

DOI 10.23946/2500-0764-2017-2-4-6-13

РАЗДЕЛЬНАЯ ПОДАЧА КОЛЛАГЕНА I ТИПА И ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТА-КО-3-ГИДРОКСИВАЛЕРАТА)/ПОЛИ(ε-КАПРОЛАКТОНА) ПРИ ЭЛЕКТРОСПИННИНГЕ ПОВЫШАЕТ БИОСОВМЕСТИМОСТЬ СОСУДИСТЫХ ГРАФТОВ: ТЕСТИРОВАНИЕ *IN VITRO*

ВЕЛИКАНОВА Е.А., АНТОНОВА Л.В., СЕВОСТЬЯНОВА В.В., КУТИХИН А.Г., ГЛУШКОВА Т.В., МАТВЕЕВА В.Г., КРИВКИНА Е.О., БАРБАРАШ О.Л., БАРБАРАШ Л.С.

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

ORIGINAL ARTICLE

SEPARATE FEED OF TYPE I COLLAGEN SOLUTION AND POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE)/POLY(ε-CAPROLACTONE) BLEND DURING ELECTROSPINNING INCREASES BIOCOMPATIBILITY OF VASCULAR GRAFTS: *IN VITRO* TESTING

ELENA A. VELIKANOVA, LARISA V. ANTONOVA, VICTORIA V. SEVOSTYANOVA, ANTON G. KUTIKHIN, TATIANA V. GLUSHKOVA, VERA G. MATVEEVA, EVGENIYA O. KRIVKINA, OLGA L. BARBARASH, LEONID S. BARBARASH

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002), Russian Federation

Резюме

Цель. Сравнить структурные характеристики и биомеханические свойства сосудистых графтов из смеси поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона) с коллагеном I типа при совместной и отдельной подаче растворов данных полимеров в процессе электроспиннинга, а также параметры адгезии и жизнеспособности эндотелиальных клеток к обоим типам графтов.

Материалы и методы. Графты диаметром 4 мм (для оценки морфологии и биомеханических свойств) или 8 мм (для анализа адгезии и жизнеспособности эндотелиальных клеток) изготавливались методом электроспиннинга. Структура поверхности графтов изучалась при помощи сканирующей электронной микроскопии, биомеханические свойства графтов (прочность, эластичность, жесткость, характер кривой «растяжение-деформация») определялись посредством одноосного растяжения на универсальной испытательной машине, адгезия и жизнеспособность эндотелиальных кле-

ток на поверхности графтов оценивались путем флуоресцентной микроскопии после окрашивания Hoechst 33342/РКН26 и акридиновым оранжевым/бромистым этидием соответственно.

Результаты. Графты, изготовленные с отдельной подачей смеси поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) с поли(ε-капролактоном) и раствора коллагена I типа, характеризовались локализацией поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона) в стержне волокон, а коллагена – в оболочке волокон. Это позволило увеличить биосовместимость данного типа графтов, что выразилось в повышении адгезии эндотелиальных клеток к графтам более чем в 5 раз, а жизнеспособности эндотелиальных клеток на поверхности графтов – более чем в 1,5 раза. Таким образом, количество живых клеток на поверхности графтов, изготовленных при помощи отдельной подачи растворов, увеличилось более чем в 8 раз. Оба типа графтов продемонстрировали повышенные прочность, эла-

стичность и жесткость в сравнении с внутренней грудной артерией.

Заключение. Раздельная подача смеси поли(3-гидроксибутирата-ко-3-гидроксивалерата) с поли(ε-капролактоном) и коллагена I типа в процессе электроспиннинга значительно

увеличивает биосовместимость сосудистых графтов при сохранении их биомеханических свойств.

Ключевые слова: сосудистые графты, коллаген I типа, электроспиннинг, биосовместимость, эндотелиальные клетки.

Abstract

Aim. To compare structural and tensile properties of electrospun vascular grafts fabricated of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly(ε-caprolactone) blend and type I collagen solution utilizing either joint or separate feed of these polymers, and to further evaluate adhesion and viability of endothelial cells on both types of the grafts.

