

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-1-86-96

## БИОДЕГРАДИРУЕМЫЙ СОСУДИСТЫЙ ПРОТЕЗ МАЛОГО ДИАМЕТРА: ВИДЫ МОДИФИЦИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ МОЛЕКУЛАМИ И RGD-ПЕПТИДАМИ

*Е.А. Сенокосова, Е.О. Кривкина, Л.В. Антонова, Л.С. Барбараш*

НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, Российская Федерация

На сегодняшний день остается высокой потребность в протезах малого диаметра для замещения поврежденного участка кровеносного бассейна, в частности, таковые активно применяются при аортокоронарном шунтировании. В качестве альтернативы аутотрансплантатам выступают синтетические графты на основе полимеров. Перспективным направлением тканевой инженерии является создание биоразлагаемого графта, который может послужить основой для формирования сосудистых тканей *de novo* непосредственно в организме пациента. Оптимизация полимерного состава изделий уже привела к улучшению как физико-механических, так и биосовместимых свойств изделий, но все же они далеки от требуемых. Одним из решающих факторов надежности сосудистого трансплантата малого диаметра является скорейшее образование эндотелиальной выстилки на его внутренней поверхности, что может обеспечить тромбогенный эффект и полноценный просвет будущего новообразованного сосуда. Для достижения данной цели проводят модифицирование графтов посредством включения в полимерный состав или иммобилизацию на его внутреннюю поверхность биоактивных молекул либо функционально активных пептидных последовательностей. К последним относится сайт клеточной адгезии – аргинин – глицин – аспарагиновая кислота (или RGD-пептид), которая присутствует в большинстве белков экстрацеллюлярного матрикса и имеет тропность к интегриновым рецепторам эндотелиальных клеток. Имитация функциональной активности естественного экстрацеллюлярного матрикса может способствовать спонтанной эндотелизации внутренней поверхности сосудистого протеза, что демонстрируют результаты многих исследований. При этом конфигурация RGD-пептида определяет выживаемость и дифференцировку эндотелиальных клеток, а линкер, через который пептид сшит с полимерной поверхностью, определяет биодоступность RGD-пептида для эндотелиальных клеток.

*Ключевые слова: тканевая инженерия, полимерный графт, RGD-пептиды, эндотелизация, биосовместимость.*

## BIODEGRADABLE SMALL-DIAMETER VASCULAR GRAFT: TYPES OF MODIFICATION WITH BIOACTIVE MOLECULES AND RGD PEPTIDES

*E.A. Senokosova, E.O. Krivkina, L.V. Antonova, L.S. Barbarash*

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

The need for small-diameter grafts for replacing the damaged area of the blood pool is still very high. These grafts are very popular for coronary artery bypass grafting. Polymeric synthetic grafts are an alternative to autografts. A promising area of tissue engineering is the creation of a biodegradable graft. It can serve as the basis for *de novo* generation of vascular tissue directly in the patient's body. Optimization of the polymer composition of products has led to improved physicochemical and biocompatible properties of the products. However, the improvements are still far from needed. One of the decisive factors in the reliability of a small-diameter vascular graft is the early formation of endothelial lining on its inner surface, which can provide antithrombotic effect and full lumen of the future newly formed vessel. To achieve this goal, grafts are modified by incorporating bioactive molecules or

**Для корреспонденции:** Сенокосова Евгения Андреевна. Адрес: 650002, Кемерово, Сосновый бульвар, 6. Тел. (3842) 64-46-50. E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

**For correspondence:** Senokosova Evgeniya Andreevna. Address: 6, Sosnovy Blvd, Kemerovo, 650002, Russian Federation. Tel. (3842) 64-46-50. E-mail: sergeewa.ew@yandex.ru

functionally active peptide sequences into the polymer composition or immobilizing on its inner surface. Peptide sequences include cell adhesion site – arginine-glycine-aspartic acid (RGD peptide). This sequence is present in most extracellular matrix proteins and has a tropism for integrin receptors of endothelial cells. Many studies have shown that imitation of the functional activity of the natural extracellular matrix can promote spontaneous endothelization of the inner surface of a vascular graft. Moreover, configuration of the RGD peptide determines the survival and differentiation of endothelial cells. The linker through which the peptide is crosslinked to the polymer surface determines the bioavailability of the RGD peptide for endothelial cells.

*Keywords: tissue engineering, polymer graft, RGD peptides, endothelization, biocompatibility.*

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются основной причиной смертности и инвалидизации населения большинства стран мира [1]. Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения, в 2015 году ССЗ явились причиной смерти порядка 17,7 миллиона человек [2]. При анализе этой проблемы С.Д. Mathers и D. Loncar установили, что к 2030 году настоящая цифра увеличится на 30% [3]. Безусловное лидерство среди ССЗ за атеросклерозом, при развитии которого происходит образование и увеличение атероматозной бляшки в толще стенки артерий [2]. При этом нарушается проходимость сосуда, и как следствие, ухудшается кровоснабжение тканей [2, 4–8].

В современной сердечно-сосудистой хирургии при лечении поврежденного сосуда встает выбор между ангиопластикой и заменой на сосудистый имплантат (сосудистый графт). Применение в качестве имплантатов собственных артерий и вен пациента представляет собой идеальный вариант, но существует ряд ограничений использования.

### Ауто-, ксено-, аллотрансплантаты

Аутоартерии (грудные, лучевые) и аутоены (большая подкожная) по многим показателям пригодны для трансплантации в коронарное русло [9]. К недостаткам данного вида трансплантатов можно отнести: анатомические особенности строения сосуда, не допускающие к использованию в качестве пластического материала; ограничение количества артерий и вен; возможную травматизацию как сосуда, так и окружающих тканей при изъятии; риск развития ишемии в месте забора материала; возрастную дегенерацию [10, 11]. Одновременно ведутся разработки в области создания алло- и ксенографтов. Ведущей проблемой аллографтов (гомографты или трансплантаты, полученные от других людей) и ксенографтов (трансплантаты, полученные от других видов животных) является чужой генетический материал. Применение таковых подразумевает тщательно выверенный протокол девитализации, асептической обработки и при необходимости криоконсервации образцов.

Иммунное отторжение, аллергические реакции, развитие инфекционного процесса и кальцификация – в некоторых случаях таких осложнений можно ожидать при использовании данного рода имплантатов [12–14].

### Искусственные трансплантаты

Синтетические сосудистые протезы можно разделить на 2 разновидности: биостабильные и биоразлагаемые. Биостабильные графты изготавливаются из политетрафторэтилена, полиэтилентерефталата, полиуретанов. Подобные протезы успешно применяют в реконструктивной хирургии сосудов с диаметром более 6 мм. В случае с поврежденным сосудом меньшего диаметра, особенностью гемодинамики которого является более низкая скорость кровотока, биостабильные графты становятся непригодными вследствие стремительной гиперплазии неоинтимы и тромбоза [15–17].

