом.

Для окраски на эластин использовали набор готовых красителей «Орсеин» (BioVitrum, Россия). Депарафинированные срезы помещали в дистиллированную воду, затем на 4 мин наносили 5 капель раствора перманганата калия и 5 капель активирующего кислотного буфера, после чего промывали в дистиллированной воде и на 1 мин наносили 10 капель раствора щавелевой кислоты. После осветления срезы дважды промывали в дистиллированной воде. На дно ёмкости для инкубации наливали 20 капель спиртового реактива для влажной камеры, помещали препараты в ёмкость, предварительно нанеся 10 капель раствор орсеина по Шиката, закрывали и инкубировали 30 мин. Промывали в дистиллированной воде. Далее на срезы наносили 10 капель дифференцирующего раствора на 2 мин и промывали в водопроводной воде 1 мин, дегидратировали, просветляли, заключали в монтирующую среду под покровные стекла.

С целью определения присутствия кальция срезы эксплантированных графтов окрашивали красителями ализариновым красным С (Химсервис, Россия) и ядерным красителем DAPI (Sigma-Aldrich, США). Сначала стекла со срезами погружали в 2% водный раствор ализаринового красного С на 70 сек, затем проводили окраску ядер клеток в течение 3 минут красителем DAPI в концентрации 10 мкг/мл. По истечении времени окрашивания препараты отмывали дистиллированной водой, высушивали и заключали под покровные стекла. Готовые препараты изучали методом световой и флуоресцентной микроскопии на микроскопе AXIO Imager A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличениях x50, x100 и x200.

Сканирующая электронная микроскопия сосудистых протезов (СЭМ)

Структуру поверхности графтов с армирующим каркасом до и после имплантации, а также глубину повреждения стенки графта при сплавлении с армирующим слоем изучали на сканирующем электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума. Предварительно с использованием токопроводящего скотча исследуемые образцы монтировали на специальные столики, после чего на их поверхности методом ионного распыления формировали токопроводящее (золото-палладиевое) покрытие толщиной 15 нм, используя систему для напыления EM ACE200 (Leica Mikrosysteme GmbH, Австрия).

Статистическая обработка данных

Обработку полученных данных осуществляли при помощи пакета прикладной «STATISTICA 6.0» (StatSoft, Inc., США). Характер распределения в выборках оценивали критерием Колмогорова-Смирнова. Данные представлены в виде медианы (М) и 25 и 75 перцентилей. Статистическую значимость различий между группами образцов с армированием и без него оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни, достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

При выбранном режиме экструзии получали PCL нить толщиной 380–400 мкм, шаг спирали армирующего каркаса составил 1 мм. С помощью микроскопа с окуляр-микрометром определено, что толщина стенки биodeградируемого сосудистого графта составила 475 мкм (Рис. 2).

Спекание армирующей PCL-нити с поверхностью трубчатого каркаса PHBV/PCL/GFmix проходило строго под нитью (Рис. 2).

На снимках СЭМ видно, что при выбранных режимах изготовления трубчатого каркаса PHBV/PCL/GFmix формировались полноценные волокна полимера (Рис. 3а). Дифференцировочные факторы, вводимые в состав полимерных волокон, не меняли их структуры. В процессе наматывания нити PCL, подаваемой через экструдер при температуре 160 °С, выявлено ее

спекание с отдельными нитями, составляющими основу трубчатого каркаса PHBV/PCL и расположенными под PCL нитью. Нарушение целостности стенки каркаса в других зонах отсутствовало (Рис. 3б-в).

Существующие особенности наложения анастомозов при использовании сосудистых графтов с армирующим каркасом в виде спирали: при формировании угла сшивания в 45° нарушается целостность части обмоточных нитей в процессе перерезки. Поэтому сохранность единства армирующего полипролактонового волокна с основным трубчатым каркасом в зоне спекания после наложения анастомозов требуют дополнительного изучения. При изучении эксплантированных образцов графтов методом СЭМ выявлено, что через 12 месяцев имплантации армирующая PCL нить по-прежнему была интимно сцеплена с поверхностью трубчатого полимерного каркаса PHBV/PCL/GFmix. Значимых признаков биodeградации PCL нити не обнаружено (Рис. 3г).