Materials and Methods. Either 4 mm or 8 mm diameter electrospun grafts were assessed by scanning electron microscopy and uniaxial tension test following culture of human umbilical vein endothelial cells on the graft surface, either Hoechst 33342/PKH26 or acridine orange/ethidium bromide staining, and fluorescence microscopy.

Results. Grafts fabricated using the separate feed had poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly(ε-caprolactone) blend and type I collagen

located in core and sheath of electrospun fibers, respectively. This two-layer structure of fibers resulted in 5-fold increase in adhesion and 1.5-fold increase in viability of endothelial cells cultured on the graft surface; therefore, the total number of viable endothelial cells increased more than 8-fold. Both types of the grafts demonstrated higher durability and elasticity compared to internal mammary artery, a widely applied vascular conduit.

Conclusion. Separate feed of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly(ε-caprolactone) blend and type I collagen solution significantly increases the biocompatibility of the electrospun vascular grafts while not affecting their mechanical competence.

Keywords: vascular grafts, type I collagen, electrospinning, biocompatibility, endothelial cells.

◀ English

Введение

Поскольку использование сосудистых протезов из синтетических биостабильных полимеров (политетрафторэтилена, полиэтилентерефталата или полиуретанов) при реконструкции сосудов диаметром меньше 6 мм чрезвычайно затруднительно вследствие высокого риска тромбоза и гиперплазии неоинтимы, на протяжении последнего десятилетия главной целью сосудистой тканевой инженерии является создание графта малого диаметра (менее 6 мм). Современная сосудистая тканевая инженерия основывается на использовании трех компонентов: биологически совместимого материала, клеток и биомеханической стимуляции. При этом создаваемый полимерный графт должен как выдерживать механическую нагрузку пульсирующего потока крови, так и обладать высокой биосовместимостью для эффективной адгезии эндотелиальных прогениторных клеток из кровотока. Синтетические биodeградируемые полимеры обладают привлекательными биомеханическими свойствами, низкой иммуногенностью и высокой тех-

нологичностью, однако их гидрофобность и отсутствие сайтов клеточной адгезии препятствуют адгезии и пролиферации клеток [1]. В то же время природные полимеры обладают высокой биосовместимостью и в организме полностью подвергаются постепенной деградации до нетоксичных веществ, однако они вызывают выраженный иммунный ответ, обладают низкой технологичностью, и их биомеханические свойства далеки от таковых у нативных кровеносных сосудов [1-3]. Поэтому в настоящее время оптимальным подходом для выбора биоматериалов с целью изготовления сосудистых графтов признается комбинирование синтетических и природных полимеров [1, 2, 4].

Коллаген I типа, как и многие другие белки внеклеточного матрикса, содержит в своей структуре трипептид RGD (аргинин-глицин-аспарагиновая кислота), который является лигандом для интегринов и, следовательно, стимулирует клеточную адгезию [5]. При этом коллаген I типа является самым распространенным белком внеклеточного матрикса и, в отличие от обладающих более высоким сред-

ством к интегрину фибронектина и витронектина, способен применяться при изготовлении графтов методом электроспиннинга [6, 7]. Раздельная подача полимерных растворов в процессе электроспиннинга позволяет изготавливать волокна, центральная часть которых содержит синтетический полимер (к примеру, поли(ε-капролактон)), обеспечивающий хорошие биомеханические свойства, а оболочка – коллаген I типа, придающий графту высокую биосовместимость [6-10]. Также было показано, что иммобилизация коллагена на поверхность матриксов из поли(ε-капролактона) путем карбодиимидного связывания значительно повышает гидрофильность и адгезию фибробластов [11].

Цель исследования

Сравнить морфологию и биомеханические свойства сосудистых графтов из смеси поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона) с коллагеном I типа при совместной и раздельной подаче растворов данных полимеров в процессе электроспиннинга, а также адгезию и жизнеспособность эндотелиальных клеток к поверхности обоих данных типов графтов.