Достаточно привлекательны биоразлагаемые полимерные сосудистые графты, главной особенностью которых является имитация структуры внеклеточного матрикса с дальнейшим полным замещением полимерной матрицы новообразованной сосудистой тканью реципиента. В роли материала для изготовления данных протезов могут выступить синтетические полимеры: полигликолевая кислота, полимолочная кислота, поликапролактон, полиглицеролсебакат, полигидроксиалканоаты и другие. Для изготовления тканеинженерных сосудистых графтов применяются различные методы, такие как формование погружением в раствор (solvent casting), разделение фаз (phase separation), выщелачивание солей из полимерного раствора, трехмерный принтинг и электроспиннинг (electrospinning) [18]. Последний можно считать приоритетным. Благодаря методу электроспиннинга можно добиться вытягивания полимерного раствора в волокна диаметром от 10 мкм до 50 нм с формированием разноразмерных и высокопористых каркасов [19–21]. Также при изменении режима изготовления и смены состава растворов в процессе электроспиннинга возможно изготовить каркасы, состоящие из различных по составу слоев [22].

## Повышение биосовместимости синтетического материала и виды модифицирования

Некоторые полимеры полилактонового типа демонстрируют удовлетворительные механические свойства, низкую токсичность и иммуногенность, но присущая им высокая гидрофобность и низкая поверхностная энергия ограничивают смачиваемость материала, адгезию и пролиферацию клеток, необходимых для дальнейшего ремоделирования тканей [23, 24]. При использовании комбинации синтетического полимера с природным (коллаген, хитозан, фибрин, фиброин шелка, полигидроксибутират валерат и другие) можно увеличить биосовместимость изготавливаемого матрикса [25–27]. Также биосовместимость каркаса можно повысить путем использования для его изготовления смеси различных полимеров. При использовании комбинации полимера поликапролактона (polycaprolactone, PCL) с полигидроксибутират валератом (polyhydroxybutyrate-co-valerate, PHBV) было продемонстрировано повышение биосовместимости матрицы из смеси данных полимеров относительно образца, изготовленного только из поликапролактона [28].

На этапе тестирования биоразлагаемых искусственных протезов *in vivo* возникают серьезные проблемы: тромбообразование, кальцификация, несоответствие физико-механических свойств и комплаентности с нативным сосудом, развитие воспалительного процесса, недостаточная биосовместимость материала [29]. Стратегии по их преодолению направлены, в том числе, на разработку расширения биофункциональных свойств кондуитов.

В частности, стимуляция процесса эндотелизации внутренней поверхности графта может способствовать уменьшению риска тромбообразования. Процесс модифицирования графтов подразумевает включение в состав полимерной матрицы (инкорпорирование в толщу наноразмерных волокон полимера либо поверхностную иммобилизацию) веществ, способствующих привлечению адгезии, поддержанию жизнедеятельности клеток, необходимых для скорейшего образования эндотелиальной выстилки и формирования других сосудистых тканей *de novo*. К таким веществам можно отнести ряд факторов роста и хемоаттрактантных молекул [30, 31]. В то же время большой научный интерес вызывает поверхностное модифицирование готовых полимерных матриксов путем иммобилизации на их поверхность функционально-активных пептидов, способных селективно адгезировать эндотелиальные клетки из системного кровотока реципиента [32]. К таким пептидам относится последовательность аргинин – глицин – аспарагиновая кислота (RGD), присутствующая в составе большинства белков экстрацеллюлярного

матрикса [33]. RGD-последовательность является одним из ключевых лигандов для интегринов – рецепторов, которые ответственны за клеточную адгезию, миграцию, пролиферацию, дифференцировку и выживание [34]. Одной из важнейших задач при разработке изделий с RGD-содержащими пептидами является выбор конфигурации RGD, а также лиганда либо линкера, через который адгезивный пептид будет иммобилизован на полимерную поверхность.

В настоящее время одновременно во многих странах активно изучается возможность использования RGD-пептидов для модифицирования поверхности тканеинженерных конструкций, контактирующих с кровью и требующих скорейшей эндотелизации поверхности. Научно-исследовательские группы автономно занимаются разработками в данной области, применяя собственные протоколы, начиная от синтеза определенной конфигурации пептида до модели тестирования готового изделия *in vivo*. Поэтому, согласно имеющимся литературным данным, обоснованное научное мнение о предпочтительной конфигурации RGD-пептида и структуре лиганда/линкера отсутствует, что делает данную область малоизученной, а следовательно, достаточно привлекательной для исследования в плане создания функционально-активных изделий для нужд сердечно-сосудистой хирургии. Настоящий обзор освещает основные современные подходы, используемые в разработках модифицированных биодеградируемых протезов, с акцентом на описание использования поверхностного модифицирования RGD-пептидами сосудистого протеза малого диаметра.

## Сосудистый эндотелий

Сосудистый эндотелий (СЭ) – это непрерывный высокодифференцированный монослой плоских клеток мезенхимального происхождения (эндотелиоцитов), выстилающих внутреннюю поверхность каждой составной части сердечно-сосудистой и лимфатической систем [35]. Можно выделить несколько особенностей, подчеркивающих первостепенную важность достижения скорейшей и качественной эндотелизации внутренней поверхности полимерного сосудистого протеза. Во-первых, эндотелиальный монослой сформирован эндотелиоцитами с различным фенотипом, соотношение которых зависит от многих факторов: величины давления в сосуде, скорости, силы напряжения сдвига, пульсирующего или постоянного потока, особенностей экстрацеллюлярного матрикса [36, 37]. Другими словами, сосудистая эндотелиальная выстилка – высокоадаптивная система, позволяющая сосудам и полостям поддерживать функционирование в различных условиях (виды и длительность раздражителей). Во-вторых, сосудистый эндотелий имеет морфологические и

функциональные вариации, подходящие под конкретное местонахождение в организме [38]. Сосудистый эндотелий продуцирует большое количество биологически активных веществ от неорганической молекулы NO до сложных органических структур (эндотелиальный натрийуретический пептид С-типа) [39, 40]. Таким образом, СЭ является не только барьерным слоем клеток между кровью (или лимфой) и субэндотелиальными сосудистыми тканями, но и активным эндокринным «органом», который участвует в функциональной саморегуляции, регенерации и ремоделировании сосудистого русла, в непосредственном метаболизме тканей и органов, трансваскулярной миграции веществ и клеток, например лейкоцитов, а также влияет на важнейший этап работы системы гемостаза – коагуляцию [41–43]. Существенный вклад СЭ в нормальную физиологию организма указывает на то, что любая его дисфункция может привести к широкому спектру патологических состояний. К наиболее социально важным и дискутируемым можно отнести ССЗ, сепсис и рак [44–46]. Поэтому скорейшее формирование эндотелиального монослоя на внутренней поверхности биодеградируемого полимерного протеза, заменяющего поврежденный участок сосудистого русла, является важной задачей при создании биосовместимых и функционально активных сосудозамещающих изделий. Скорость и качество эндотелизации будут определять состоятельность самого тканеинженерного протеза, его дальнейшее ремоделирование и физиологию тех тканей и органа / системы органов, в сосудистый бассейн которого он имплантирован.