Сплавление спирали с графтом может снижать механические свойства графта за счет деградации материала графта в месте контакта. По полученным результатам

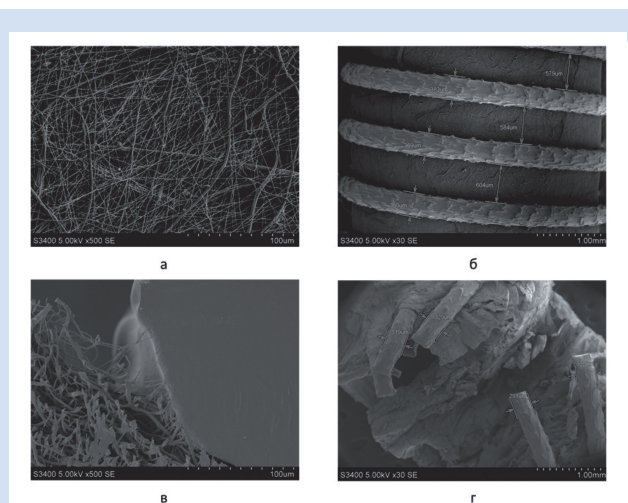


Рисунок 3. СЭМ сосудистых протезов PHBV/PCL/GFmix с армирующим каркасом

Примечание: а, б, в – до имплантации (ув. $\times 500$, $\times 30$ и $\times 500$, соответственно); г – через 12 месяцев имплантации (ув. $\times 30$)

Figure 3. Typical SEM images of PHBV/PCL/GFmix vascular grafts with the reinforcing sheath

Note: a, b, c – before implantation ($\times 500$, $\times 30$ and $\times 500$, respectively); d – 12 months after the implantation ($\times 30$)

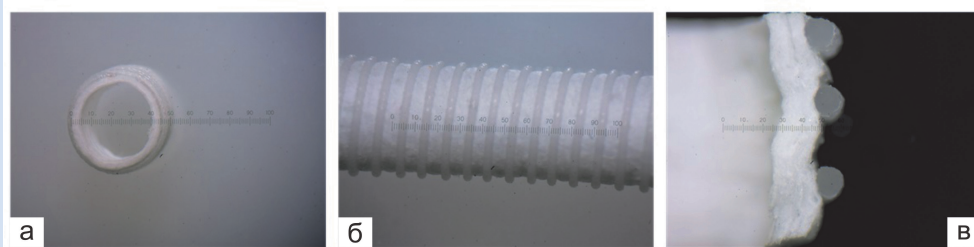


Рисунок 2. Сосудистый протез PHBV/PCL/GFmix с армирующим покрытием нитью из PCL

Примечание: а, б – вид протеза; в – степень впайки армирующей PCL нити в стенку сосудистого протеза по шкале окуляр-микрометра: а, б – ув. $\times 10$; в – ув. $\times 40$

Figure 2. PHBV/PCL/GFmix vascular graft with a PCL reinforced filament

Note: a, b – view of the graft; c – the soldering degree of the PCL reinforced filament into the wall of the vascular graft measured by the ocular micrometer: a, b – $\times 10$; c – $\times 40$

в продольном направлении армирующая нить не внесла существенных изменений в прочностные и упруго-деформативные свойства. В поперечном направлении отмечено влияние каркаса из PCL на механические свойства полимерных графтов в виде повышения предела прочности в 2,9 раза ($p = 0,028$) и модуля Юнга в 3,2 раза ($p = 0,04$), а также снижения относительного удлинения в 2,2 раза ($p = 0,04$) (Таблица).

