

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ FUNDAMENTAL ASPECTS OF CARDIOVASCULAR SURGERY

УДК 616.13-77:577.11

РАЗРАБОТКА ТКАНЕИНЖЕНЕРНОГО СОСУДИСТОГО ГРАФТА МАЛОГО ДИАМЕТРА ДЛЯ НУЖД СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Л. В. АНТОНОВА, Ю. А. КУДРЯВЦЕВА

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

НИИ КПССЗ имеет большой опыт в разработке изделий для сердечно-сосудистой хирургии, в частности биопротезов клапанов сердца и сосудов. С 2010 года под руководством академика РАН Л. С. Барбараша начаты исследования по созданию биорезорбируемых сосудистых протезов малого диаметра. Основная цель – создание полимерных конструкций с бионаправленным действием, способных заменить отдельные структуры живого организма, в частности сердечно-сосудистой системы. Научная новизна поставленной задачи заключается в использовании нового подхода создания органа непосредственно в организме пациента за счет биофункциональности и биорезорбируемости полимерных конструкций. Доказана долгосрочная проходимость полимерных сосудистых графтов на основе поликапролактона и композиции полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона. В экспериментах *in vitro* доказано, что ростовые факторы, инкорпорируемые в состав биodeградируемых графтов, сохраняют свою биологическую активность. В долгосрочных экспериментах *in vivo* доказано, что сосудистый эндотелиальный фактор роста ускоряет эндотелизацию и улучшает проходимость биodeградируемых полимерных сосудистых графтов.

Ключевые слова: биodeградируемые полимеры, сосудистый графт, ростовые факторы.

DEVELOPMENT OF TISSUE ENGINEERED SMALL DIAMETER VASCULAR GRAFT FOR THE CARDIOVASCULAR SURGERY NEEDS

L. V. ANTONOVA, YU. A. KUDRYAVTSEVA

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

RICICD has large experience in the development of products for cardiovascular surgery, in particular, the bioprosthesis heart valves and blood vessels. Since 2010, under the leadership of the academician of RAS L. S. Barbarash researches to create bioresorbable vascular prostheses of small diameter began. The primary purpose – to create polymer structures with bio-directed action capable to replace individual structures of a living organism, in particular, of cardiovascular system. Scientific novelty of the problem lies in using a new approach for creation an organ directly in the patient's body by biofunctional and bioresorbable features of polymer structures. The long-term patency of PCL vascular grafts and PHBV and PCL composition grafts had proved. The *in vitro* experiments had proved that growth factors incorporated into composition of biodegradable grafts retain their biological activity. The long-term *in vivo* experiments had demonstrated that vascular endothelial growth factor had accelerated endothelization and had improved vascular patency of biodegradable polymer grafts.

Key words: biodegradable polymers, a vascular graft, growth factors.

НИИ КПССЗ имеет большой опыт в разработке изделий для сердечно-сосудистой хирургии, в частности биопротезов клапанов сердца и сосудов. Разработка биологических протезов клапана сердца, сосудов и ксеноперикардальных лоскутов для интра- и ангиопластики в организации ведется с 1994 года. Разработаны методы консервации биоматериалов с применением эпокси соединений, а также различные технологии повышения как гемосовместимости биоматериала, так и биосовместимости в целом [1].

С учетом того, что НИИ КПССЗ является одним из ведущих кардиохирургических центров России, выполняющих операции аортокоронар-

ного шунтирования, и вследствие отсутствия на рынке сосудистых имплантатов, пригодных для аортокоронарного шунтирования, в 2010 году под руководством академика РАН Л. С. Барбараша начаты исследования по созданию биорезорбируемых сосудистых протезов малого диаметра. Наша команда уже несколько лет изучает проблему взаимодействия организма с биосовместимыми биорезорбируемыми полимерами на клеточном и тканевом уровне [2, 3, 4]. Данная работа ведется с целью создания полимерных конструкций с бионаправленным действием, способных заменить отдельные структуры живого организма, в частности, сердечно-сосудистой системы. Научная

новизна поставленной задачи заключается в использовании нового подхода создания органа непосредственно в организме пациента за счет биофункциональности и биорезорбируемости полимерных конструкций. Инкорпорирование в состав полимерных сосудистых графтов биологически активных веществ (ростовых факторов и хемоаттрактантов) будет стимулировать привлечение и дифференцировку эндогенных прогениторных клеток *in situ*. Данная тканеинженерная конструкция может выполняться 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.

Перспективность предлагаемых методов и подходов подтверждена не только современными разработками в данном направлении в России и мире [5, 6], но и также приоритетами долгосрочного развития прикладной науки в России – «Новые материалы и нанотехнологии», «Биотехнологии», в частности, по разделам 3.4 «Биомедицинские клеточные технологии» и 3.5 «Биодеградируемые и композитные материалы медицинского назначения».