## **2. ОСНОВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ МОДИФИЦИРОВАНИЯ СОСУДИСТЫХ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ ПРОТЕЗОВ В ЦЕЛЯХ СКОРЕЙШЕЙ ЭНДОТЕЛИЗАЦИИ ВНУТРЕННЕЙ ПОВЕРХНОСТИ**

Включение в состав тканеинженерной матрицы веществ, способных привлечь эндотелиальные клетки из системного кровотока реципиента и обеспечить оптимальные условия для жизнедеятельности, является одним из направлений создания биофункциональных биоразлагаемых сосудистых протезов. К таким веществам можно отнести биоактивные молекулы, управляющие процессами ремоделирования полимерного каркаса с приоритетом скорейшей и качественной эндотелизации внутренней поверхности. Большое внимание уделяется ростовым факторам – сигнальным полипептидам, регулирующим выживание, миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток [47]. Вследствие химической нестабильности ростовых факторов одним из распространенных методов включения их в состав полимерной матрицы

является инкорпорирование. Например, в процессе двухфазного электроспиннинга биомолекулы заключаются в состав полимерных волокон, формирующих изделие, что обеспечивает их структурную сохранность и пролонгированное высвобождение, связанное с постепенной биодеградацией полимерного волокна [48–50]. Еще одним успешным методом, позволяющим обеспечить молекулам структурную стабильность и увеличение времени жизни, является адсорбция ростовых факторов к фибронектину, фибрину, желатину, гепарину, которые, в свою очередь, иммобилизуются к поверхности матрикса. Говоря об ассимиляции и ремоделировании тканей на месте полимерного трубчатого каркаса, следует учитывать тот факт, что поддержание жизнедеятельности адгезированных клеток и будущих тканей возможно при наличии обширной и разветвленной сосудистой сети [51]. Поэтому фактор роста эндотелия сосудов (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) в качестве компонента модифицирования представляет большой интерес и является приоритетным, действуя в направлении усиления эндотелизации внутренней поверхности графтов, а также стимулируя образование и рост сосудистой сети на трансплантате и прорастание капилляров в его толщу.

Молекула VEGF способна обеспечить миграцию уже зрелых форм эндотелиальных клеток к полимерному матриксу из зон анастомозов и привлечь предшественников эндотелиальных клеток из крови [52]. Наиболее активно стимулирует ангиогенез изоформа VEGF-A 165 (преобладает количественно), связываясь с основным рецептором VEGFR2 на эндотелиальной клетке, обеспечивает наиболее значимые функциональные сигналы [53–55]. В.В. Севостьяновой с соавт. (2018) опубликованы данные, описывающие характер эндотелизации внутренней поверхности графтов из поликапролактона с инкорпорированным VEGF, которые были имплантированы в брюшную часть аорты лабораторным крысам на 1, 3, 6 месяцев. Так, PCL/VEGF-графты продемонстрировали лучшую краткосрочную (75% против 50%) и долгосрочную (100% против 75%) проходимость относительно немодифицированных аналогов. Благодаря VEGF на внутренней поверхности трансплантатов уже через месяц имплантации было идентифицировано большое количество незрелых CD31<sup>+</sup> CD34<sup>+</sup> эндотелиальных клеток, которые в динамике к окончанию срока имплантации в брюшную часть аорты крыс образовывали монослой с преобладанием зрелых клеток с фенотипом CD31<sup>+</sup> CD34<sup>+</sup>. Немодифицированные PCL-графты не были столь успешны [56]. Схожие результаты получены с сополимерными PNBV/PCL-графтами, модифицированными тем же ростовым фактором [57]. В исследовании J.J.D. Henry et al. (2017) показано, что при имплантации в сонную артерию лабораторных крыс сосудистых графтов из

полимолочной кислоты (PLLA – poly-l-lactide acid) и PLLA/PCL-вариации, модифицированных в каждом случае VEGF, уже через 2 недели отмечен активный ангиогенез: на внутренней поверхности 82% образцов обнаруживались эндотелиальные клетки, тогда как у немодифицированных графтов данный процент был в 2 раза ниже [58]. Другие биоактивные факторы вносят менее выраженный вклад в процесс эндотелизации, действуя более опосредованно.

Основной фактор роста фибробластов *Basic fibroblast growth factor (bFGF)* оказывает влияние на множество физиологических и патологических процессов: клеточную выживаемость, дифференцировку, пролиферацию, ангиогенез, адгезию, а также на скелетообразование и заживление ран [59, 60]. Регуляция ангиогенеза bFGF основана на стимуляции зрелых эндотелиальных клеток к пролиферации и организации в трубчатые структуры [61, 62]. Как в экспериментах *in vitro*, так и *in vivo* были получены успешные результаты, касающиеся адгезии и жизнеспособности ЭК. При культивировании микрососудистых эндотелиальных клеток человека (Human microvascular endothelial cells – HMECs) и эндотелиальных прогениторных клеток периферической крови собаки (CEPC) на поверхности децеллюляризованной сонной артерии свиньи, покрытой bFGF, в условиях имитации кровотока было продемонстрировано более успешное удержание ЭК на образцах, модифицированных bFGF (60%) [63]. Благодаря процедуре обертывания венозного трансплантата в желатиновом гидрогелевом листе, содержащем bFGF, улучшились их структурные и физиологические свойства, увеличилась выживаемость ЭК при имплантации лабораторным мышам относительно немодифицированных вен [64].

Многие другие ростовые факторы и хемоаттрактантные молекулы также используются в качестве агентов для модифицирования искусственных полимерных сосудистых протезов. В частности, достаточно интересен тромбоцитарный ростовой фактор *Platelet-derived growth factor (PDGF)* по причине его участия в эмбриональном и постнатальном периодах в дифференцировке, пролиферации, миграции клеток мезенхимального происхождения, в формировании и стабилизации кровеносных сосудов, в регенерации тканей [65–67]. Трансформирующий ростовой фактор (*Transforming growth factor beta, TGF-beta*), выделяясь во внеклеточную среду различными типами клеток, выполняет ряд функций, в том числе контролирует клеточную пролиферацию и дифференцировку, стимулирует ангиогенез [68].

Стромальный фактор (*Stromal cell-derived factor – 1 alpha, SDF-1α*) – хемоаттрактантная молекула, выполняющая множество важных функций в эмбриональном периоде и во взрослом организме. SDF-1α управляет миграцией разных типов клеток, привле-

кает и участвует в пролиферации эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга [69, 70]. По итогам имплантации в сонную артерию овец графтов, изготовленных из полиэстера с SDF-1α, было отмечено привлечение стволовых клеток, улучшение эндотелизации, снижение гиперплазии интимы и частоты тромбозов [72].

При модифицировании синтетических изделий для замещения сосудов малого диаметра могут применяться и несколько видов биологически активных молекул для запуска разносторонних эффектов, стимулирующих и поддерживающих эндотелизацию, способствующих ремоделированию тканей сосуда с образованием всех надлежащих тканевых слоев, присущих истинному сосуду. Так, послойное инкорпорирование комплекса (VEGF, bFGF и SDF-1α) в биодеградируемом сосудистом протезе из PHBV/PCL способствовало 100% проходимости и ранней полноценной эндотелизации графтов в экспериментах *in vivo* в отличие от образцов с каждым отдельно инкорпорированным фактором [72]. Доказано, что молекулы bFGF, SDF-1α поддержали устойчивое VEGF-индуцированное образование качественной эндотелиальной выстилки на внутренней поверхности сосудистого протеза. Высокая первичная проходимость в период 12-месячной имплантации крысам обеспечила формирование сосудистых тканей на месте биодеградируемого матрикса с одновременным снижением интенсивности кальцификации и отсутствием признаков иммунного отторжения [73].

