

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-2-22-29>

# МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ СОСУДИСТЫХ ГРАФТОВ ФИБРИНОМ НЕ УМЕНЬШАЕТ ИХ ТРОМБОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

ВЕЛИКАНОВА Е.А.\*, ГЛУШКОВА Т.В., АКЕНТЬЕВА Т.Н., МАТВЕЕВА В.Г., ХАНОВА М.Ю., КРИВКИНА Е.О., КУДРЯВЦЕВА Ю.А., АНТОНОВА Л.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

## Резюме

**Цель** исследования - сравнить биосовместимость и параметры адгезии и агрегации тромбоцитов к поверхности полимерных сосудистых графтов малого диаметра из смеси поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона) без и с модификацией поверхности фибрином.

**Материалы и методы.** Графты диаметром 4 мм изготавливали методом электроспиннинга из поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона) в соотношении 1:2, растворенных в 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-пропанол. Коллаген I типа вводился в состав внутренней трети стенки графтов путем отдельной подачи полимерной смеси и раствора коллагена в двух отдельных шприцах с конечной концентрацией коллагена 5 мг/мл. Из крови условно здоровых доноров получали фибриноген методом криопреципитации. Стерильные полимерные каркасы пропитывали раствором фибриногена и погружали в тромбин-кальциевую смесь для полимеризации. Для оценки биосовместимости на поверхность графтов засекали культуру эндотелиальных клеток коронарной артерии человека, в дальнейшем оценивали плотность заселения клеток на основе окрашивания ядерным красителем DAPI и подсчета количества клеток на единицу площади поверхности. Для оценки гемосовместимости графты инкубировали с плазмой, полученной из свежей донорской цитратной крови. Измерение степени агрегации осуществ-

ляли с помощью анализатора агрегации тромбоцитов. Оценку морфологии поверхности, а также адгезии и активации тромбоцитов проводили с помощью сканирующей электронной микроскопии.

**Результаты.** Фибрин покрывал полимерный графт плотным слоем, образуя поверхность, пригодную для адгезии и роста клеток. Фибриновое покрытие повышало биосовместимость графта, что проявилось в увеличении плотности популяции эндотелиальных клеток, культивируемых на поверхности модифицированных графтов, по сравнению с немодифицированными. Показано, что покрытие поверхности фибрином не увеличивало агрегацию тромбоцитов, а также их адгезию и активацию по сравнению с немодифицированными образцами и таким образом не уменьшало тромборезистентность сосудистого графта. Полученные данные позволяют рассматривать модификацию фибрином как перспективный подход в разработке персонализированного сосудистого протеза малого диаметра.

**Заключение.** Модификация фибрином полимерных графтов из смеси поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата), поли(ε-капролактона) и коллагена увеличивает биосовместимость поверхности и не уменьшает тромборезистентность.

**Ключевые слова:** сосудистые графты малого диаметра, электроспиннинг, биосовместимость, эндотелиальные клетки, тромборезистентность.

## Для цитирования:

Великанова Е.А., Глушкова Т.В., Акентьева Т.Н., Матвеева В.Г., Ханова М.Ю., Кривкина Е.О., Кудрявцева Ю.А., Антонова Л.В. Модификация поверхности полимерных сосудистых графтов фибрином не уменьшает их тромборезистентность. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2020; 5(2): 22-29. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-2-22-29>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Великанова Елена Анатольевна, 650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый б-р, д.6. E-mail: [velikanova\\_ea@mail.ru](mailto:velikanova_ea@mail.ru)  
© Великанова Е.А. и др.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Источник финансирования**

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда

(грант №17-75-20004 «Разработка физиологически обоснованной технологии изготовления персонифицированного тканеинженерного сосудистого импланта малого диаметра in vitro в условиях имитации естественного кровотока с использованием клеточных технологий»).

**ORIGINAL RESEARCH**

# FIBRIN COATING OF POLYMER VASCULAR GRAFT DOES NOT REDUCE ITS THROMBORESISTANCE

Elena A. Velikanova \*\*, Tatiana V. Glushkova, Tatiana N. Akentyeva, Vera G. Matveeva, Mariam Yu. Khanova, Evgenia O. Krivkina, Yulia A. Kudryavtseva, Larisa V. Antonova

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

**Abstract**

**Aim.** To evaluate biocompatibility along with adhesion and aggregation of platelets on the surface of uncoated and fibrin-coated poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PHBV/PCL) small-diameter vascular grafts.