Таким образом, каркас, сформированный нитью из PCL, не оказывал влияния на механические свойства в продольном направлении сосуда за счет того, что нагружению подвергали не саму полимерную нить, а конструкцию в форме пружины. При этом повышение прочности на разрыв и модуля Юнга в поперечном направлении – закономерно вследствие вклада в ответную реакцию графта на нагружение непосредственно нити из PCL, в том числе, с увеличением толщины графта.

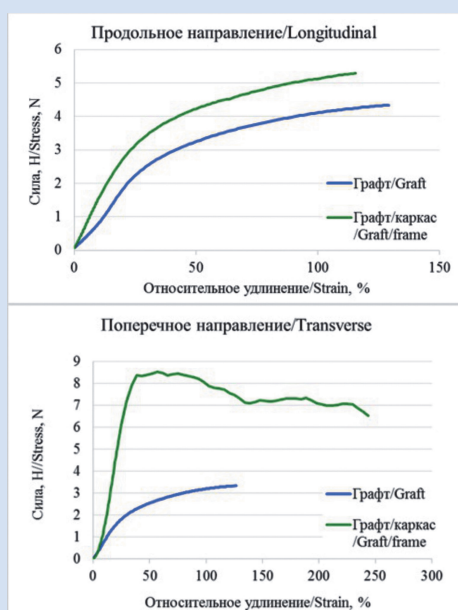


Рисунок 4. Механические свойства полимерных графтов, армированных нитью из PCL, при нагружении в продольном и поперечном направлениях
Figure 4. Mechanical properties of polymer grafts reinforced with PCL filaments under loading in the longitudinal and transverse directions

Снижение относительного удлинения, которое соответствует F_{max} , также является отражением свойств самой нити из PCL – после достижения предела прочности наблюдали истончение нити каркаса с существенным удлинением – более 100% до разрушения сплошности непосредственно полимерного графта (Рис. 4).

По результатам гистологического исследования эксплантированных образцов графтов биодegradация основного трубчатого каркаса не сопровождалась развитием хронического воспаления. Армирующая нить по-прежнему интимно прилегалась к каркасу без существенной биорезорбции, поэтому в силу большой толщины при приготовлении гистологических срезов полимер выкрашивался из зоны своей локализации (Рис. 5). Ткани вокруг располагавшейся нити содержали хорошо развитую, но, вместе с тем, тонкую соединительнотканную капсулу. Эластин и отложения кальция в зоне прохождения нити не выявлены (Рис. 5).

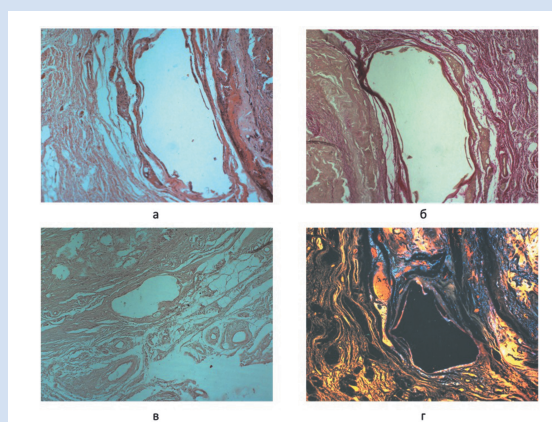


Рисунок 5. Тканевая реакция на армирующий каркас из нити PCL спустя 12 месяцев имплантации сосудистых протезов PHBV/PCL/GFmix (а, б, в – световая микроскопия; г – флуоресцентная микроскопия. Ув. $\times 100$)

Примечание: а – гематоксилин-эозин; б – по Ван-Гизону; в – орсеин; г – алizarиновый красный С и DAPI
Figure 5. Tissue response to the PCL reinforcing filament within the 12-months follow-up of the PHBV/PCL/GFmix vascular grafts implantation (a, b, c - light microscopy; d - fluorescence microscopy; $\times 100$)

Note: a – hematoxylin-eosin staining; b - Van Gieson staining; c – orcein; d – alizarin red S and DAPI