### 3. ПОВЕРХНОСТНОЕ МОДИФИЦИРОВАНИЕ RGD-ПЕПТИДАМИ

Разрабатывается большое количество методов модифицирования внутренней поверхности искусственных сосудозамещающих изделий с целью получения функционально активного эндотелиального монослоя. К эффективному, но довольно спорному способу можно отнести эндотелизацию графтов аутологичными клетками *in vitro*. В данном случае увеличивается время изготовления клеточнозаселенного сосудистого протеза и его стоимость [74]. Такой графт непригоден к использованию в экстренной сердечно-сосудистой хирургии. В экстренных случаях более успешным вариантом может явиться бесклеточный модифицированный биодеградируемый графт, формирующий непосредственно в организме пациента микроокружение для привлечения клеток, участвующих в процессе эндотелизации. В области тканевой инженерии активно развивается такое направление, как поверхностное модифицирование полимерных сосудистых протезов, которое подразумевает создание биомиметической поверхности, схожей с архитектурой и функционалом природного экстрацеллюлярного матрикса.

## Экстрацеллюлярный матрикс и интегриновые рецепторы

Экстрацеллюлярный матрикс (ЭЦМ) состоит из сложного комплекса белков различной структуры и конфигурации, обладающей специфичностью соотношения состава основного гликопротеина – коллагена к другим гликопротеинам, протеогликанам и гиалуроновой кислоте для каждого вида тканей [75]. Основные функции ЭЦМ: формирует границы между группами клеток; выступает в роли среды для миграции клеток; благодаря факторам роста и белкам, содержащим сайты клеточной адгезии, осуществляет регуляцию поведения клеток. Сочетание данных функций также позволяет ЭЦМ поддерживать структурную иерархию в организации тканей [76]. Взаимодействие ЭЦМ и клеток обеспечивается через интегрин-опосредованную клеточную адгезию. Интегриновый рецептор представляет собой гетеродимер, состоящий из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц. Клетки человека в общей сложности имеют 18  $\alpha$ -субъединиц и 8  $\beta$ -субъединиц в разных вариациях, представляющих 24 вида трансмембранных рецепторов. Интегрин преобразует сигналы от лиганда в клетку, также происходит и обратная передача внутриклеточных сигналов в направлении на лиганд, что, в свою очередь, регулирует средство взаимосвязывания и силу взаимодействия [77–79]. В результате активируется множество сигнальных молекулярных каскадов, приводящих к структурным и физиологическим изменениям клетки, ответственных за поддержание направленной адгезии, пролиферации, опосредованной регуляции клеточного цикла [80]. В процессе эндотелизации внутренней поверхности волокнистого матрикса сосудозамещающего изделия принимают участие как клетки-предшественники, так и зрелые эндотелиальные клетки, циркулирующие в кровотоке и мигрирующие с концов анастомозов с нативным сосудом [81–83]. ЭК экспрессируют 13 видов интегринов, из которых в процессе адгезии с последующей эндотелизацией наиболее активно участвуют  $\beta 1$ -субсемейство,  $\alpha v \beta 3$  и  $\alpha v \beta 5$  [84]. Акцент на сопряженных к определенным интегриновым рецепторам белковых лигандах и их сайтах клеточной адгезии закладывает основу для разработки модифицирования внутренней поверхности тканеинженерных сосудозамещающих изделий с целью оптимизации взаимодействия клеток из пористого искусственного материала и стимуляции ускоренной эндотелизации. Для  $\beta 1$ -интегринов лигандом будет являться коллаген и ламинин, а сайтом связывания – пептидная последовательность Asp-Gly-Glu-Ala (DGEA), для ламинина дополнительно сайты распознавания – Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg (YIGSR), Arg-Gly-Asp (RGD) и некоторые другие. Интегрины  $\alpha v \beta 3$  и  $\alpha v \beta 5$  имеют сродство к фибронектину, фактору фон Виллебранда, фибулину,

остеопонтину, витронектину с адгезивной пептидной последовательностью RGD [85–87]. RGD-пептид можно считать общим интегрин-связывающим мотивом. Представительная универсальность RGD на ЭЦМ делает его максимально пригодным фактором модифицирования поверхности биодеградируемых полимерных матриксов. В научных изысканиях исследуются пептидные последовательности, полученные как в ходе процедуры экстракции из природного материала, так и искусственно синтезированные. Последние имеют некоторые преимущества: снижен риск иммунного ответа и инфекции, связанные с недостаточной степенью очистки материала. При сравнении функциональных свойств естественных RGD-содержащих белков и их искусственных аналогов последние оказались более эффективны [88].

Благодаря искусственному синтезу можно получить разнообразные конфигурации RGD-пептидов, обладающие разным потенциалом взаимодействия с клетками. Все количество изучаемых конфигураций можно разделить на 2 группы: нециклические (линейные) и циклические формы. Показано, что именно циклические RGD-пептиды специфически связываются с  $\alpha v \beta 3$  интегринными [89]. Лиганд может быть природного происхождения либо синтезирован (линкер). Контроль специфических взаимодействий между клеточными рецепторами и лигандами ЭЦМ является критическим аспектом в тканевой инженерии, так как обеспечивает эффективность клеточной миграции и адгезии [90]. Показано, что именно длина лиганда обеспечивает биодоступность RGD-пептидов для интегрин-опосредованного взаимодействия с клеткой и дальнейшей регуляции силы адгезии, скорости миграции [91]. Количество вариаций «полимерная композиция – линкер – RGD-пептид» достаточно велико, поэтому в настоящее время вопрос о приоритетном варианте модифицирования RGD-пептидами полимерных сосудистых протезов открыт.

## Виды конфигураций RGD и сопряженные с ними лиганды/линкеры

Синтезированный пептид GRGDDSP, иммобилизованный на PCL-графт посредством водостойкого биоадгезивного белка fr-151 мидий (MAP), при имплантации в сонную артерию кроликов показал свою эффективность. Такое покрытие улучшило эндотелизацию поверхности MAP-RGD-графтов путем активного привлечения зрелых и прогениторных эндотелиальных клеток, что обеспечило месячную проходимость почти в 70% случаев [92]. Акцент данной работы был поставлен на линкере MAP: искусственно синтезированная форма из природных компонентов оказалась более биосовместима, достаточно проста в получении относительно имеющихся коммерческих образцов [93].