Материалы и методы

Изготовление сосудистых графтов

Графты изготавливали методом электроспиннинга на приборе Nanon-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 в двух режимах: посредством совместной подачи в составе общего полимерного раствора в концентрации 5 мг/мл и путем раздельной подачи смеси поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) с поли(ε-капролактоном) и раствора коллагена в 1,1,1,3,3,3-гексафлуоро-2-пропанол в двух отдельных шприцах с конечной концентрацией коллагена 5 мг/мл. При изготовлении графтов для сканирующей электронной микроскопии и оценки биомеханических свойств диаметр намоточного коллектора составил 4 мм (n = 6 в каждой группе), а для проведения культуральных работ – 8 мм (n = 5 в каждой группе). Для изготовления внутренней трети графтов использовалась иг-

ла 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.

Изучение структуры поверхности

Структуру поверхности графтов изучали методом сканирующей электронной микроскопии в условиях высокого вакуума на микроскопе Hitachi S-3400N (Hitachi).

Исследование биомеханических свойств

Оценку механических свойств графтов в продольном и поперечном направлении проводили в условиях одноосного растяжения в соответствии с ГОСТ Р ИСО 7198-2013, используя образцы в виде трубок. В качестве контроля использовали нативную внутреннюю грудную артерию человека, поскольку она является «золотым стандартом» шунта, используемого при аортокоронарном шунтировании [12]. Образцы внутренней грудной артерии забирали во время проведения операции у пациентов, подписавших протокол информированного согласия на забор материала. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний». Испытания проводились на универсальной испытательной машине Zwick/Roell (Zwick Roell Group), с использованием датчика с номинальной силой 50 Н и скоростью перемещения траверсы 50 мм/мин.

Предел прочности материала оценивали как максимальное напряжение при растяжении (МПа) до начала разрушения. Упруго-деформативные свойства материала оценивали по относительному удлинению до начала разрушения образца (%) и модулю Юнга (МПа), который определяли в диапазоне физиологического давления (80-120 мм рт. ст.).

Оценка биосовместимости матриксов in vitro

Для оценки адгезии клеток к матриксам, изготовленных путем совместной и раздельной подачи раствора, использовали эндотелиальные клетки пупочной вены человека (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC). HUVEC выделяли согласно адаптированному протоколу Jaffe с соавт. [13]. Последующее культивирование клеток проводили с использованием наборов Endothelial Cell Culture

Medium Kit (BD Biosciences), в эксперименте использовали культуру HUVEC пятого пассажа. Образцы стерильных матриц (n = 15 для каждой группы) с помощью 0,6% раствора агарозы (Helicon) фиксировали на дно стерильных 24-луночных культуральных планшетов. На образцы матриц вносили по $2,5 \times 10^5$ клеток и культивировали в течение 8 суток. Абсолютное количество адгезированных клеток на 1 мм^2 поверхности оценивали с помощью флуоресцентной микроскопии (Axio Observer Z1, Carl Zeiss). С этой целью за 2 часа до окончания срока культивирования клеток в среду вносили мембранный флуоресцентный краситель RKN26 в количестве 2 мкг/мл среды, за 30 мин до микроскопического исследования добавляли ядерный флуоресцентный краситель Hoechst 33342 в количестве 2 мкг/мл среды. Для подготовки образцов к микроскопии их отделяли от агарозы и переносили в стерильный 24-луночный планшет клетками вниз. Подсчет количества клеток проводился в 10 различных полях зрения при увеличении $\times 200$ с последующим пересчетом на 1 мм^2 изучаемой поверхности.