**Materials and Methods.** 4 mm diameter grafts were fabricated by electrospinning from PHBV/PCL (1:2) blend dissolved in 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol. Inner wall of the grafts was produced using co-electrospinning of the polymer blend and collagen type I (5 mg/mL) from two different syringes. Fibrinogen was obtained from the blood of healthy donors by a cryoprecipitation procedure. Sterile polymer scaffolds were impregnated into a fibrinogen solution and immersed in a thrombin/calcium chloride blend for polymerization. To assess the biocompatibility of the grafts, primary human coronary artery endothelial cells were seeded on the luminal surface and counted under a fluorescence microscope after nuclear staining. Hemocompatibility was tested by incubation of the grafts with human platelet-rich plasma. Platelet aggregation was assessed using a platelet aggregation analyser. Sur-

face morphology, platelet adhesion and activation were evaluated by scanning electron microscopy.

**Results.** Fibrin coating promoted cell adhesion and proliferation and improved the graft biocompatibility as evidenced by a higher number of endothelial cells. Fibrin coating did not increase platelet aggregation, adhesion, and activation and therefore did not reduce the thromboresistance of vascular graft.

**Conclusion.** The fibrin modification of polymer grafts from PHBV/PCL blend and collagen type I improves the surface biocompatibility and does not reduce its thromboresistance.

**Keywords:** small-diameter vascular grafts, electrospinning, biocompatibility, endothelial cells, thromboresistance.

**Conflict of Interest**

None declared.

**Funding**

This study was funded by Russian Science Foundation (grant № 17-75-20004 “Development of personalized tissue-engineered, small-diameter vascular graft in vitro under pulsatile flow conditions”).

◀ English

**For citation:**

Elena A. Velikanova, Tatiana V. Glushkova, Tatiana N. Akentyeva, Vera G. Matveeva, Mariam Yu. Khanova, Evgeniia O. Krivkina, Yulia A. Kudryavtseva, Larisa V. Antonova. Fibrin coating of polymer vascular graft does not reduce its thromboresistance. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2020;5(2): 22-29. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-2-22-29>

**\*\*Corresponding author:**

Dr. Elena A. Velikanova, 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation, E-mail: velikanova\_ea@mail.ru" velikanova\_ea@mail.ru  
© Elena A. Velikanova et al.

**Введение**

Одним из ведущих направлений тканевой инженерии является разработка тканеинженер-

ных протезов сосудов малого диаметра. Один из подходов к решению данной проблемы предполагает предварительное культивирование по-

лимерной основы с клетками с целью создания анализа структуры нативной ткани [1,2]. Минимальным требованием к такому протезу является создание на внутренней поверхности слоя эндотелиальных клеток, который, как ожидается, будет препятствовать тромбированию протеза, что на данный момент является одним из самых частых осложнений протезов такого типа. Преимуществом подхода можно считать то, что созданный слой начинает выполнять протективную функцию непосредственно сразу после имплантации [3, 4].

С этой точки зрения важнейшей задачей становится модификация поверхности полимерного каркаса с целью его наибольшей биосовместимости и способности поддерживать клеточную адгезию и жизнеспособность. Поскольку большинство используемых в тканевой инженерии материалов не обладает достаточными свойствами, используют различные варианты модификации поверхности, в том числе покрытие веществами и материалами, способными усиливать адгезию клеток. Таковыми могут быть различные белки внеклеточного матрикса – коллагены, фибронектин, биополимеры, обеспечивающие представление сайтов связывания (RGD-пептиды), или фибрин [5].

Фибрин в последнее время привлекает большое внимание с точки зрения использования в тканевой инженерии. Являясь естественным продуктом организма, он обладает абсолютной биосовместимостью, а кроме того, его применение соответствует концепции персонализированной медицины. Поскольку фибрин может быть получен из крови пациента, это позволяет избежать необходимости использования различных чужеродных белков, которые могут вызывать иммунологические реакции.