Под руководством академика РАН Л. С. Барбараша были разработаны оригинальные протоколы изготовления опытных образцов биодеградируемых сосудистых графтов малого диаметра на основе биосовместимых полимеров – поликапролактона и композиции полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона [7, 8]. Созданные полимерные конструкции обладали достаточной гемосовместимостью и тромборезистентностью [9], а продукты 6-месячной гидролитической деградации не обладали кардиотоксичностью [10]. Доказана долгосрочная проходимость как полимерных сосудистых графтов на основе поликапролактона [11], так и на основе композиции полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона [12].

Для биофункционализации сосудистых графтов целесообразно использовать биологически активные вещества, способные стимулировать формирование собственного кровеносного сосуда в зоне локации временного трубчатого каркаса. Известно, что сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) является хемоаттрактантом для эндотелиальных прогениторных клеток, способных в случае успешного привлечения воссоздать монослой эндотелиальных клеток на внутренней поверхности. При этом необходимость инкорпорировать VEGF по всей толще стенки графта от-

сутствует. Основным фактором роста фибробластов (bFGF) является тропным к фибробластным клеткам, а хемоаттрактантная молекула SDF-1 α активна в привлечении мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток [13]. Таким образом, две последние биомолекулы обеспечивают миграцию в толщу стенки графта и пролиферацию в ней фибробластов и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, способных сформировать новую ткань на месте биорезорбируемого трубчатого каркаса. Следует также отметить, что эндотелиальные клетки лучше пролиферируют на поверхностях, схожих по строению с внеклеточным матриксом (наноразмерные волокна и поры до 15 мкм), тогда как более крупные клетки (мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки и фибробласты) комфортнее чувствуют себя на матриксах, образованных волокнами с диаметром в несколько микрон и порами до 100 микрон.

В экспериментах *in vitro* доказано, что ростовые факторы, инкорпорированные в состав биодеградируемых графтов, сохраняют свою биологическую активность [14, 15]. Доказана активация эндотелизации внутренней поверхности биодеградируемых сосудистых графтов малого диаметра, содержащих в своем составе VEGF [16].

Для наделения конструкций бионаправленностью действия нами были использованы приемы инкорпорирования в состав матриксов биологически активных компонент (ростовые факторы и хемоаттрактантные молекулы) методом двухфазного электроспиннинга. При этом протоколы изготовления опытных образцов трубчатых нетканых матриксов были адаптированы под изменения вязкости растворов на фоне введения в полимерный раствор жидкой фазы, содержащей растворы дифференцировочных факторов: VEGF, bFGF и SDF-1 α . При выбранных режимах изготовления формировались полноценные волокна полимера и присутствовали признаки того, что двухфазный электроспиннинг прошел успешно: наряду с образованием нитей микронного размера происходило формирование наноразмерных нитей диаметром до 500 нм. Вводимые дифференцировочные факторы равномерно распределялись по длине всего волокна, не изменяя его структуры. Высокая пористость сосудистого графта и наноразмерный диаметр волокон делают схожим структуру поверхности полимерного графта с внеклеточным матриксом, что способствует активному привлечению клеток в толщу стенки графта как из кровотока, так и из адвентиции [6]. Тонкие полимерные волокна увеличивают площадь взаимодействия клеток с каркасом, что, в свою очередь, ускоряет

клеточную адгезию и последующий метаболизм клеток [17]. Этот момент обладает существенной важностью, поскольку инфильтрация графта клетками улучшает его интеграцию с организмом [18].