В исследовании M.F.A. Cutiongco et al. (2015) было проведено сравнение *in vitro* и *ex vivo* циклической формы пептида cRGD (CRRGDWLC) и нециклического пептида RGDS, сшитых с поверхностью PVA-графтов (poly(vinyl alcohol) hydrogel) с помощью линкера, изготовленного через процедуру межфазного полиэлектролитного комплексообразования (IPC): формирование волокон из хитозана и альгината. В рамках данного исследования в качестве альтернативных модифицирующих агентов выступили фибронектин и гепарин [94]. Жизнеспособность эндотелиальных клеток пупочной вены человека (Human umbilical vein endothelial cells – HUVEC) на полимерных пленках с покрытием из фибронектина, RGDS и cRGD показала положительную тенденцию к улучшению клеточной выживаемости по сравнению с немодифицированными аналогами. При этом модифицирование гепарином было признано непригодным из-за сниженной адгезии и пролиферации эндотелиальных клеток. В ходе оценки гемосовместимости образцы, модифицированные фибронектином, были также исключены по причине активации тромбоцитов. Полимерные пленки с нециклическим RGDS демонстрировали активацию тромбоцитов в меньшей степени, чем пленки с фибронектином. Образцы с циклическим cRGD активировали отдельные тромбоциты, которые были лишь частично прикреплены псевдоподиями, что указало на низкую активацию тромбоцитов и представило данную модификацию как наиболее пригодную к дальнейшему тестированию *in vivo* [95].

В одном из исследований Samantha Noel et al. (2015) рассматривались синтезированные адгезивные пептидные последовательности CGGRGD, CGGYIGSR и CGGREDDV, иммобилизованные через полиэтиленгликоль-линкер (PEG) на поверхность полиэтилентерефталатных пленок с целью повышения атромбогенных свойств искусственного материала. Эффективность модифицированных вариантов полимерных пленок оценивали по показателям адгезии и жизнедеятельности культуры клеток HUVEC. Привитый REDV-пептид не улучшил адгезию эндотелиальных клеток, в то время как RGD-пептид и YIGSR-пептид значительно увеличили метаболическую активность клеточной культуры. Авторы отметили, что коиммобилизация пептидов RGD и YIGSR еще более усилила метаболическую активность HUVEC, что указало на синергизм между двумя последовательностями [96]. W.S. Choi et al. (2016) проводили поверхностное модифицирование через PEG-линкер гепарином, адгезивными пептидами GRGDS и YIGSR полимерного каркаса, изготовленного из смеси полиуретана (polyurethane, PU) и эластомера (Pellethane). В эксперименте *in vitro* было показано, что эффект RGD-пептида, оказываемый на адгезию и пролиферацию культуры клеток HUVEC,

был несколько выше, чем у YIGSR-пептида и образца с коиммобилизацией обоих пептидов. Имплантацию немодифицированных и модифицированных гепарином и двумя адгезивными пептидами графтов проводили кроликам на срок до 2 месяцев. По итогам эксперимента проходимость модифицированных образцов составила 71,4% против 46,2% у немодифицированных аналогов [97].

В одной из работ исследовательской группы под руководством Л.В. Антоновой (2015 г.), касающейся модифицирования биоразлагаемых графтов адгезивными пептидами, была рассмотрена конфигурация GRGDG [98]. PHBV/PCL-графты с инкорпорированным VEGF также подвержены поверхностному модифицированию. По итогам краткосрочной и долгосрочной имплантации графтов с RGD или VEGF в брюшную часть аорты лабораторным крысам авторами не было отмечено каких-либо существенных отличий в эволюции клеточности при формировании эндотелиального монослоя, который был более функционально зрел по сравнению с немодифицированными графтами. Оба вида модифицирования оказались достаточно эффективными [99]. В дальнейшем уже в 2019 году данная исследовательская группа представила результаты исследований *in vitro*, *in vivo*, в которых сравнивались результаты модифицирования различными конфигурациями RGD-пептидов и линкеров, иммобилизованными на поверхность PHBV/PCL-графтов. Рассматриваемые адгезивные пептидные последовательности: нециклические RGDK и AhRGD, циклический пептид c[RGDFK]. Сшивка пептидов с полимерным материалом производилась через линкеры разной длины и химического состава: короткий 1,6-hexamethylenediamine и длинный 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanediamine. Как и в исследовании M.F.A. Cutiongco et al. (2015), наиболее оптимальной конфигурацией явилась именно циклическая форма c[RGDFK], но существенное влияние на биодоступность молекулы как *in vitro*, так *in vivo* оказала длина линкерной группы. Адгезия колониеформирующих эндотелиальных клеток человека на образцах графтов, модифицированных c[RGDFK] через линкер 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanediamine, в несколько раз превысила таковую в сравнении с другими RGD-модифицированными образцами. Также удалось добиться более качественного эндотелиального монослоя на внутренней поверхности графтов, имплантированных лабораторным крысам, и 100% проходимости графтов на разных сроках имплантации (1 и 3 месяца). Одновременно гемосовместимые свойства такого материала были выше в сравнении с образцами, модифицированными тем же циклическим RGD-пептидом, но сшитым с полимерной поверхностью через короткий линкер – 1,6-hexamethylenediamine [100].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Факторам роста и адгезивным пептидным последовательностям, в особенности RGD, уделяется большое внимание в разных сферах разработок, основанных на селективном связывании с клетками-мишенями. Биологически активные молекулы – VEGF, bFGF и некоторые другие, интегрированные в состав материала сосудистого протеза, в исследованиях *in vitro* и *in vivo* показали свою эффективность. Применение нескольких факторов роста для модифицирования биodeградируемых сосудозамещающих изделий может привести к наиболее оптимальному новообразованию тканей истинного кровеносного сосуда на месте имплантата. Тропность к эндотелиальным клеткам делает RGD-пептиды и его конфигурации идеальными агентами для модифицирования поверхности тканеинженерных конструкций, контактирующих с кровью и требующих скорейшей эндотелизации поверхности. Скорость спонтанной эндотелизации, которую необходимо инициировать при имплантации искусственного кровеносного протеза малого диаметра, будет напрямую зависеть от биодоступности RGD-пептида, которую возможно обеспечить при помощи линкера определенной протяженности.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