С учетом остро стоящей проблемы тромбирования протезов малого диаметра, очень важную роль приобретает оценка реакции тромбоцитов на произведенную модификацию поверхности. Поэтому целью работы явилась оценка биосовместимости фибринового покрытия, а также агрегации тромбоцитов, их адгезии и активации до и после модификации фибрином полимерного протеза.

Наиболее часто для оценки тромбогенности исследуемых материалов и поверхностей используют тромбоциты, которые являются ключевым звеном в системе гемостаза [6, 7]. Определение степени агрегации тромбоцитов крови после контакта с исследуемым материалом по-

зволяет с большой долей вероятности определить гемосовместимость материала.

## Материалы и методы

### *Создание полимерного графта*

Графты изготавливали методом электроспиннинга на приборе Nanop-01A (MECC) из поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) (Sigma-Aldrich) и поли(ε-капролактона) (Sigma-Aldrich) в соотношении 1:2, растворенных в 1,1,1,3,3,3-гексафлуоро-2-пропанол (Sigma-Aldrich). Коллаген I типа (Gibco) вводился в состав внутренней трети стенки графтов путем отдельной подачи смеси поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) с поли(ε-капролактоном) и раствора коллагена в 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-пропанол в двух отдельных шприцах с конечной концентрацией коллагена 5 мг/мл. Диаметр намоточного коллектора составил 4 мм. Для изготовления внутренней трети графтов использовалась игла калибра 27G, для изготовления других двух третей – 22G. Напряжение на игле составило 23 kV, скорость подачи раствора полимера – 0,3 мл/ч, скорость вращения коллектора – 200 об/мин, расстояние от иглы до намоточного коллектора – 15 см.

### *Модификация поверхности графтов фибрином*

На первом этапе из цитратной плазмы крови получали криопреципитат фибриногена. Для получения плазмы кровь с цитратом натрия центрифугировали 20 мин при 1000 G. Отобранную плазму фильтровали через фильтр 0,22 мкм, помещали в стерильные пробирки и замораживали при -20°C на сутки, медленно оттаивали при 4°C и центрифугировали 10 мин при 2000 G. Надосадок декантировали и полученный преципитат фибриногена растворяли в HEPES-буфере (pH 7,4) до концентрации фибриногена 20 мг/мл и вносили аprotинина 100 КИЕ/мл.

Стерильные полимерные каркасы пропитывали полученным раствором фибриногена и погружали в тромбин-кальциевую смесь (CaCl<sub>2</sub> 20мМ и 2U тромбина на 1 мл смеси в HEPES-буфере (pH 7,4)) для полимеризации. После полимеризации каркасы отмывали стерильным PBS и проводили UV стерилизацию в течение 30 минут.

### *Культивирование клеток*

Для проведения экспериментов была использована коммерческая культура первич-

ных эндотелиальных клеток коронарной артерии человека (human coronary artery endothelial cells, HCAEC) (Cell Applications). Согласно информации производителя, первичные эндотелиальные клетки человека были получены из артерий здоровых доноров с криоконсервацией на втором пассаже (500,000 клеток в базальной среде MesoEndo Cell Basal Medium (Cell Applications), содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки и 10% диметилсульфоксида). Клетки размораживали и культивировали согласно рекомендациям производителя в среде для роста клеток MesoEndo Cell Growth Medium (Cell Applications). Для заселения графтов использовали клетки 6–8 пассажей. Все эксперименты с клетками проводили в стерильных условиях, культивировали в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Полимерные графты стерилизовали замачиванием в 70% этиловом спирте в течение 60 минут. В подготовленные таким образом графты вводили суспензию клеток в концентрации 700 тыс./мл. Общее время культивирования графтов с клетками составило 7 суток. Проводили анализ на плотность заселения поверхности графта клетками. На окрашенных DAPI препаратах подсчитывали количество ядер в поле зрения, анализировали не менее 20 случайно выбранных полей зрения при увеличении x20. Полученные результаты пересчитывали на единицу площади и представляли как ед./мм<sup>2</sup>.