Известно, что формирование эндотелиального монослоя на внутренней поверхности сосудистых графтов может улучшать их проходимость в отдаленном периоде [19]. Результаты последних экспериментов показали, что инкорпорирование VEGF в состав биodeградируемых сосудистых графтов малого диаметра способствовало активной миграции из кровотока эндотелиальных клеток и их предшественников к внутренней поверхности графтов и началу образования слоя эндотелиальных клеток уже через 1 месяц после имплантации с формированием полноценного эндотелиального монослоя – через 6 месяцев имплантации графтов в интравентрикулярный отдел аорты крыс-самцов линии Wistar. Более того, инкорпорирование VEGF ускоряло миграцию клеток в толщу стенок графтов. Таким образом, VEGF ускоряет эндотелизацию и улучшает проходимость сосудистых графтов из PNBV/PCL in vivo. Поэтому последующие разработки по биофункционализации биodeградируемого сосудистого графта малого диаметра различными дифференцировочными факторами, способствующими скорейшему формированию in situ ткани de novo, будут продолжены. На сегодняшний день разработаны и протестированы на мелких лабораторных животных 12 разновидностей биodeградируемых сосудистых графтов малого диаметра, модифицированных ростовыми факторами, хемоаттрактантными молекулами и белками внеклеточного матрикса. Завершается обработка полученных данных. В 2017 году планируются преклинические испытания графтов, продемонстрировавших наилучшие свойства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Кудрявцева Ю. А. Биологические протезы клапана сердца. От идеи до клинического применения. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; 4: 6–16. DOI: 10.17802/2306-1278-2015-4-6-16.
- Kudryavtseva Yu. A. Bioprosthetic heart valves. From idea to clinical use. Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2015; 4: 6–16. [In Russ.]. DOI: 10.17802/2306-1278-2015-4-6-16.
2. Насонова М. В., Глушкова Т. В., Борисов В. В., Матвеева В. Г., Доронина Н. В., Ежов В. А. и др. Разработка биodeградируемых мембран на основе полиоксикалкоанатов для профилактики спайкообразования в сердечно-сосудистой хирургии. Сибирский медицинский журнал. 2012; 8: 58–61.
- Nasonova M. V., Glushkova T. V., Borisov V. V., Matveeva V. G., Doronina N. V., Ezhov V. A. et al. Biodegradable polyhydroxyalkanoate membrane development for adhesion

prevention in cardiovascular surgery. Sib. med. zh. 2012; 8: 58–61. [In Russ.].

3. Антонова Л. В., Бураго А. Ю., Матвеева В. Г., Торопова Я. Г., Великанова Е. А., Кудрявцева Ю. А. и др. Сравнительная характеристика биорезорбции клеточных и бесклеточных матриксов на основе полиоксикалкоанатов и поликапролактона, потенциально пригодных для создания гибридного сосудистого графта малого диаметра. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2012; 1: 26–29. DOI: 10.17802/2306-1278-2012-1-26-29.

Antonova L. V., Burago A. Yu., Matveeva V. G., Toropova Ya. G., Velikanova E. A. et al. Comparing bioresorption of plain and cell-loaded polyhydroxyalkanoate and polycaprolactone scaffolds potentially suitable for small hybrid vascular grafts production. Complex Issues of Cardiovascular Diseases. 2012; 1: 26–29. [In Russ.]. DOI: 10.17802/2306-1278-2012-1-26-29.

4. Антонова Л. В., Матвеева В. Г., Борисов В. В., Кремёно С. В., Насонова М. В., Кудрявцева Ю. А. и др. Влияние различных вариантов модификации поверхности биodeградируемых пленочных матриксов на адгезию и жизнеспособность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. Бюллетень сибирской медицины. 2012; 4: 5–13.

Antonova L. V., Matveeva V. G., Borisov V. V., Kremeno S. V., Nasonova M. V., Kudryavtseva Yu. A. et al. Impact of various modifications of biodegradable membranous scaffolds surface on multipotent mesenchymal stromal cells adhesion and viability. Bulletin of Siberian Medicine. 2012; 4: 5–13. [In Russ.].

5. Hasan A., Memic A., Annabi N., Hossain M., Haul A., Dokmeci M. R. et al. Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. Acta Biomater. 2014; 10: 11–25. DOI:10.1016/j.actbio.2013.08.022.

6. Catto V., Fare S., Freddi G., Tanzi M. C. Vascular tissue engineering: recent advances in small diameter blood vessel regeneration. ISRN Vasc. Med. 2014; Article ID 923030: 1–27. DOI:10.1155/2014/923030.

7. Барбараш Л. С., Эльгудин Я. Л., Севостьянова В. В., Головкин А. С. Тканеинженерный сосудистый графт малого диаметра и способ его изготовления. Патент РФ 0204515. 21.10.2013.

Barbarash L. S., Elgudin J. L., Sevostyanova V. V., Golovkin A. S. Tissue-Engineered Vascular Graft and Its Fabrication Approach. Russian Federation patent 0204515. 21.10.2013.

8. Антонова Л. В., Головкин А. С., Барбараш О. Л., Барбараш Л. С. Способ изготовления биорезорбируемого гибридного сосудистого импланта малого диаметра. Патент РФ 2504406. 20.01.2014.

Antonova L. V., Golovkin A. S., Barbarash O. L., Barbarash L. S. Method for making bioresorbed small-diameter hybrid vascular graft. Russian Federation patent 2504406. 20.01.2014.

9. Антонова Л. В., Севостьянова В. В., Сейфалиан А. М., Матвеева В. Г., Великанова Е. А., Сергеева Е. А. и др. Сравнительное тестирование in vitro биodeградируемых сосудистых имплантов для оценки перспективы использования в тканевой инженерии. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; 4: 34–41. DOI: 10.17802/2306-1278-2015-4-34-41.