Долю живых и мертвых клеток на матрицах исследовали также с помощью флуоресцентной микроскопии (AxioImager A1, Carl Zeiss; LSM 700, Carl Zeiss) после комбинированного окрашивания образцов бромистым этидием (EtBr) в концентрации 0,03 мг/мл (оранжевое окрашивание ядер погибших клеток) и 0,4% раствором акридинового оранжевого в фосфатно-солевом буфере (зеленое окрашивание цитоплазмы всех клеток). Красители вносили на образцы за 3 минуты до микроскопии. Пробоподготовку и подсчет количества живых и мертвых клеток проводили аналогично описанному ранее способу. Долю живых клеток рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ живых клеток} = \left(\frac{\text{количество жизнеспособных клеток на } 1 \text{ мм}^2 \text{ поверхности}}{\text{количество клеток на } 1 \text{ мм}^2 \text{ поверхности}} \right) \times 100\%$$

Статистический анализ

Статистический анализ результатов был выполнен при помощи программы GraphPad Prism 6 (GraphPad Software). Поскольку объем выборки был недостаточен для оценки нормальности распределения, условно было принято, что данные имеют распределение, отличное от нормального. Поэтому данные были представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Межгрупповое сравнение проводилось посредством критерия Краскала-Уоллиса в случае

трех групп и U-критерия Манна-Уитни в случае двух групп. В случае выявления статистически значимых различий (вероятность отвергнуть верную нулевую гипотезу $p \leq 0,05$) между тремя группами осуществлялось последующее попарное сравнение групп с использованием критерия Данна. Статистически значимыми признавались полученные по критерию Данна либо по U-критерию Манна-Уитни р-значения $\leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Сканирующая электронная микроскопия показала, что сосудистые графты, изготовленные при помощи как совместной, так и раздельной подачи смеси поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) с поли(ε-капролактоном) и раствора коллагена I типа обладали высокопористой структурой с толщиной стенки 300-350 мкм и гомогенными, хаотично переплетенными волокнами диаметром от 0,7 до 3,0 мкм (**рисунок 1**). При раздельной подаче растворов было выявлено, что коллаген значительно более интенсивно обволакивал полимерные нити, не закупоривая при этом просвета пор, однако уменьшая их диаметр (медиана диаметра пор при совместной и раздельной подаче 15,0 и 8,0 мкм соответственно, **рисунок 1**). Таким образом, именно раздельная подача растворов в процессе электроспиннинга позволила создать волокна со смесью поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона), обеспечивающей биомеханическую компетентность графтов, в стержневой части волокон, и коллагеном I типа, придающим графтам биосовместимость, в оболочке волокон.

Далее была выполнена оценка биомеханических свойств графтов, изготовленных с совместной либо раздельной подачей коллагена I типа со смесью поли(3-гидроксibuтирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона), в сравнении с внутренней грудной артерией (**рисунок 1**). Было выявлено, что по прочностным свойствам оба типа графтов не уступали внутренней грудной артерии, а по эластичности — значительно превосходили ее, причем раздельная подача растворов делала графты прочнее и эластичнее в сравнении с совместной подачей (**рисунок 2А**). К сожалению, жесткость графтов была многократно выше, чем у внутренней грудной артерии, без статистически значимых

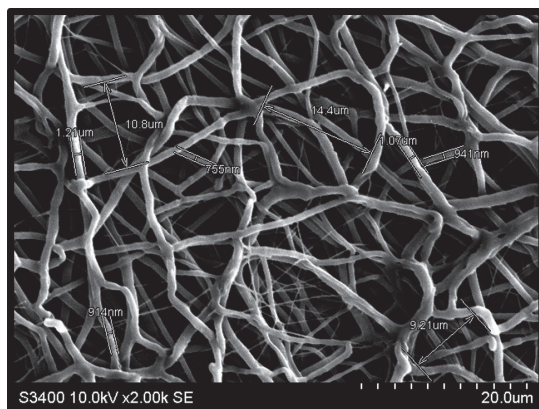
Рисунок 1.