#### Агрегация

Настоящее исследование проводили согласно международным стандартам ISO 10993, в частности ISO 10993-4 [8]. Для исследования из свежей донорской цитратной крови путем центрифугирования получали обогащенную (ОТП) и бедную (БТП) тромбоцитами плазму. В качестве положительного контроля использовали интактную, обогащенную тромбоцитами плазму. Время контакта исследуемых образцов составило 3 мин. Измерения проводили как в спонтанном режиме, так и с индуктором агрегации тромбоцитов – аденозин 5'-дифосфатом (АДФ). Соотношение индуктора и ОТП составило 25 мкл + 250 мкл соответственно. Измерение степени агрегации осуществляли с помощью анализатора агрегации тромбоцитов – 4004 (АРАСТ, Беларусь).

#### Сканирующая электронная микроскопия

Структуру поверхности образцов до и после контакта с тромбоцитами изучали на сканирующем электронном микроскопе S-3400N

(Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума, при ускоряющем напряжении 5 кВ.

Для оценки степени адгезии тромбоцитов и степени трансформации адгезированных тромбоцитов образцы (n=3) размером 0,5 см<sup>2</sup> инкубировали в течение 2 ч при 37°C в 300 мкл обогащенной тромбоцитами плазме. Далее для удаления неадгезированных компонентов плазмы исследуемые образцы промывали фосфатно-солевым буферным раствором (рН-7,4).

Все образцы после контакта с кровью фиксировали в растворе в 2% растворе глутарового альдегида с постфиксацией в 1% растворе OsO<sub>4</sub>, после чего снова промывали PBS и дегидратировали в серии спиртов с восходящей концентрацией от 30% до 100% в течение 15 минут в каждом с последующим досушиванием при комнатной температуре. Затем образцы монтировали на специальные столики с помощью углеродного скотча и на их поверхности формировали токопроводящее Au/Pd покрытие при помощи вакуумной установки EM ACE200 (Leica Mikrosysteme GmbH, Австрия). Для исследования использовали 8 наиболее характерных полей, выбранных случайным образом. Адгезивную способность поверхности материалов оценивали по индексу деформации тромбоцитов, который рассчитывали по формуле [9-11]:

Индекс деформации = (Количество типа I x 1 + количество типа II x 2 + количество типа III x 3 + количество типа IV x 4 + количество типа V x 5) / общее количество тромбоцитов. Характеристики разных типов тромбоцитов представлены в **таблице 1**.

#### Статистическая обработка результатов

Обработку полученных данных проводили с помощью статистического пакета *GraphPad Prism* ver. 6.03 (*GraphPad Software, Inc., США*). Оценка распределения в группах проводилась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. В зависимости от нормальности распределения, результаты представлены в виде *средних значений и ошибки среднего* ( $M \pm m$ ) или медианы и квартилей ( $Me (25\%;75\%)$ ). Межгрупповые различия проанализированы при помощи критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты

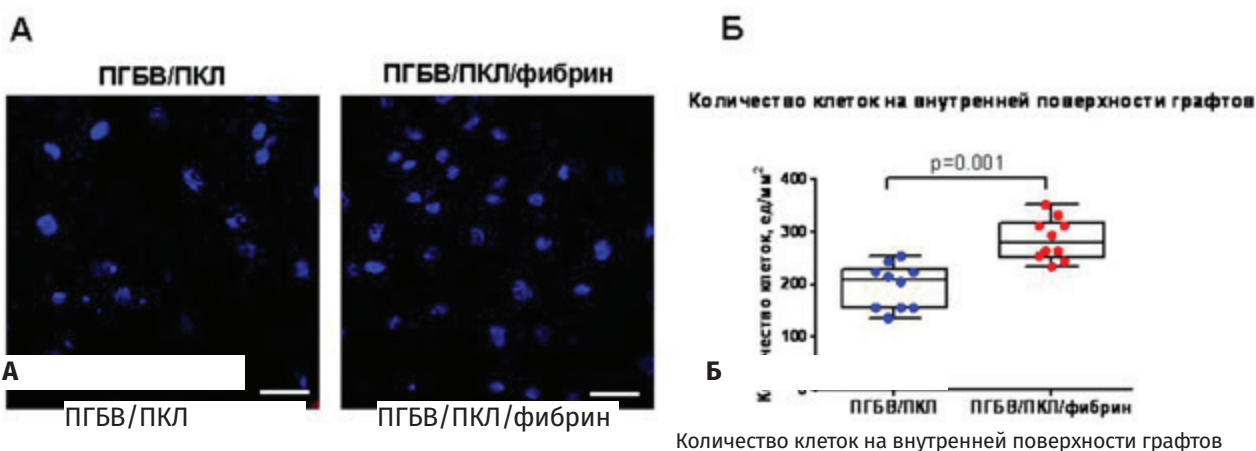
*Оценка плотности заселения поверхности графтов клетками.*