Таблица. Механические свойства полимерных графтом PHBV/PCL/GFmix с армирующим каркасом из PCL и без него
Table. Mechanical properties of PHBV/PCL/GFmix grafts with and without the PCL reinforcing sheath

Направление прикладываемой нагрузки/ Direction of applied load	Продольное (Вдоль графта) / Longitudinal (Along graft)		Поперечное (Поперек графта) / Transverse (Across graft)	
	Графт/ Graft	Графт/каркас/ Graft/ frame	Графт/ Graft	Графт/каркас/ Graft/ frame
Сила, Н/ Stress, N	4,34 (3,63–8,25)	5,3 (4,47–7,82)	3,33 (1,45–4,41)	9,96 (8,54–14,3)*
Относительное удлинение/ Strain, %	129,83 (69,57–140,77)	119,37 (116,87–135,41)	127,18 (78,6–131,01)	56,77 (45,11–58,78)*
Модуль Юнга, МПа/ Young's modulus, MPa	3,1 (2,31–3,41)	2,17 (1,93–2,45)	2,03 (1,7–2,43)	6,55 (5,02–6,84)*
Внешний диаметр сосуда/Толщина образца, мм/ Outer vessel diameter / Sample thickness, mm	4,6 (4,54–4,89)	5,0 (5,0–5,22)*	0,66 (0,34–0,83)	0,92 (0,9–1,32)
Площадь исследуемого образца, мм ² / The sample surface, mm ²	4,05 (3,62–6,21)	7,07 (7,07–8,83)*	3,3 (1,7–4,15)	4,6 (4,5–6,6)*

Примечание: * – $p < 0,05$ между значениями образцов с каркасом и без каркаса в одном направлении.
Note: * – $p < 0,05$ between the values of the samples with and without the reinforcing sheath in one direction.

Обсуждение

Основные способы укрепления стенки биодеградируемого сосудистого протеза представляют собой использование армирующих конструкций, изготовленных из биостабильных или биодеградируемых полимеров [17]. В данной работе для изготовления армирующего каркаса была использована нить PCL, которая подавалась методом экструзии (при температуре подачи волокна 160 °С) на поверхность биодеградируемого сосудистого графта PNBV/PCL/GFmix, изготовленного методом двухфазного электроспиннинга.

Риски, связанные с возможной недостаточной впайкой армирующей нити в основной биодеградируемый трубчатый каркас, а вследствие этого – несостоятельностью конструкции, были исследованы в экспериментах *in vitro*. Выявлено значимое упрочнение протеза в поперечном направлении – при механическом нагружении потребовалось применение в 3 раза большей силы, чтобы нарушить целостность изделия. Впайка армирующей нити происходила путем интимного сцепления с отдельными поверхностными полимерными нитями, составляющими основной трубчатый каркас. Формирование армирующего каркаса из нити PCL не приводило к нарушению целостности биодеградируемого трубчатого каркаса из PNBV/PCL.

В экспериментах *in vivo* доказано, что спустя 12 месяцев имплантации целостность конструкции «сосудистый протез с армирующим внешним каркасом» сохраняется. Армирующий каркас по-прежнему был расположен в зоне своей первоначальной локации. Присутствие длительно резорбируемых нитей PCL не провоцировало развития в окружающих тканях хронического воспаления и кальциноза.

Заключение

Армирование биодеградируемого сосудистого протеза нитью из поликапролактона возможно при использовании метода послойного наплавления – экструзии. Выбор температурного режима спекания 160 °С позволил интимно соединить нить PCL с наружной поверхностью трубчатого каркаса PNBV/PCL/GFmix без повреждения зон, свободных от армирующего покрытия.

Механические свойства сосудистого протеза с армирующим каркасом повышались в поперечном

направлении, что закономерно вследствие спиралевидного расположения обмоточной нити на поверхности сосудистого графта.