Сканирующая электронная микроскопия сосудов графтов, изготовленных методом электроспиннинга с совместной либо раздельной подачей коллагена I типа со смесью поли(3-гидроксибутирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона), ув. x2000

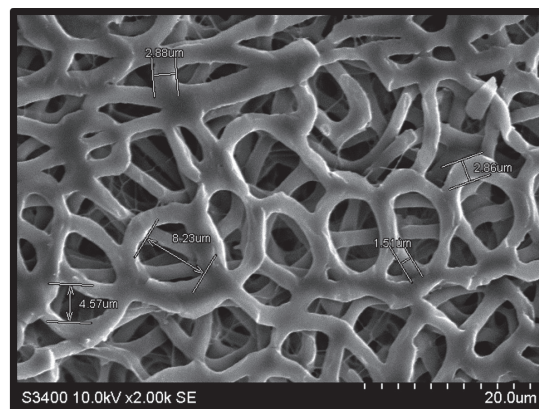
Figure 1.

Scanning electron microscopy of the electrospun vascular grafts fabricated via either joint or separate feed of type I collagen solution and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly(ε-caprolactone) blend, x2000

Совместная подача



Раздельная подача



различий между типами графтов (рисунок 2А). Однако повышенная жесткость может нивелироваться в процессе инкубации с клетками в условиях проточного биореактора. Построен-

ная по результатам измерений кривая «растяжение-деформация» обоих типов графтов, хотя и существенно отличалась от таковой внутренней грудной артерии в широком диапазоне зна-

Рисунок 2.

Тестирование биомеханических свойств сосудистых графтов, изготовленных методом электроспиннинга с совместной либо раздельной подачей коллагена I типа со смесью поли(3-гидроксибутирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона), в продольном и поперечном направлениях. А) оценка прочности, эластичности и жесткости образцов внутренней грудной артерии и обоих типов графтов; Б) построение кривой «растяжение-деформация» для внутренней грудной артерии и обоих типов графтов. ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

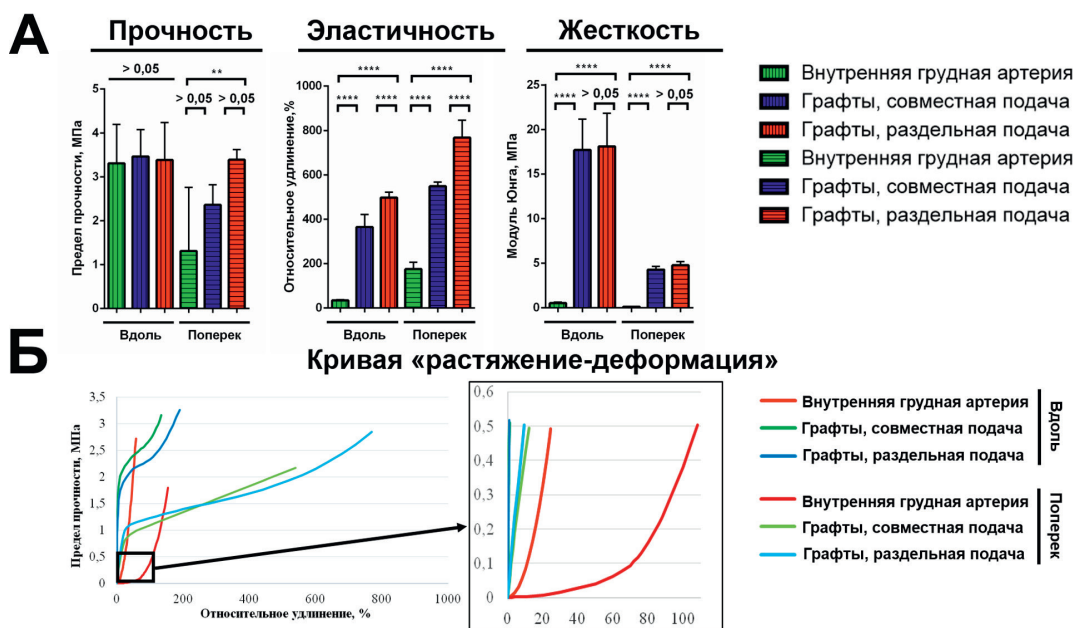


Figure 2.