Antonova L. V., Sevostyanova V. V., Seifalian A. M., Matveeva V. G., Velikanova E. A., Sergeeva E. A. et al. Compar-

tive in vitro testing of biodegradable vascular grafts for tissue engineering applications. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2015; 4: 34–41. [In Russ.]. DOI: 10.17802/2306-1278-2015-4-34-41.

10. Антонова Л. В., Сергеева Е. А., Бабич О. О., Просяков А. Ю., Глушкова Т. В., Груздева О. В. и др. Изучение кардиотоксичности продуктов гидролитической деградации трубчатых полимерных матриц, пригодных выступить в качестве сосудистого имплантата малого диаметра. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; 3: 6–11. DOI: 10.17802/2306-1278-2015-3-6-11.

Antonova L. V., Sergeeva E. A., Babich O. O., Prosekov A. Yu., Glushkova T. V., Gruzdeva O. V. et al. Evaluation of cardiotoxicity of hydrolytic degradation products of tubular polymer matrices suitable for small diameter vascular grafts. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2015; 3: 6–11. [In Russ.]. DOI: 10.17802/2306-1278-2015-3-6-11.

11. Севостьянова В. В., Елгудин Я. Л., Глушкова Т. В., Внек Г., Любышева Т., Эмансипатор С. и др. Использование протезов из поликапролактона для сосудов малого диаметра. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2015; 21 (1): 44–48.

Sevostyanova V. V., Elgudin Ya. L., Glushkova T. V., Wnek G., Lubysheva T., Emancipator S. et al. Use of polycaprolactone grafts for small-diameter blood vessels. *Angiology and Vascular Surgery*. 2015; 21 (1): 44–48. [In Russ.].

12. Антонова Л. В., Мухамадияров Р. А., Миронов А. В., Бураго А. Ю., Великанова Е. А., Сидорова О. Д. и др. Оценка биосовместимости биодеградируемого сосудистого графта малого диаметра из полигидроксибутирата/валерата и поликапролактона: морфологическое исследование. *Гены & клетки*. 2015; 10 (2): 71–77.

Antonova L. V., Mukhamadiyarov R. A., Mironov A. V., Burago A. Yu., Velikanova E. A., Sidorova O. D. et al. A morphological investigation of the polyhydroxybutyrate/valerate and polycaprolactone biodegradable small-diameter vascular graft biocompatibility. *Genes & Cells*. 2015; 10 (2): 71–77. [In Russ.].

13. Севостьянова В. В., Антонова Л. В., Барбараши 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.].

14. Севостьянова В. В., Головкин А. С., Антонова Л. В., Глушкова Т. В., Барбараши О. Л., Барбараши Л. С. Модификация матриц из поликапролактона сосудистым эндотелиальным фактором роста для потенциального применения в разработке тканеинженерных сосудистых графтов. *Гены & клетки*. 2015; 10 (1): 84–90.

Sevostyanova V. V., Golovkin A. S., Antonova L. V., Glushkova T. V., Barbarash O. L., Barbarash L. S. Modification of polycaprolactone scaffolds with vascular endothelial growth factors for potential application in development of tissue engineered vascular grafts. *Genes & Cells*. 2015; 10 (1): 84–90. [In Russ.].

15. Sevostyanova V. V., Khodyrevskaya Yu. I., Glushkova T. V., Antonova L. V., Kudryavtseva Y. A., Barbarash O. L. et al. Preparation and features of polycaprolactone vascular grafts with the incorporated vascular endothelial growth factor. *AIP Conference Proceedings*. 2015; 1683: 020205-1–020205-5. DOI: 10.1063/1.4932895.

16. Севостьянова В. В., Елгудин Я. Л., Внек Г. Е., Любышева Т., Эмансипатор С., Головкин А. С., Барбараши Л. С. Свойства тканеинженерных матриц из поликапролактона, импрегнированных факторами роста VEGF и bFGF. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2012; 7 (3): 62–67.

Sevostyanova V. V., Elgudin Ya. L., Wnek G. E., Lubysheva T., Emancipator S., Golovkin A. S. et al. Properties of tissue-engineering polycaprolactone matrices impregnated by VEGF and bFGF growth factors. *Cellular Transplantation & Tissue Engineering*. 2012; 7 (3): 62–67. [In Russ.].

17. Sill T. J., von Recum H. A. Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*. 2008; 29 (13): 1989–2006. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.01.011.

18. Sachlos E., Czernuszka J. T. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur. Cell. Mater*. 2003; 5: 29–39.

19. L'Heureux N., Pâquet S., Labbé R., Germain L., Auger F. A. A completely biological tissue-engineered human blood vessel. *FASEB J*. 1998; 12 (1): 47–56.

Статья поступила 29.04.2016

Для корреспонденции:

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

For correspondence:

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