*The authors declare no conflict of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- World health statistics 2016. Monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. *World Health Organization*. WHO Press. 2016; 64.
- Мировая статистика здравоохранения, 2017 г.: мониторинг показателей здоровья в отношении целей устойчивого развития. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2018. World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. Geneva: World Health Organization; 2018.
- Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*. 2006; 3 (11): 2011–2030.
- Cahill PA, Redmond EM. Vascular endothelium – Gatekeeper of vessel health. *Atherosclerosis*. 2016; 248: 97–109.
- Gimbrone MA, Garcia-Cardena G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. *Circ Res*. 2016; 118 (4): 620–636.
- Yurdagul AJr, Finney AC, Woolard MD, Orr AW. The arterial microenvironment: the where and why of atherosclerosis. *J Biochem*. 2016; 473 (10): 1281–1295.
- Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res*. 2014; 114: 1852–1866.
- Wilson CJ, Clegg RE, Leavesley DI, Percy MJ. Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review. *Tissue Eng*. 2005; 11: 1–18.
- Rocco KA, Maxfield MW, Best CA, Dean EW, Breuer CK. *In vivo* applications of electrospun tissue-engineered vascular grafts: a review. *Tissue Eng. Part B: Reviews*. 2014; 20 (6) 628–640.
- Shah SA, Chark D, Williams J, Hessheimer A, Huh J, Wu YC et al. Retrospective Analysis of Local Sensorimotor Deficits After Radial Artery Harvesting for Coronary Artery Bypass Grafting. *J Surg Res*. 2007; 139 (2): 203–208.
- Tara S, Rocco KA, Hibino N, Sugiura T, Kurobe H, Breuer CK et al. Vessel bioengineering. *CIRC J*. 2014; 78 (1): 12–19.
- Gatto C, Giurgola L, D'Amato Tothova J. A suitable and efficient procedure for the removal of decontaminating antibiotics from tissue allografts. *Cell Tissue Bank*. 2013; 14 (1): 107–115.
- Palumbo VD, Bruno A, Tomasello G, Damiano G, Lo Monte AI. Bioengineered vascular scaffolds: the state of the art. *Int J Artif Organs*. 2014; 37 (7): 503–512.
- Sankaran KK, Subramanian A, Krishnan UM, Sethuraman S. Nanoarchitecture of scaffolds and endothelial cells in engineering small diameter vascular grafts. *Bio-technol J*. 2015; 10 (1): 96–108.
- Wang X, Lin P, Yao Q, Chen C. Development of small-diameter vascular grafts. *World J Surg*. 2007; 31: 682–689.
- Jaspan VN, Hines GL. The current status of tissue-engineered vascular grafts. *Cardiology in Review*. 2015; 23 (5): 236–239.
- Tresoldi C, Pellegata AF, Mantero S. Cells and stimuli in small-caliber blood vessel tissue engineering. *Regen Med*. 2015. 10 (4): 505–527.
- Ravi S, Chaikof EL. Biomaterials for vascular tissue engineering. *Regen Med*. 2010; 5: 107–120.
- Doshi J, Reneker DH. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *J Electrostat*. 1995; 35 (2–3): 151–160.
- Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar DS. Polymeric scaffolds in tissue engineering application: A review. *Int J Polym Sci*. 2011; 1–19.
- Rim NG, Shin CS, Shin H. Current approaches to electrospun nanofibers for tissue engineering. *Biomed Mater*. 2013; 8: 014102.
- Greenwald SE, Berry CL. Improving vascular grafts: the importance of mechanical and haemodynamic properties. *J Pathol*. 2000; 190: 292–299.
- Бабаян АЛ. Поверхностная энергия полимеров (эластомерных композиций): сравнительный анализ значений поверхностной энергии с параметрами дефектности полимеров. *Научный журнал КубГАУ*. 2017; 131 (07). Babayan AL. Poverkhnostnaya energiya polimerov (elastomernykh kompozitsiy): sravnitel'nyy analiz znacheniy poverkhnostnoy energii s parametrami defektnosti polimerov. *Nauchnyy zhurnal KubGAU*. 2017; 131 (07).
- Shen H, Hu X, Yang F, Bei J, Wang S. Combining oxygen plasma treatment with anchorage of cationized

- gelatin for enhancing cell affinity of poly (lactide-co-glycolide). *Biomaterials*. 2007; 28: 4219–4230.
25. Meinhart JG, Schense JC, Schima H, Gorlitzer M, Hubbell JA, Deutsch M et al. Enhanced endothelial cell retention on shear-stressed synthetic vascular grafts pre-coated with RGD-cross-linked fibrin. *Tissue Eng*. 2005; 11 (5e6): 887–895.
  26. Fernandez P, Bareille R, Conrad V, Midy D, Bordenave L. Evaluation of an *in vitro* endothelialized vascular graft under pulsatile shear stress with a novel radiolabeling procedure. *Biomaterials*. 2001; 22 (7): 649–658.
  27. Feugier P, Black RA, Hunt JA, How TV. Attachment, morphology and adherence of human endothelial cells to vascular prosthesis materials under the action of shear stress. *Biomaterials*. 2005; 26 (13): 1457–1466.
  28. Антонова ЛВ, Севостьянова ВВ, Сейфалиан АМ, Матвеева ВГ, Великанова ЕА, Сергеева ЕА и др. Сравнительное тестирование *in vitro* биodeградируемых сосудистых имплантатов для оценки перспективы использования в тканевой инженерии. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2015; (4): 34–41. Antonova LV, Sevostyanova VV, Seifalian AM, Matveeva VG, Velikanova EA, Sergeeva EA et al. Comparative *in vitro* testing of biodegradable vascular grafts for tissue engineering applications. *Complex issues of cardiovascular diseases*. 2015; (4): 34–41. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17802/2306-1278-2015-4-34-41.
  29. Anderson JM. Biological responses to materials. *Annu Rev Mater Res*. 2001; 31: 81–110.
  30. Lee KW, Johnson NR, Gao J, Wang Y. Human progenitor cell recruitment via SDF-1 $\alpha$  coacervate-laden PGS vascular grafts. *Biomaterials*. 2013; 34 (38): 9877–9885.
  31. Gong W, Lei D, Li S, Huang P, Qi Q, Sun Y et al. Hybrid small-diameter vascular grafts: anti-expansion effect of electrospun poly  $\epsilon$ -caprolactone on heparin-coated decellularized matrices. *Biomaterials*. 2015; 76: 359–370.
  32. Ren X, Feng Y, Guo J, Wang H, Li Q, Yang J et al. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chem Soc Rev*. 2015; 44 (15): 5680–5742.
  33. Wang F, Li Y, Shen Y, Wang A, Wang S, Xie T. The functions and applications of RGD in tumor therapy and tissue engineering. *Int J Mol Sci*. 2013; 14 (7): 13447–13462.
  34. Harburger DS, Calderwood DA. Integrin signalling at a glance. *J Cell Sci*. 2009; (122): 159–163.
  35. Gomazkov OA. Endothelium – «Endocrine Tree». *Nature*. 2000; 5: 38–46.
  36. Kotsovolis G, Kallaras K. The role of endothelium and endogenous vasoactive substances in sepsis. *Hippokratia*. 2010; 14 (2): 88–93.
  37. Бабичев АВ. Роль эндотелия в механизмах гемостаза. *Педиатр*. 2013; 4 (1): 122–127. Babichev AV. Rol' endoteliya v mekhanizmaxh gemostaza. *Pediatr*. 2013; 4 (1): 122–127.
  38. Петрищев НН. Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции. СПб.: ИИЦ ВМА, 2007: 296. Petrishchev NN. Disfunktsiya endoteliya. Patogeneticheskoe znachenie i metody korrektsii. SPb.: IITs VMA, 2007: 296.
  39. Li H, Wallerath T, Forstermann U. Physiological mechanisms regulating the expression of endothelial-type NO synthase. *Nitric Oxide*. 2002; 7: 132–147.
  40. Bae CR, Hino J, Hosoda H, Arai Y, Son C, Makino H et al. Overexpression of C-type Natriuretic Peptide in Endothelial Cells Protects against Insulin Resistance and Inflammation during Diet-induced Obesity. *Sci Rep*. 2017; 7 (1): 9807.
  41. Hagensen MK, Vanhoutte PM, Bentzon JF. Arterial endothelial cells: still the craftsmen of regenerated endothelium. *Cardiovascular Res*. 2012; 95 (3): 281–289.
  42. Pi X, Xie L, Patterson C. Emerging Roles of Vascular Endothelium in Metabolic Homeostasis. *Circ Res*. 2018; 123 (4): 477–494.
  43. Mas M. A Close Look at the Endothelium: Its Role in the Regulation of Vasomotor Tone. *Eur Urol Suppl*. 2009; 8: 48–57.
  44. Gimbrone MA, Garcia-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2016; 118 (4): 620–636.
  45. Franses JW, Drosu NC, Gibson WJ, Chitalia VC, Edelman ER. Dysfunctional endothelial cells directly stimulate cancer inflammation and metastasis. *Int J Cancer*. 2013; 133 (6): 1334–144.
  46. Kotsovolis G, Kallaras K. The role of endothelium and endogenous vasoactive substances in sepsis. *Hippokratia*. 2010; 14 (2): 88–93.
  47. Briggs T, Arinze TL. Growth factor delivery from electrospun materials. *J Biomater Tissue Eng*. 2011; 1 (2): 129–138.
  48. Sevostyanova VV, Golovkin AS, Antonova LV, Glushkova TV, Barbarash OL, Barbarash LS. 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.
  49. Spano F, Quarta A, Martelli C, Ottobri L, Rossi RM, Gigli G et al. Fibrous scaffolds fabricated by emulsion electrospinning: from hosting capacity to *in vivo* biocompatibility. *Nanoscale*. 2016; 8 (17): 9293–9303.
  50. Антонова ЛВ, Матвеева ВГ, Великанова ЕА, Ханова МЮ, Севостьянова ВВ, Цепкина АВ и др. Оценка *in vitro* активности ростовых факторов и хемоаттрактантных молекул, инкорпорированных в полимерные матрицы на основе полигидроксипутирата/валерата и поликапролактона. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2018; 7 (2): 89–101. Antonova LV, Matveeva VG, Velikanova EA, Khanova MY, Sevostyanova VV, Tsepokina AV et al. *In vitro* activity of bioactive molecules incorporated into poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018; 7 (2): 89–101. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-2-89-101.
  51. Novosel EC, Kleinhans C, Kluger PJ. Vascularization is the key challenge in tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2011; 63 (4–5): 300–311.