Longitudinal and transverse tensile testing of the vascular grafts fabricated via either joint or separate feed of type I collagen solution and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly(ε-caprolactone) blend. A) evaluation of durability and elasticity of internal mammary artery and both types of the grafts; B) stress-strain curve calculated for internal mammary artery and both types of the grafts. ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

чений предела прочности, тем не менее, была достаточно схожа с ней в диапазоне физиологических значений при тестировании биомеханических свойств в продольном направлении (рисунок 2Б). Поэтому, учитывая удовлетворительные прочность и эластичность обоих типов графтов, можно сделать вывод об их потенциальной механической пригодности в качестве сосудистых протезов для имплантации.

Наконец, была проведена сравнительная оценка биосовместимости разработанных нами двух типов графтов. Экспериментальные наблюдения показали, что HUVEC не способны к

адгезии в отсутствии фидерного слоя, содержащего белки внеклеточного матрикса. В ранних исследованиях нашей группы было показано, что немодифицированные матриксы на основе поли(3-гидроксибутирата-ко-3-гидроксивалерата/поли(ε-капролактона) также не поддерживают адгезию культур HUVEC [14]. Добавление к графтам коллагена I типа при раздельной подаче смеси поли(3-гидроксибутирата-ко-3-гидроксивалерата с поли(ε-капролактоном) и коллагена в процессе электроспиннинга более чем в 5 раз повысило клеточную адгезию и более чем в 1,5 раза - жизнеспособность адгезирова-

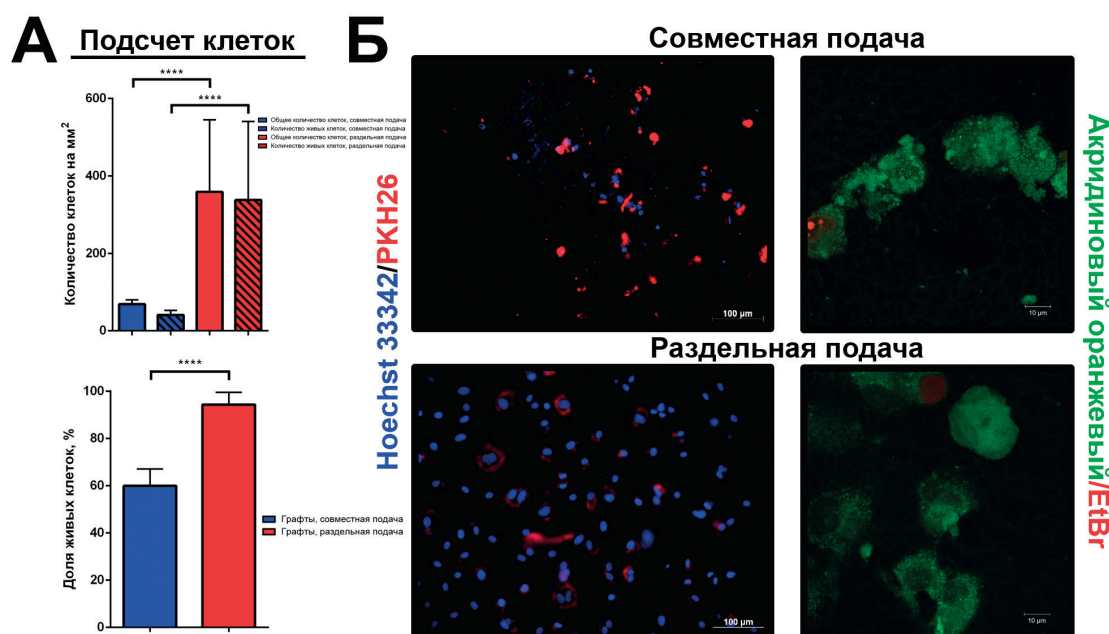


Рисунок 3.