По истечении 12 месяцев имплантации целостность конструкции сохранялась, существенной резорбции каркаса не выявлено, а в тканях, окружавших нити каркаса, отсутствовало воспаление и кальцификация.

Конфликт интересов

Л.В. Антонова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.О. Кривкина заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.А. Резвова заявляет об отсутствии конфликта интересов. В.В. Севостьянова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Миронов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Глушкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. К.Ю. Клышников заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Овчаренко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ю.А. Кудрявцева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Л.С. Барбараш заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Раздел работ по изготовлению и имплантации опытных образцов биодеградируемых сосудистых протезов с внешним армирующим покрытием, а также проведению физико-механических испытаний и сканирующей электронной микроскопии выполнен при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2015-0011 «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».

Раздел работ по проведению гистологического исследования эксплантированных образцов сосудистых протезов выполнен за счет средств Фонда поддержки молодых ученых в области биомедицинских наук (научный проект 2017_1 «Характер тканевой реакции на биодеградируемые сосудистые графты с армирующим внешним каркасом»).

Информация об авторах

Антонова Лариса Валерьевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клеточных технологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация;

Кривкина Евгения Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация;

Author Information Form

Antonova Larisa V., PhD, Head of the Laboratory of Cell Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation;

Krivkina Evgenia O., research assistant at the Laboratory of Cell Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation;

Резцова Мария Александровна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация.

Севостьянова Виктория Владимировна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация;

Мионов Андрей Владимирович, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация;

Глушкова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация;

Клышников Кирилл Юрьевич, научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация;

Овчаренко Евгений Андреевич, кандидат технических наук, заведующий лабораторией новых биоматериалов, заведующий отделом организации инновационных и клинических исследований Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация;

Кудрявцева Юлия Александровна, доктор биологических наук, заведующая отделом экспериментальной и клинической кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация;

Барбараш Леонид Семенович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация.

Rezvova Maria A., research assistant at the Laboratory of Novel Biomaterials, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation.

Sevostyanova Viktoria V., PhD, researcher at the Laboratory of Cell Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation;

Mironov Andrey V., research assistant at the Laboratory of Cell Technologies, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation.

Glushkova Tatyana V., PhD, researcher at the Laboratory of Novel Biomaterials, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation;

Klyshnikov Kirill Yu., researcher at the Laboratory of Novel Biomaterials, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation;

Ovcharenko Evgeny A., PhD, Head of the Laboratory of Novel Biomaterials, Head of the Department of Innovations and Clinical Trials, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation;

Kudryavtseva Yulia A., PhD, Head of the Department of Experimental and Clinical Cardiology at the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation;

Barbarash Leonid S., PhD, Professor, Academician of the RAS, chief researcher at the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation.

Вклад авторов в статью

ALV – существенный вклад в дизайн исследования, анализ данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание;

KEO – получение и анализ данных исследования, корректура статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание;

RMA – получение и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание;

SVV – вклад в дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание;

MAV – интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание;

Author Contribution Statement

ALV – significant contribution to the design of the study, data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content;

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

RMA – data collection and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content;

SVV – contribution to the design of the study, data collection and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content;

MAV – data interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content;

ГТВ – получение и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание;

ККЮ – вклад в дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание;

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

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

БЛС – вклад в дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание.

ГТВ – data collection and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content.

ККЮ – contribution to the design of the study, data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content.