По результатам микроскопического анализа, графты, модифицированные фибрином, проде-

**Таблица 1.**  
Степени деформации тромбоцитов

Тип Type	Форма Platelet activation level
I	Тромбоцит дискообразной формы, без деформации <i>Round or discoid not deformed platelets</i>
II	Тромбоцит увеличен в размере с зачатками псевдоподий в виде выпячиваний <i>Dendritic platelets with early pseudopodia sticking out</i>
III	Тромбоцит значительно увеличен в размере, неправильной формы, с ярковыраженными псевдоподиями, тромбоциты скапливаются <i>Spread dendritic platelets with intermediate pseudopodia sticking out; congregating</i>
IV	Распластывание тромбоцита, цитоплазма распространяется между псевдоподиями <i>Flat platelets with cytoplasm expanding among pseudopodia</i>
V	Тромбоцит в виде пятна с гранулами, за счет распространения цитоплазмы псевдоподии не могут быть идентифицированы <i>Cytoplasm fully spreads; the shape of pseudopodia cannot be seen clearly</i>

**Table 1.**  
The platelet activation levels



**Рисунок 1.**

Плотность популяции эндотелиальных клеток на поверхности полимерных графтов. А - окраска DAPI, конфокальная микроскопия, ув. 200, масштабная линейка 50 мкм; Б - статистический анализ.

**Figure 1.**

Endothelial cell density on the graft surface. А - 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) staining, confocal microscopy, x200, scale bar = 50 μm; В - quantitative image analysis.

монстрировали более высокую биосовместимость по сравнению с немодифицированными аналогами. Показано, что после 7 суток культивирования количество клеток на поверхности графтов с фибрином составило 278,7 (251,8; 317,8) ед/мм<sup>2</sup>, что значимо (p=0,001) превышало значение данного показателя для немодифицированных графтов (210,3 (156,5; 229,8) ед/мм<sup>2</sup>). Кроме того, наблюдали более равномерное распределение клеток на поверхности графта в случае модифицированных образцов (рисунок 1).

*Агрегация тромбоцитов.*

При оценке степени агрегации тромбоцитов после контакта с графтами из PNBV/PCL было выявлено статистически значимое увеличение максимума агрегации относительно интактной ОТП только после добавления индуктора агрегации – АДФ (p < 0,05). При этом измерения ОТП в спонтанном режиме не показали значительной разницы. Модификация графтов фибрином увеличила уровень агрегации до 9,51% – в спонтанном режиме и до 83,98% – с индуктором АДФ относительно агрегации интактной ОТП, которая составила 6,49% – в спонтанном режиме и 78,32% – с

индуктором (p<0,05) (таблица 2).

*Морфология поверхности.*

Матрицы ПГБВ/ПКЛ, полученных с помощью электроспиннинга, сформированы хаотично расположенными нитями и образуют высокопористую поверхность. Анализ поверхности с помощью сканирующей электронной микроскопии показал, что фибрин образует на поверхности полимера сплошной слой, образованный плотным сплетением фибриновых волокон. Образованный слой полностью заполняет поры в стенке графта, формируя поверхность, пригодную для адгезии и культивирования клеток (рисунок 2).

*Адгезия тромбоцитов.*

По результатам сканирующей электронной микроскопии, на поверхности графтов без дополнительной обработки наблюдали единичные тромбоциты, или же они отсутствовали в поле зрения. По причине крупных пор тромбоциты выявлялись на волокнах на поверхности графта и в толще графта (рисунок 3). Встречались тромбоциты всех степеней трансформации, от I до V, с преобладанием III (таблица 3).

На поверхности графтов с фибрином тромбоциты отмечались в каждом поле зрения.

Вид образца Sample type	Максимум агрегации тромбоцитов, % Maximum platelet aggregation, %	
	В спонтанном режиме (M ± m) Spontaneous regimen (M ± m)	С индуктором АДФ (M ± m) Adenosine diphosphate (M ± m)
ПГБВ/ПКЛ PHBV/PCL	7,30±0,2	86,02±0,6*
ПГБВ/ПКЛ /фибрин PHBV/PCL/fibrin	9,51±0,7*	83,98±1,5*
Интактная ОТП Intact platelet-rich plasma	6,49±0,4	78,32±0,9

Таблица 2.