52. Chen X, Wang J, An Q, Li D, Liu P, Zhu W et al. Electrospun poly(L-lactic acid-co-ε-caprolactone) fibers loaded with heparin and vascular endothelial growth factor to improve blood compatibility and endothelial progenitor cell proliferation. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*. 2015; 128: 106–114.
53. Maes C. Impaired angiogenesis and endochondral bone formation in mice lacking the vascular endothelial growth factor isoforms VEGF164 and VEGF188. *Mechanisms of Development*. 2002; 111 (1–2): 61–73.
54. Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*. 2011; 146: 873–887.
55. Miettinen M, Rikala MS, Rysz J, Lasota J, Wang ZF. Vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) as a marker for malignant vascular tumors and mesothelioma – immunohistochemical study of 262 vascular endothelial and 1640 nonvascular tumors. *Am J Surg Pathol*. 2012; 36 (4): 629–639.
56. Sevostyanova VV, Antonova LV, Velikanova EA, Krivkina EO, Glushkova TV et al. Endothelialization of Polycaprolactone Vascular Graft under the Action of Locally Applied Vascular Endothelial Growth Factor. *Bull Exp Biol Med*. 2018; 165 (2): 264–268.
57. Antonova LV, Sevostyanova VV, Kutikhin AG, Mironov AV, Krivkina EO, Shabaev AR et al. Vascular Endothelial Growth Factor Improves Physico-Mechanical Properties and Enhances Endothelialization of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/Poly(ε-caprolactone) Small-Diameter Vascular Grafts *In vivo*. *Front Pharmacol*. 2016; 7: 230.
58. Henry JJD, Yu J, Wang A, Lee R, Fang J, Li S. Engineering the mechanical and biological properties of nanofibrous vascular grafts for *in situ* vascular tissue engineering. *Biofabrication*. 2017; 9 (3): 035007.
59. Compagni A, Wilgenbus P, Impagnatiello MA, Cotten M, Christofori G. Fibroblast growth factors are required for efficient tumor angiogenesis. *Cancer Res*. 2000; 60: 7163–7169.
60. Itoh N, Ornitz DM. Evolution of the FGF and FGFR gene families. *Trends Genet*. 2004; 20: 563–569.
61. Yun YR, Won JE, Jeon E, Lee S, Kang W, Jo H et al. Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration. *J. Tissue Eng*. 2010; 1 (1): 218142.
62. Liu F, Li G, Deng L, Kuang B, Li X. The roles of FGF 10 in vasculogenesis and angiogenesis. *Biom Res*. 2017; 3: 1329–1332.
63. Conklin BS, Wu H, Lin PH, Lumsden AB, Chen C. Basic Fibroblast Growth Factor Coating and Endothelial Cell Seeding of a Decellularized Heparin-coated Vascular Graft. *Artificial Organs*. 2004; 28 (7): 668–675.
64. Haraguchi T, Okada K, Tabata Y, Maniwa Y, Hayashi Y, Okita Y. Controlled Release of Basic Fibroblast Growth Factor From Gelatin Hydrogel Sheet Improves Structural and Physiological Properties of Vein Graft in Rat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007; 27: 548–555.
65. Ghil JS, Chung HM. Evidence that platelet derived growth factor (PDGF) action is required for mesoderm patterning in early amphibian (*Xenopus laevis*) embryogenesis. *Int J Dev Biol*. 1999; 43 (4): 329–334.
66. Caplan AI, Correa DJ. PDGF in bone formation and regeneration: new insights into a novel mechanism involving MSCs. *J Orthop Res*. 2011; 29 (12): 1795–1803.
67. Delgado JJ, Sanchez E, Baro M, Reyes R, Evora C, Delgado A. A platelet derived growth factor delivery system for bone regeneration. *J Mater Sci Mater Med*. 2012; 29 (8): 1903–1912.
68. Yuan SM, Wang YQ, Shen Y, Jing H. Transforming growth factor-β in graft vessels: histology and immunohistochemistry. *Clinics*. 2011; 66 (5): 895–901.
69. Севастьянов ВИ, Курпичников МИ. Биосовместимые материалы. М.: МИА, 2011: 544 с. Sevastianov VI, Kirpichnikov MP. Biosovmestimye materialy. M.: MIA, 2011: 544.
70. Lewellis SW, Knaut H. Attractive guidance: how the chemokine SDF1/CXCL12 guides different cells to different locations. *Semin Cell Dev Biol*. 2012; 23 (3): 333–340.
71. De Visscher G. Improved endothelialization and reduced thrombosis by coating a synthetic vascular graft with fibronectin and stem cell homing factor SDF-1α. *Acta Biomaterialia*. 2012; 8 (3): 1330–1338.
72. Антонова ЛВ, Севостьянова ВВ, Кутихин АГ, Великанова ЕА, Матвеева ВГ, Глушкова ТВ и др. Влияние способа модифицирования трубчатого полимерного матрикса биомолекулами BFGF, SDF-1α и VEGF на процессы формирования *in vivo* тканеинженерного кровеносного сосуда малого диаметра. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (1): 96–109. Antonova LV, Sevost'yanova VV, Kutikhin AG, Velikanova EA, Matveeva VG, Glushkova TV i dr. Vliyanie sposoba modifitsirovaniya trubchatogo polimernogo matriksa biomolekulami BFGF, SDF-1α i VEGF na protsessy formirovaniya *in vivo* tkaneinzhenernogo krovenosnogo sosuda malogo diametra. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2018; 20 (1): 96–109.
73. Antonova LV, Sevostyanova VV, Mironov AV, Krivkina EO, Velikanova EA, Matveeva VG et al. *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.
74. McAllister TN, Maruszewski M, Garrido SA, Wystrychowski W, Dusserre N, Marini A et al. Effectiveness of haemodialysis access with an autologous tissueengineered vascular graft: a multicentre cohort study. *The Lancet*. 2009; 373 (9673): 1440–1446.
75. Kleinman HK, Philp D, Hoffman MP. Role of the extracellular matrix in morphogenesis. *Curr Opin Biotechnol*. 2003; 14 (5): 526–532.
76. Watt FM, Hogan BL. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science*. 2000; 287: 1427–1430.
77. Shimaoka M, Springer TA. Therapeutic antagonists and conformational regulation of integrin function. *Nat Rev Drug Discov*. 2003; 2: 703–716.