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

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

БЛС – contribution to the design of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fisher M.B., Mauck R.L. Tissue engineering and regenerative medicine: recent innovations and the transition to translation. *Tissue Eng Part B Rev.* 2013; 19 (1): 1-13. DOI: 10.1089/ten.TEB.2012.0723.
2. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Mironov A.V., Krivkina E.O., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Glushkova T.V., Elgudin Ya.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. DOI: 10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36.
3. Антонова Л.В., Севостьянова В.В., Кутихин А.Г., Великанова Е.А., Матвеева В.Г., Глушкова Т.В., Миронов А.В., Кривкина Е.О., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Влияние способа модифицирования трубчатого полимерного матрикса биомолекулами bFGF, SDF-1a и VEGF на процессы формирования *in vivo* тканеинженерного кровеносного сосуда малого диаметра. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2018; 20(1): 96-109. doi: 10.15825/1995-1191-2018-1-96-109.
4. Woods I., Flanagan T.C. Electrospinning of biomimetic scaffolds for tissue-engineered vascular grafts: threading the path. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2014; 12(7): 815-32. doi: 10.1586/14779072.2014.925397.
5. Ingavle G.C., Gehrke S.H., Detamore M.S. The bioactivity of agarose-PEGDA interpenetrating network hydrogels with covalently immobilized RGD peptides and physically entrapped aggrecan. *Biomaterials.* 2014; 35(11): 3558-3570. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.002.
6. Fukunishi T., Shoji T., Shinoka T. Nanofiber composites in vascular tissue engineering. In: *Nanofiber Composites for Biomedical Applications.* Ramalingam M, Ramakrishna S, editors. Elsevier Ltd, 2017. p. 455-481. doi: 10.1016/B978-0-08-100173-8.00018-1.
7. Hasan A., Memic A., Annabi N., Hossain M., Haul A., Dokmeci M.R. Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. *Acta Biomater.* 2014; 10(1): 11-25. doi: 10.1016/j.actbio.2013.08.022.
8. Catto V., Fare S., Freddi G., Tanzi M.C. Vascular tissue engineering: recent advances in small diameter blood vessel regeneration. *ISRN Vasc. Med.* 2014; 923030: 1-27. doi: 10.1155/2014/923030.
9. Ngadiman N.H.A., Noordin M.Y., Idris A., Kurniawan D. A review of evolution of electrospun tissue engineering scaffold: From two dimensions to three dimensions. *Proc Inst Mech Eng H.* 2017; 231(7): 597-616. doi: 10.1177/0954411917699021.
10. Pei B., Wang W., Fan Y., Wang X., Watari F., Li X. Fiber-reinforced scaffolds in soft tissue engineering. *Regenerative biomaterials.* 2017; 4(4): 257-268. doi: 10.1093/rb/rbx021.
11. Li X., Pei B., Wang W., Fan Y., Wang X., Watari F. Biocomposites reinforced by fibers or tubes as scaffolds for tissue engineering or regenerative medicine. *Biocomposites reinforced by fibers or tubes as scaffolds for tissue engineering or regenerative medicine. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials.* 2014; 102(5): 1580-1594. doi: 10.1093/rb/rbx021.
12. Ngadiman N.H.A., Noordin M.Y., Idris A., Kurniawan D. A review of evolution of electrospun tissue engineering scaffold: From two dimensions to three dimensions. *Proc Inst Mech Eng H.* 2017; 231(7): 597-616. doi: 10.1177/0954411917699021.
13. Hashi C.K., Zhu Y., Yang G.Y., Young W.L., Hsiao B.S., Wang K., Chu B., Li S. Antithrombogenic property of bone marrow mesenchymal stem cells in nanofibrous vascular grafts. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007; 104(29): 11915-11920. doi: 10.1073/pnas.0704581104.
14. Lee Y.H., Lee J.H., An I.G., Kim C., Lee D.S., Lee Y.K., Nam J.D. Electrospun dual-porosity structure and biodegradation morphology of Montmorillonite reinforced PLLA nanocomposite scaffolds. *Biomaterials.* 2005; 26(16): 3165-3172. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.08.018.
15. Mauck R.L., Baker B.M., Nerurkar N.L., Burdick J.A., Li W.J., Tuan R.S., Elliott D.M. Engineering on the straight and narrow: the mechanics of nanofibrous assemblies for fiber-reinforced tissue regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews.* 2009; 15(2): 171-193. doi: 10.1089/ten.TEB.2008.0652.
16. Spadaccio C., Nappi F., De Marco F., Sedati P., Sutherland F.W., Chello M., Trombetta M., Rainer A. Preliminary *in vivo* evaluation of a hybrid armored vascular graft combining electrospinning and additive manufacturing techniques. *Drug Target Insights.* 2016; 10(Suppl 1): 1-7. doi: 10.4137/DTI.S35202.
17. Li G., Liu J., Zheng Z., Wang X., Kaplan D.L. Structural Mimetic Silk Fiber-Reinforced Composite Scaffolds Using Multi-Angle Fibers. *Macromolecular bioscience.* 2015; 15(8): 1125-1133. doi: 10.1002/mabi.201400502.
18. Xu W., Zhou F., Ouyang C., Cui W., Yao M., Wang X. Small diameter polyurethane vascular graft reinforced by elastic weft-knitted tubular fabric of polyester/spandex. *Fibers and Polymers* 2008; 9(1): 71-75. doi: 10.1007/s12221-008-0011-7.
19. Xu W., Zhou F., Ouyang C., Ye W., Yao M., Xu B. Mechanical properties of small-diameter polyurethane vascular grafts reinforced by weft-knitted tubular fabric. *J Biomed Mater Res A.* 2010; 92(1): 1-8. doi: 10.1002/jbm.a.32333.

