

УДК 616.1-77

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2024-9-2-20-27>

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИКСОВ, ПРИГОДНЫХ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ СОСУДИСТЫХ ПРОТЕЗОВ МАЛОГО ДИАМЕТРА

ВЕЛИКАНОВА Е.А.*, СЕНОКОСОВА Е.А., ГЛУШКОВА Т.В., КРИВКИНА Е.О., АНТОНОВА Л.В.

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

Резюме

Цель. В условиях *in vitro* оценить цитотоксичность матриксов из поликапролактона и полиуретана.

Материалы и методы. Полимерные матриксы изготавливали методом электроспиннинга из 12% раствора поли(ε-капролактона) или 12% раствора полиуретана. Для изучения структуры поверхности на образцы матриксов наносили токопроводящее Au/Pd покрытие и исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа. Оценку цитотоксичности образцов матриксов проводили на культуре клеток линии Ea.hy 926, клетки высевали на поверхность матриксов и культивировали в течение 3 суток. Оценивали жизнеспособность клеточной культуры методом МТТ, пролиферативную активность клеток, плотность клеточной культуры. На аппарате xCelligence клетки культивировали в присутствии исследуемых образцов матриксов, оценивали динамику роста клеточной культуры в режиме реального времени.

Результаты. При анализе поверхности полимерных матриксов методом электронной микроскопии было показано, что матриксы из поликапролактона характеризуются большей вариабельностью толщины нитей и значительно большим размером пор. Нити полиуретана формируют плотное полотно с более ровной поверхностью. При проведении исследования в условиях прямого контакта клеток с материалом матриксы из PCL значительно превосходили по

биосовместимости матриксы из PU практически по всем исследованным показателям. По способности поддерживать адгезию клеток на поверхности матриксы из PCL не отличались от культурального пластика, составлявшего группу контроля; также были получены высокие значения жизнедеятельности клеток в тесте МТТ. Разница в уровне пролиферации клеток между матриксами была не настолько выраженной, при этом и PCL и PU матриксы значительно отличались от контроля. При проведении анализа в условиях непрямого контакта не было получено данных о цитотоксическом действии образцов матриксов.

Заключение. Матриксы из поликапролактона и полиуретана не проявляли цитотоксического действия и могут быть использованы для изготовления полимерных каркасов сосудистых протезов.

Ключевые слова: тканевая инженерия, протезы сосудов, цитотоксичность, полиуретан, поликапролактон, электроспиннинг.

Конфликт интересов.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Источник финансирования

Результаты получены при поддержке Российской Федерации в лице Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий от «30» сентября 2022 г. № 075-15-2022-1202, комплексной научно-технической программы полного инновационного

Для цитирования:

Великанова Е. А., Сенокосова Е. А., Глушкова Т. В., Кривкина Е. О., Антонова Л. В. Оценка цитотоксичности полимерных матриксов, пригодных для изготовления сосудистых протезов малого диаметра. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2024;9(2): 20-27. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2024-9-2-20-27>

*Корреспонденцию адресовать:

Великанова Елена Анатольевна, 650002, Россия, г. Кемерово, бульвар имени академика Л.С. Барбараша, д. 6, E-mail: velikanova_ea@mail.ru
© Великанова Е. А. и др.

цикла «Разработка и внедрение комплекса технологий в областях разведки и добычи твердых полезных ископаемых, обеспечения промышленной безопасности, биоремедиации, создания новых продуктов глубокой переработки из

угольного сырья при последовательном снижении экологической нагрузки на окружающую среду и рисков для жизни населения» (утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 11 мая 2022 г. № 1144-р).

ORIGINAL RESEARCH

CYTOTOXICITY OF POLYMER SCAFFOLDS SUITABLE FOR MANUFACTURING OF SMALL-DIAMETER VASCULAR GRAFTS

ELENA A. VELIKANOVA *, EVGENIA A. SENOKOSOVA, TATIANA V. GLUSHKOVA,
EVGENIA O. KRIVKINA, LARISA V. ANTONOVA

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

Abstract

Aim. To evaluate the cytotoxicity of poly(ϵ -caprolactone) and polyurethane scaffolds in vitro.

Materials and Methods. Polymer scaffolds were made by electrospinning from a 12% solution of poly(ϵ -caprolactone) or a 12% solution of polyurethane. Surface structure was examined by scanning electron microscopy, whilst cytotoxicity was evaluated by seeding EA.hy 926 endothelial cells on scaffold surface for 72 hours. Cell culture viability and proliferation was assessed by MTT assay and by quantifying cell culture density. On the xCELLigence device, cells were cultured in the presence of the studied matrix samples, and the dynamics of cell culture growth was evaluated in real time.