Оценка биосовместимости сосудистых графтов, изготовленных методом электроспиннинга с совместной либо раздельной подачей коллагена I типа со смесью поли(3-гидроксибутирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона). А) подсчет общего количества клеток, количества и доли живых клеток; Б) репрезентативные снимки, сделанные при флуоресцентной микроскопии графтов. ****p < 0,0001.

Figure 3.

Biocompatibility testing of the vascular grafts fabricated via either joint or separate feed of type I collagen solution and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/poly(ε-caprolactone) blend. A) cell count; B) representative fluorescence microscopy images. ****p < 0,0001.

шихся клеток, что в сумме привело к повышению количества жизнеспособных клеток на поверхности графтов более чем в 8 раз в сравнении с совместной подачей растворов (рисунок 3). На основании полученных данных можно утверждать о достаточно высокой биосовместимости графтов, изготовленных посредством раздельной подачи растворов при электроспиннинге.

Таким образом, можно предположить, что коллаген I типа при растворении в 1,1,1,3,3,3-гексафлуоро-2-пропанолe сохраняет свою функциональную активность и обеспечивает высокую биосовместимость сосудистых графтов при раздельной подаче со смесью поли(3-гидроксибутирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона) в процессе электроспиннинга. Данные результаты особенно актуальны в свете того, что одним из важных преимуществ создания тканеинженерных сосу-

дистых графтов *in vitro* является возможность придания им высокой тромбозрезистентности за счет культивирования монослоя артериальных эндотелиальных клеток при биомеханической стимуляции, к примеру, в условиях высокого напряжения сдвига [15].

Заключение

Высокие показатели адгезии и жизнеспособности HUVES на поверхности матриксов с введенным в оболочку волокон коллагеном I типа демонстрируют перспективность подобных графтов для создания тканеинженерного сосуда *in vitro* с культивированием клеток в условиях пульсирующего потока. При этом повышенная жесткость гибридных полимерных графтов при прочих удовлетворительных физико-механических характеристиках может нивелироваться в процессе инкубации с клетками в условиях проточного биореактора.

Литература / References:

1. 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.
2. Sankaran KK, Subramanian A, Krishnan UM, Sethuraman S. Nanoarchitecture of scaffolds and endothelial cells in engineering small diameter vascular grafts. *Biotechnol J*. 2015; 10(1): 96-108.
3. Ingavle GC, Leach JK. Advancements in electrospinning of polymeric nanofibrous scaffolds for tissue engineering. *Tissue Eng Part B: Rev*. 2014; 20(4): 277-293.
4. 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: Rev*. 2014; 20(6): 628-640.
5. Ferreira AM, Gentile P, Chiono V, Ciardelli G. Collagen for bone tissue regeneration. *Acta Biomater*. 2012; 8(9): 3191-3200.
6. Lee SJ, Liu J, Oh SH, Soker S, Atala A, et al. Development of a composite vascular scaffolding system that withstands physiological vascular conditions. *Biomaterials*. 2008; 29(19): 2891-2898.

7. Tillman BW, Yazdani SK, Lee SJ, Geary RL, Atala A, et al. The in vivo stability of electrospun polycaprolactone-collagen scaffolds in vascular reconstruction. *Biomaterials*. 2009; 30(4): 583-588.
8. Mahjour SB, Sefat F, Polunin Y, Wang L, Wang H. Improved cell infiltration of electrospun nanofiber mats for layered tissue constructs. *J Biomed Mater Res Part A*. 2016; 104(6): 1479-1488.
9. Dippold D, Cai A, Hardt M, Boccaccini AR, Horch R, Beier JP, et al. Novel approach towards aligned PCL-Collagen nanofibrous constructs from a benign solvent system. *Materials Science and Engineering: C*. 2017; 72: 278-283.
10. Wang YF, Guo HF, Ying DJ. Multilayer scaffold of electrospun PLA-PCL collagen nanofibers as a dural substitute. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013; 101(8): 1359-1366.
11. Sousa I, Mendes A, Pereira R, Bartolo P. Collagen surface modified poly(ε caprolactone) scaffolds with improved hydrophilicity and cell adhesion properties. *Mater Lett*. 2014; 134: 263-267.
12. Otsuka F, Yahagi K, Sakakura K, Virmani R. Why is the mammary artery so special and what protects it from atherosclerosis? *Ann Cardiothorac Surg*. 2013; 2(4): 519-526.
13. Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG, Minick CR. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *J Clin Invest*. 1973; 52(11): 2745-2756.
14. Antonova LV, Seifalian AM, Kutikhin AG, Sevostyanova VV, Krivkina EO, Mironov AV, et al. Bioabsorbable Bypass Grafts Biofunctionalised with RGD Have Enhanced Biophysical Properties and Endothelialisation Tested In vivo. *Front Pharmacol*. 2016; 7: 136.
15. Elliott MB, Gerecht S. Three-dimensional culture of small-diameter vascular grafts. *J Mater Chem B*. 2016; 4 (Issue 20): 3443-3453.