REFERENCES

1. Fisher M.B., Mauck R.L. Tissue engineering and regenerative medicine: recent innovations and the transition to translation. *Tissue Eng Part B Rev.* 2013; 19 (1): 1-13. DOI: 10.1089/ten.TEB.2012.0723.

2. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Mironov A.V., Krivkina E.O., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Glushkova T.V., Elgudin Ya.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. DOI: 10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36.
3. Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Kutikhin A.G., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Glushkova T.V., Mironov A.V., Krivkina E.O., Barbarash O.L., Barbarash L.S. Influence of BFGF, SDF-1A, or VEGF incorporated into tubular polymer scaffolds on the formation of small-diameter tissue-engineered blood vessel in vivo. *2018; 20(1): 96-109*. doi: 10.15825/1995-1191-2018-1-96-109 (In Russian).
4. Woods I., Flanagan T.C. Electrospinning of biomimetic scaffolds for tissue-engineered vascular grafts: threading the path. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2014; 12(7): 815-32. doi: 10.1586/14779072.2014.925397.
5. Ingavle G.C., Gehrke S.H., Detamore M.S. The bioactivity of agarose-PEGDA interpenetrating network hydrogels with covalently immobilized RGD peptides and physically entrapped aggrecan. *Biomaterials*. 2014; 35(11): 3558-3570. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.002.
6. Fukunishi T., Shoji T., Shinoka T. Nanofiber composites in vascular tissue engineering. In: *Nanofiber Composites for Biomedical Applications*. Ramalingam M, Ramakrishna S, editors. Elsevier Ltd, 2017. p. 455-481. doi: 10.1016/B978-0-08-100173-8.00018-1.
7. Hasan A., Memic A., Annabi N., Hossain M., Haul A., Dokmeci M.R. Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. *Acta Biomater*. 2014; 10(1): 11-25. doi: 10.1016/j.actbio.2013.08.022.
8. Catto V., Fare S., Freddi G., Tanzi M.C. Vascular tissue engineering: recent advances in small diameter blood vessel regeneration. *ISRN Vasc. Med*. 2014; 923030: 1-27. doi: 10.1155/2014/923030.
9. Ngadiman N.H.A., Noordin M.Y., Idris A., Kurniawan D. A review of evolution of electrospun tissue engineering scaffold: From two dimensions to three dimensions. *Proc Inst Mech Eng H*. 2017; 231(7): 597-616. doi: 10.1177/0954411917699021.
10. Pei B., Wang W., Fan Y., Wang X., Watari F., Li X. Fiber-reinforced scaffolds in soft tissue engineering. *Regenerative biomaterials*. 2017; 4(4): 257-268. doi: 10.1093/rb/rbx021.
11. Li X., Pei B., Wang W., Fan Y., Wang X., Watari F. Biocomposites reinforced by fibers or tubes as scaffolds for tissue engineering or regenerative medicine. *Biocomposites reinforced by fibers or tubes as scaffolds for tissue engineering or regenerative medicine*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2014; 102(5): 1580-1594. doi: 10.1093/rb/rbx021.