Results. Poly(ϵ -caprolactone) scaffolds were characterised by a higher variability in the filament thickness and by a significantly larger pore size. Polyurethane filaments formed a dense web with a smoother surface. Poly(ϵ -caprolactone) scaffolds had significantly higher biocompatibility in comparison with polyurethane. Adhesion of cells to poly(ϵ -caprolactone) scaffolds did not differ from the cell culture plastic, and poly(ϵ -caprolactone) supported cell proliferation in the MTT test. Poly(ϵ -caprolactone) and polyurethane did not differ significantly in terms of inducing cell prolifer-

ation. Both poly(ϵ -caprolactone) and polyurethane scaffolds did not pose considerable cytotoxicity.

Conclusion. Poly(ϵ -caprolactone) and polyurethane scaffolds did not exhibit cytotoxic effects and can be used for manufacturing polymer scaffolds of vascular grafts.

Keywords: tissue engineering, vascular grafts, cytotoxicity, polyurethane, poly(ϵ -caprolactone), electrospinning.

Conflict of Interest

None declared.

Funding

The study was supported by the Russian Federation, specifically the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, under the Agreement for providing grant funding in the form of subsidies from the federal budget, dated September 30, 2022, No. 075-15-2022-1202. The study is a part of a comprehensive scientific and technological program of the full innovation cycle, entitled “Development and implementation of technologies in the fields of solid mineral exploration and extraction, industrial safety, bioremediation, and the creation of new products through deep coal processing, all with a gradual reduction of environmental impact and risks to the population’s well-being”. This initiative was established by the Russian Government’s decree No. 1144-r on May 11, 2022.

◀ English

For citation:

Elena A. Velikanova, Evgenia A. Senokosova, Tatiana V. Glushkova, Evgenia O. Krivkina, Larisa V. Antonova. Cytotoxicity of polymer scaffolds suitable for manufacturing of small-diameter vascular grafts. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.).2024;9(2): 20-27. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2024-9-2-20-27>

*Corresponding author:

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

© Elena A. Velikanova, et al.

Введение

Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний постоянно возрастает и продолжает удерживать одну из лидирующих позиций в структуре смертности во всем мире [1]. Одной из главных причин сердечно-сосудистых патологий является атеросклероз, приводящий к полной или частичной закупорке сосудов. В случае значимой окклюзии сосуда варианты лечения сводятся к хирургическим методам, подразумевающим замену пораженного сосуда или создание обходных шунтов [2]. Таким образом, разработка сосудистых протезов для реконструкции стенозированных сосудов остается актуальной.

В настоящее время золотым стандартом при проведении таких операций является использование аутологических сосудов, таких как подкожная вена или внутренняя грудная артерия. Однако из-за сопутствующих заболеваний или несоответствия диаметра сосудов использование собственных сосудов пациента не всегда возможно [3]. Поэтому продолжается поиск технологии создания синтетических протезов кровеносных сосудов.

В течение многих лет в клинической практике успешно используются протезы крупных кровеносных сосудов, изготовленные из политетрафторэтилена (Teflon) или полиэтилен-терефталата (Dacron), однако способы замены сосудов малого диаметра все еще остаются на стадии разработки [4, 5]. Основной проблемой синтетических протезов сосудов малого диаметра, препятствующей внедрению разработок в клинику, является их неудовлетворительная проходимость в долгосрочном периоде [3]. Причина того, что многолетние разработки в этой области пока не привели к окончательному успеху, заключается в большом количестве факторов, влияющих на эффективную регенерацию трансплантата [6].

Разработка тканеинженерных конструкторов предполагает в дальнейшем замещение каркаса клетками и тканями реципиента [7–9]. Таким образом, ключевым требованием к материалу каркаса, помимо его механических свойств, является его биосовместимость. Будущий трансплантат должен быть нетромбогенным, неиммуногенным, гемосовместимым и нецитотоксичным [10]. Данная работа посвящена оценке цитотоксичности полимерных материалов полиуретана и поликапролактона, предназначенных для изготовления сосудистых протезов малого диаметра.

Цель исследования

В условиях *in vitro* оценить цитотоксичность матриц из поликапролактона и полиуретана.

Материалы и методы

Изготовление полимерных матриц. Полимерные матрицы изготавливали методом электроспиннинга на приборе Nanon-01A (МЕСС, Япония) из 12% раствора поли(ε-капролактона) (PCL; Sigma-Aldrich, США) или 12% раствора полиуретана (PU, Tecoflex EG-80A; Lubrizol Advanced Materials, США), растворенных в хлороформе ХЧ (Вектон, Россия). При формировании матриц использовали следующие параметры электроспиннинга: напряжение 20 кВ, скорость вращения коллектора 200 об/мин, скорость подачи раствора 0,5 мл/час.

Сканирующая электронная микроскопия. На образцы матриц наносили токопроводящее Au/Pd покрытие при помощи вакуумной установки EM ACE200 (Leica Mikrosysteme GmbH, Австрия). Затем матрицы изучали на сканирующем электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума. Оценивали структуру поверхности.