Степень агрегации тромбоцитов после контакта с графтами

Table 2.

The extent of platelet aggregation after the contact with graft surface

\* – p < 0,05 по сравнению с интактной ОТП

\* – p < 0,05 compared to intact platelet-rich plasma

Были представлены тромбоциты всех степеней трансформации, кроме I, с преобладанием тромбоцитов II степени.

По индексу деформации и количеству адгезированных тромбоцитов на 1 мм<sup>2</sup> достоверных различий между графтами без модификации и графтами с фибрином не выявлено (p>0,05).

## Обсуждение

Гемосовместимость материала подразумевает отсутствие выраженной реакции на инородный материал со стороны контактирующей с ним крови, в том числе адгезия тромбоцитов и их активация. В случае с протезами малого диаметра этот параметр является критичным с точки зрения успешности их имплантации и

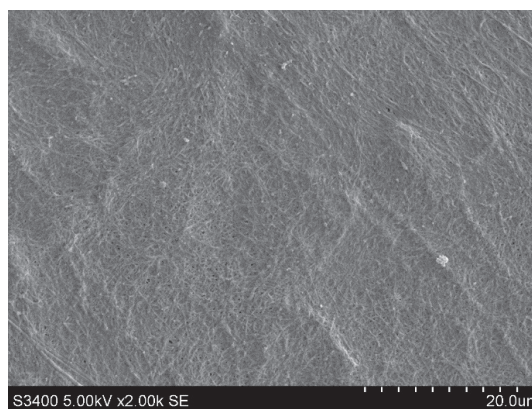


Рисунок 2.

Фибриновый слой на внутренней поверхности графта. Сканирующая электронная микроскопия, x2000

Figure 2.

Fibrin coating on the luminal surface. Scanning electron microscopy, x2000

долгосрочной проходимости, и основным препятствием для внедрения их в клинику. В связи с этим, разработанная с целью увеличения

Вид графта Graft type	Соотношение степеней деформации тромбоцитов, % Proportions of platelet activation levels, %					Индекс деформации Deformation index	Количество тромбоцитов на 1 мм <sup>2</sup> Number of platelets per mm <sup>2</sup>
	I	II	III	IV	V		
ПГБВ/ПКЛ PHBV/PCL	1,29	20,78	45,45	29,87	2,6	3,04 (2,78-3,26)	4238 (1541-5394)
ПГБВ/ПКЛ /фибрин PHBV/PCL/fibrin	0	42,24	24,14	20,69	12,93	2,53 (2,06-3,08)	2119 (963,2-12619)

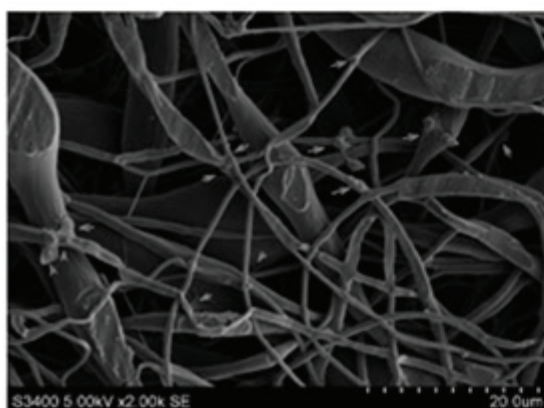
Таблица 3.

Процентное соотношение степеней деформации тромбоцитов и индекс деформации

Table 3.

Platelet activation level and platelet deformation index

ПГБВ/ПКЛ



ПГБВ/ПКЛ /фибрин

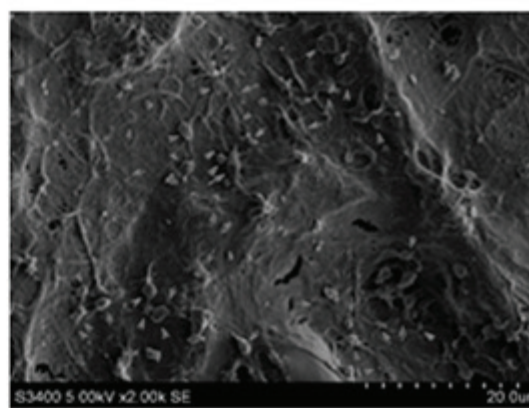


Рисунок 3.