12. Ngadiman N.H.A., Noordin M.Y., Idris A., Kurniawan D. A review of evolution of electrospun tissue engineering scaffold: From two dimensions to three dimensions. *Proc Inst Mech Eng H*. 2017; 231(7): 597-616. doi: 10.1177/0954411917699021.
13. Hashi C.K., Zhu Y., Yang G.Y., Young W.L., Hsiao B.S., Wang K., Chu B., Li S. Antithrombogenic property of bone marrow mesenchymal stem cells in nanofibrous vascular grafts. *Proc Natl Acad. Sci. USA*. 2007; 104(29): 11915-11920. doi: 10.1073/pnas.0704581104.
14. Lee Y.H., Lee J.H., An I.G., Kim C., Lee D.S., Lee Y.K., Nam J.D. Electrospun dual-porosity structure and biodegradation morphology of Montmorillonite reinforced PLLA nanocomposite scaffolds. *Biomaterials*. 2005; 26(16): 3165-3172. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.08.018.
15. Mauck R.L., Baker B.M., Nerurkar N.L., Burdick J.A., Li W.J., Tuan R.S., Elliott D.M. Engineering on the straight and narrow: the mechanics of nanofibrous assemblies for fiber-reinforced tissue regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2009; 15(2): 171-193. doi: 10.1089/ten.TEB.2008.0652.
16. Spadaccio C., Nappi F., De Marco F., Sedati P., Sutherland F.W., Chello M., Trombetta M., Rainer A. Preliminary in vivo evaluation of a hybrid armored vascular graft combining electrospinning and additive manufacturing techniques. *Drug Target Insights*. 2016; 10(Suppl 1): 1-7. doi: 10.4137/DTI.S35202.
17. Li G., Liu J., Zheng Z., Wang X., Kaplan D.L. Structural Mimetic Silk Fiber-Reinforced Composite Scaffolds Using Multi-Angle Fibers. *Macromolecular bioscience*. 2015; 15(8): 1125-1133. doi: 10.1002/mabi.201400502.
18. Xu W., Zhou F., Ouyang C., Cui W., Yao M., Wang X. Small diameter polyurethane vascular graft reinforced by elastic weft-knitted tubular fabric of polyester/spandex. *Fibers and Polymers* 2008; 9(1): 71-75. doi: 10.1007/s12221-008-0011-7.
19. Xu W., Zhou F., Ouyang C., Ye W., Yao M., Xu B. Mechanical properties of small-diameter polyurethane vascular grafts reinforced by weft-knitted tubular fabric. *J Biomed Mater Res A*. 2010; 92(1): 1-8. doi: 10.1002/jbm.a.32333.

Для цитирования: Л.В. Антонова, Е.О. Кривкина, М.А. Резвова, В.В. Севостьянова, А.В. Миронов, Т.В. Глушкова, К.Ю. Клышников, Е.А. Овчаренко, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш. Биодegradуемый сосудистый протез с армирующим внешним каркасом. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2019; 8 (2): 87-97. DOI: 10.17802/2306-1278-2019-8-2-87-97

To cite: L.V. Antonova, E.O. Krivkina, M.A. Rezvova, V.V. Sevostyanova, A.V. Mironov, T.V. Glushkova, K.Yu. Klyshnikov, E.A. Ovcharenko, Yu.A. Kudryavceva, L.S. Barbarash. Biodegradable vascular graft reinforced with a biodegradable sheath. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2019; 8 (2): 87-97. DOI: 10.17802/2306-1278-2019-8-2-87-97