Сведения об авторах

Великанова Елена Анатольевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация

Вклад в статью: разработка экспериментального дизайна, выполнение клеточных экспериментов, написание статьи.

Антонова Лариса Валерьевна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация

Вклад в статью: разработка экспериментального дизайна, выполнение клеточных экспериментов, написание статьи.

Севостьянова Виктория Владимировна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация

Вклад в статью: изготовление сосудистых графтов, выполнение клеточных экспериментов, написание статьи.

Кутихин Антон Геннадьевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация

Вклад в статью: статистический анализ, написание статьи.

Глушкова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация

Вклад в статью: проведение сканирующей электронной микроскопии и тестирования биомеханических свойств.

Authors

Dr. Elena A. Velikanova, PhD, Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: conceived and designed the study; performed the cell culture experiments; wrote the manuscript.

Dr. Larisa V. Antonova, MD, PhD, Head of the Laboratory for Cell Technologies, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: conceived and designed the study; performed the cell culture experiments; wrote the manuscript.

Dr. Victoria V. Sevostyanova, MD, PhD, Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: fabricated the vascular grafts; performed the cell culture experiments; wrote the manuscript.

Dr. Anton G. Kutikhin, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Genomic Medicine, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: performed the statistical analysis; wrote the article.

Dr. Tatiana V. Glushkova, PhD, Researcher, Laboratory for Novel Biomaterials, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: performed the scanning electron microscopy; carried out the mechanical testing.

Dr. Vera G. Matveeva, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: performed the cell culture experiments.

Ms. Evgeniya O. Krivkina, MSc, Junior Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: fabricated the vascular grafts.

Матвеева Вера Геннадьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация
Вклад в статью: выполнение клеточных экспериментов.

Кривкина Евгения Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация
Вклад в статью: изготовление сосудистых графтов.

Барбараш Ольга Леонидовна, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация
Вклад в статью: координация работы научной группы.

Барбараш Леонид Семенович, главный научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация
Вклад в статью: координация работы научной группы.

Корреспонденцию адресовать:

Великанова Елена Анатольевна,
ул. Сосновый бульвар, д. 6, г. Кемерово, 650002
E-mail: velikanova_ea@mail.ru

Выражение благодарности: Данное исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №17-75-20004 «Разработка физиологически обоснованной технологии изготовления персонализированного тканеинженерного сосудистого имплантата малого диаметра *in vitro* в условиях имитации естественного кровотока с использованием клеточных технологий»).

Статья поступила: 16.10.17г.

Принята к печати: 24.11.17г

Prof. Olga L. Barbarash, MD, PhD, Professor, Chief Executive Officer, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: organized the study.

Prof. Leonid S. Barbarash, MD, PhD, Professor, Principal Researcher, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Contribution: organized the study.

Corresponding author:

Dr. Elena A. Velikanova,
Sosnovy Boulevard 6, Kemerovo, 650002, Russian Federation
E-mail: velikanova_ea@mail.ru

Acknowledgements: 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”)