Поверхность графтов после контакта с кровью. Сканирующая электронная микроскопия, x2000.

Figure 3.

Graft surface after contact with blood. Scanning electron microscopy, x2000.

адгезии клеток модификация поверхности не должна увеличивать ее тромбогенность.

Результаты сканирующей электронной микроскопии показали формирование на поверхности полимерного сосудистого графта, потенциально пригодного для культивирования клеток. Биосовместимость фибринового покрытия подтверждалась успешным культивированием на его поверхности эндотелиальных клеток с более высокой плотностью культуры по сравнению с немодифицированным аналогом.

Было выявлено некоторое увеличение агрегации тромбоцитов после контакта с графтами, однако при этом не было значимого различия между модифицированными и немодифицированными образцами. Таким образом, можно заключить, что фибриновый слой не увеличивал реакцию тромбоцитов.

Аналогичная тенденция наблюдалась при изучении адгезии тромбоцитов к поверхности и их активации. Отмечалось, что тромбоциты несколько чаще встречались на модифи-

цированных образцах, чем на немодифицированных, однако это может быть связано с тем, что фибрин образует относительно ровную поверхность, что облегчает нахождение тромбоцитов при микроскопическом анализе. По количеству тромбоцитов на поверхности не было обнаружено различий между образцами. Также образцы не отличались по индексу деформации тромбоцитов, однако было отмечено, что для графтов с фибрином более характерны тромбоциты II степени (для графтов без фибрина – III), что может рассматриваться как тенденция к уменьшению реакции тромбоцитов после модификации фибрином.

## Заключение

Таким образом, с учетом улучшения биосовместимости поверхности, а также отсутствия значимого ухудшения тромборезистентности, фибриновое покрытие может использоваться для модификации полимерных протезов малого диаметра.

## Литература / References:

1. Taggart DP. Current status of arterial grafts for coronary artery bypass grafting. *Ann Cardiothorac Surg.* 2013;2(4):427-430. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2225-319X.2013.07.21>
2. Fisher MB, Mauck RL. Tissue engineering and regenerative medicine: recent innovations and the transition to translation. *Tissue Engineering Part B Reviews.* 2013;19(1):1-13. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2012.0723>
3. Melchiorri AJ, Hibino N, Fisher JP. Strategies and techniques to enhance the in situ endothelialization of small-diameter biodegradable polymeric vascular grafts. *Tissue Eng Part B Rev.* 2013;19(4):292-307. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2012.0577>
4. Chen L, Yan C, Zheng Z. Functional polymer surfaces for controlling cell behaviors. *Materialstoday.* 2018;21(1):38-59. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matod.2017.07.002>. Accessed: April 27, 2020.
5. Arimura S, Kawahara K, Biswas KK, Abeyama K, Tabata M, Shimoda T, Ogomi D, Matsusaki M, Kato S, Ito T, Sugihara K, Akashi M, Hashiguchi T, Maruyama I. Hydroxyapatite formed on/in agarose gel induces activation of blood coagulation and platelets aggregation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007;81(2):456-61. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30684>
6. Ren X, Feng Y, Guo J, Wang H, Li Q, Yang J, Hao X, Lv J, Ma N, Li W. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chem Soc Rev.* 2015;44(15):5680-5742. <https://doi.org/10.1039/c4cs00483c>
7. Jung F, Braune S, Lendlein A. Haemocompatibility testing of biomaterials using human platelets. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2013;53(1-2):97-115. <https://doi.org/10.3233/CH-2012-1579>
8. ГОСТ Р ИСО 10993-4-2009. Группа Р20. Национальный стандарт Российской Федерации Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 4. Исследования изделий, взаимодействующих с кровью: национальный стандарт Российской Федерации. Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. М.: Стандартинформ; 2010:IV. Ссылка активна на 25.04.2020 [Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 4. Selection of tests for interactions with blood: .natsional'nyy standart Rossiyskoy Federatsii GOST R ISO 10993-4-2009 : vzamen GOST 10993.4-99 : vveden 2010-09-01. Federal'noe agentstvo po tekhnicheskomu regulirovaniyu i metrologii. Moscow: Standartinform; 2010:IV. (In Russ.)] Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200078398>. Accessed: 25 April, 2020.
9. Kundu B, Schlimp CJ, Nürnberger S, Redl H, Kundu SC. Thromboelastometric and platelet responses to silk biomaterials. *Sci Rep.* 2014;4:4945. <https://doi.org/10.1038/srep04945>
10. Laloy J, Haguët H, Alpan L, Raichman D, Dogné JM, Lellouche JP. Impact of functional inorganic nanotubes f-INTs-WS<sub>2</sub> on hemolysis, platelet function and coagulation. *Nano Converg.* 2018;5(1):31. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40580-018-0162-1>. Accessed: 27 April, 2020.
11. Laloy J, Minet V, Alpan L, Mullier F, Beken S, Toussaint O, Lucas S, Dogné JM. Impact of Silver Nanoparticles on Haemolysis, Platelet Function and Coagulation. *Nanobiomedicine (Rij).* 2014;1:4. <https://doi.org/10.5772/59346>