78. Rosso F, Giordano A, Barbarisi M, Barbarisi A. From cell-ECM interactions to tissue engineering. *J Cell Physiol.* 2004; 199: 174–180.
79. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell.* 1992; 69: 11–25.
80. Xiao Y, Truskey GA. Effect of receptor-ligand affinity on the strength of endothelial cell adhesion. *Biophys J.* 1996; 71: 2869–2884.
81. Talacua H, Smits AI, Muylaert DE, van Rijswijk JW, Vink A, Verhaar MC et al. In situ Tissue Engineering of Functional Small-Diameter Blood Vessels by Host Circulating Cells Only. *Tissue Eng. Part. A.* 2015; 21 (19–20): 2583–2594.
82. Melero-Martin JM, Khan ZA, Picard A, Wu X, Paruchuri S, Bischoff J. In vivo vasculogenic potential of human blood-derived endothelial progenitor cells. *Blood.* 2007; 109 (11): 4761–4768.
83. Hsia K, Yao CL, Chen WM, Chen JH, Lee H, Lu JH. Scaffolds and cell-based tissue engineering for blood vessel therapy. *Cells Tissues Organs.* 2016; 202 (5/6): 281–295.
84. Ruegg C, Dormond O, Mariotti A. Endothelial cell integrins and COX-2: mediators and therapeutic targets of tumor angiogenesis. *Biochim Biophys Acta.* 2004; 1654: 51–67.
85. Берман АЕ, Козлова НИ, Морозевич ГЕ. Интегрины как потенциальная мишень для целевой терапии рака. *Биомедицинская химия.* 2013; 59 (3): 239–248. Berman AE, Kozlova NI, Morozovich GE. Integrins as a potential target for targeted anticancer therapy. *Biochem.* 2013; 59 (3): 239–248. [In Russ, English abstract].
86. Weber LM, Hayda KN, Haskins K, Anseth KS. The effects of cell-matrix interactions on encapsulated beta-cell function within hydrogels functionalized with matrix-derived adhesive peptides. *Biomaterials.* 2007; 28 (19): 3004–3011.
87. Tashiro K, Sephel GC, Weeks B, Sasaki M, Martin GR, Kleinman HK et al. A synthetic peptide containing the IKVAV sequence from the chain of laminin mediates cell attachment, migration, and neurite outgrowth. *J Biol Chem.* 1989; 264 (27): 16174–16182.
88. Hsu SH, Chu WP, Lin YS, Chiang YL, Chen DC, Tsai CL. The effect of an RGD-containing fusion protein CBD-RGD in promoting cellular adhesion. *J Biotechnol.* 2004; 111 (2): 143–154.
89. Liu J, Cheng X, Tian X, Guan D, Ao J, Wu Z et al. Design and synthesis of novel dual-cyclic RGD peptides for  $\alpha v \beta 3$  integrin targeting. *Bioorg Med Chem Lett.* 2019; 29 (7): 896–900.
90. Discher DE, Mooney DJ, Zandstra PW. Growth factors, matrices and forces combine and control stem cells. *Science.* 2009; 324 (5935): 1673–1677.
91. Wu S, Du W, Duan Y, Zhang D, Liu Y, Wu B et al. Regulating the migration of smooth muscle cells by a vertically distributed poly (2-hydroxyethyl methacrylate) gradient on polymer brushes covalently immobilized with RGD peptides. *Acta Biomater.* 2018; 75: 75–92.
92. Kang TY, Lee JH, Kim BJ, Kang JA, Hong JM, Kim BS. In vivo endothelialization of tubular vascular grafts through in situ recruitment of endothelial and endothelial progenitor cells by RGD-fused mussel adhesive proteins. *Biofabrication.* 2015; 7 (1): 015007.
93. Hwang DS, Gim Y, Yoo HJ, Cha HJ. Practical ecombinant hybrid mussel bioadhesive fp-151. *Biomaterials.* 2007; 28 (24): 3560–3568.
94. Cutiongco MF, Choo RK, Shen NJ, Chua BM, Sju E, Choo AW et al. Composite Scaffold of Poly (Vinyl Alcohol) and Interfacial Polyelectrolyte Complexation Fibers for Controlled Biomolecule Delivery. *Front Bioeng Biotechnol.* 2015; 3: 3.
95. Cutiongco MF, Anderson DE, Hinds MT, Yim EK. In vitro and ex vivo hemocompatibility of off-the-shelf modified poly (vinyl alcohol) vascular grafts. *Acta Biomater.* 2015; 25: 97–108.
96. Noel S, Hachem A, Merhi Y, De Crescenzo G. Development of a Polyester Coating Combining Antithrombogenic and Cell Adhesive Properties: Influence of Sequence and Surface Density of Adhesion Peptides. *Biomacromolecules.* 2015; 16 (6): 1682–1694.
97. Choi WS, Joung YK, Lee Y, Bae JW, Park HK, Park YH et al. Enhanced Patency and Endothelialization of Small-Caliber Vascular Grafts Fabricated by Coimmobilization of Heparin and Cell-Adhesive Peptides. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2016; 8 (7): 4336–4346.
98. Sedaghati T, Jell G, Seifalian A. Investigation of Schwann cell behaviour on RGD-functionalised bioabsorbable nanocomposite for peripheral nerve regeneration. *New Biotechnol.* 2014; 31: 203–213.
99. Antonova LV, Seifalian AM, Kutikhin AG, Sevostyanova VV, Matveeva VG, Velikanova EA et al. Conjugation with RGD Peptides and Incorporation of Vascular Endothelial Growth Factor Are Equally Efficient for Biofunctionalization of Tissue-Engineered Vascular Grafts. *Int J Mol Sci.* 2016; 17 (11): 1920.
100. Antonova L, Silnikov V, Sevostyanova V, Yuzhalin A, Koroleva L, Velikanova E et al. Biocompatibility of Small-Diameter Vascular Grafts in Different Modes of RGD Modification. *Polymers.* 2019; 11 (1): 174.

Статья поступила в редакцию 9.07.2019 г.  
The article was submitted to the journal on 9.07.2019