## Сведения об авторах

**Великанова Елена Анатольевна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

**Вклад в статью:** планирование эксперимента, проведение культуральных работ, написание статьи.

**ORCID:** 0000-0002-1079-1956

**Глушкова Татьяна Владимировна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

**Вклад в статью:** сканирующая электронная микроскопия, участие в написании текста статьи.

**ORCID:** 0000-0003-4890-0393

**Акентьева Татьяна Николаевна**, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

**Вклад в статью:** оценка агрегации тромбоцитов, участие в написании текста статьи.

**ORCID:** 0000-0002-0033-9376

**Матвеева Вера Геннадьевна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

**Вклад в статью:** изготовление модифицированных образцов, проведение культуральных работ.

**ORCID:** 0000-0002-4146-3373

**Ханова Марьям Юриевна**, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

**Вклад в статью:** изготовление модифицированных образцов, проведение культуральных работ.

**ORCID:** 0000-0002-8826-9244

**Кривкина Евгения Олеговна**, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

**Вклад в статью:** изготовление графтов методом электроспиннинга.

**ORCID:** 0000-0002-2500-2147

**Кудрявцева Юлия Александровна**, доктор биологических наук, заведующая отделом экспериментальной и клинической кардиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

**Вклад в статью:** организация и контроль за проведением эксперимента.

**ORCID:** 0000-0002-6134-7468

**Антонова Лариса Валерьевна**, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

**Вклад в статью:** участие в написании текста статьи, организация и контроль за проведением эксперимента.

**ORCID:** 0000-0002-8874-0788

Статья поступила: 29.03.2020г.

Принята в печать: 29.05.2020г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## Authors

**Dr. Elena A. Velikanova**, PhD, Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Вклад в статью:** conceived and designed the study; performed the cell culture experiments; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-1079-1956

**Dr. Tatiana V. Glushkova**, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Novel Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Вклад в статью:** performed the scanning electron microscopy; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0003-4890-0393

**Mrs. Tatiana N. Akentyeva**, MSc, Junior Researcher, Laboratory for Novel Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Вклад в статью:** performed the platelet aggregation test; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-0033-9376

**Dr. Vera G. Matveeva**, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Вклад в статью:** performed the fibrin coating and cell culture experiments.

**ORCID:** 0000-0002-4146-3373

**Ms. Mariam Yu. Khanova**, MSc, Junior Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Вклад в статью:** performed the fibrin coating and cell culture experiments.

**ORCID:** 0000-0002-8826-9244

**Ms. Evgenia O. Krivkina**, MSc, Junior Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Вклад в статью:** fabricated the vascular grafts.

**ORCID:** 0000-0002-2500-2147

**Dr. Yulia A. Kudryavtseva**, DSc, Head of the Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Вклад в статью:** organized the study.

**ORCID:** 0000-0002-6134-7468

**Dr. Larisa V. Antonova**, MD, DSc, Head of the Laboratory for Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Вклад в статью:** wrote the manuscript, organized the study.

**ORCID:** 0000-0002-8874-0788

Received: 29.03.2020

Accepted: 29.05.2020

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.