Клеточная культура. Эксперимент проводили на культуре клеток линии Ea.hy 926. Клетки до и в течение всего эксперимента культивировали в питательной среде DMEM/F12 (Sigma-Aldrich, США), содержащей 1% HEPES буфера, 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Sigma-Aldrich, США), 1% L-глутамина, 100 МЕ пенициллина, 0,1 мг/мл стрептомицина (Invitrogen, США), 0,1 мг/мл амфотерицина В и добавку НАТ (гипоксантин, аминоптерин, тимидин) (Sigma, США). Культуры клеток содержали в условиях CO₂ – инкубатора MCO-18AIC (Sanyo, Япония) при 37°C и 5% CO₂.

МТТ-тест. На дно лунок 24-луночного культурального планшета помещали образцы матриц из PCL и PU. На них расселяли клетки в количестве 50 000 ед./лунку, культивировали в течение 3 суток. В качестве контрольной группы использовали клетки, культивированные в лунках планшета. После окончания инкубации проводили исследование жизнеспособности клеток, адгезировавших на матрицах, методом МТТ с использованием коммерческого набора (MP13154; Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколом производителя; с реагентом МТТ клетки инкубировали в течение 4 часов. Затем культуральную среду с прореагировавшим реагентом переносили в лунки 96-луночного планшета и считывали.

вали оптическую плотность (ОП) на анализаторе Multiskan Sky (ThermoFisher Scientific, США) при $\lambda 540$ нм. Жизнеспособность клеток вычисляли по формуле:

$$\% \text{ жизнеспособности} = (\text{ОП}_{\text{попыт}} - \text{ОП}_{\text{бланк}}) / (\text{ОП}_{\text{контроль}} - \text{ОП}_{\text{бланк}}) * 100\%,$$

где ОП_{попыт} — оптическая плотность в лунках с экспериментальными образцами, ОП_{контроль} — оптическая плотность в лунках с контрольными образцами, ОП_{бланк} — оптическая плотность в лунках с чистым ДМСО.

Оценка пролиферативной активности. Образцы для анализа готовили как описано выше. Проводили оценку уровня пролиферативной активности клеток на с помощью набора Click-iT EdU Alexa Fluor 488 (MP10637, Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколом производителя. Ядра клеток дополнительно контрастировали DAPI (Thermo Fisher Scientific, США). Полученные препараты анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа ZOE (Bio-Rad). Подсчет клеток выполняли с помощью программы Image J 1.38 software (National Institutes of Health, Bethesda, США) в 10 различных полях зрения. Оценивали общее количество ядер клеток и количество ядер пролиферирующих клеток в поле зрения. Анализировали по 10 случайно выбранных полей зрения для каждого образца. Долю пролиферирующих клеток вычисляли как количество ядер пролиферирующих клеток / общее количество ядер клеток * 100 %. Плотность клеточной культуры оценивали в абсолютных значениях количества ядер клеток в поле зрения.

Real-time анализ клеточной культуры. Оценку динамики культивирования в реальном времени проводили с помощью системы xCelligence (Alamed, USA) в специализированных планшетах. На дно лунок планшетов рассевали клетки в количестве 10 000 кл./лунку, инкубировали в течение часа для осаждения и прикрепления клеток в ус-

ловиях, описанных выше. Затем в лунки помещали специальные вставки, в которые вносили образцы матриксов 0,5x0,5 см. Контрольную группу составили лунки с клетками, культивированными без присутствия образцов матриксов («контроль клеток») и лунки с добавлением исключительно культуральной среды («контроль среды»). Считывание клеточного индекса происходило автоматически в режиме реального времени каждые 15 минут в течение всего эксперимента. Общее время эксперимента составило 3 суток. Цитотоксическое действие исследуемых образцов оценивали по изменению динамики клеточного индекса.

Статистический анализ. Статистический анализ проводили в программе GraphPad Prism. Данные представляли как медиану, 25 и 75 процентиля (Me (25%; 75%)). Сравнение различий между двумя группами проводили методом Манна-Уитни. Сравнение различий между несколькими группами проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса, коррекция на множественные сравнения осуществлялась с помощью алгоритма Бенджамини-Крюгера-Йекутили.

Результаты

При анализе поверхности полимерных матриксов методом электронной микроскопии было показано, что архитектура образцов, выполненных из PCL и PU, заметно отличалась (рисунок 1).

Матриксы из PCL были сформированы хаотично уложенными нитями, с большими порами между ними. Нити матрикса значительно варьировали по толщине, что в сочетании с особенностями их укладки обеспечивало образование довольно неровной поверхности. Напротив, нити из PU были более однородны по толщине, их укладка более мелкими петлями формировала ровную поверхность. Эти результаты подтверждаются данными количественного анали-

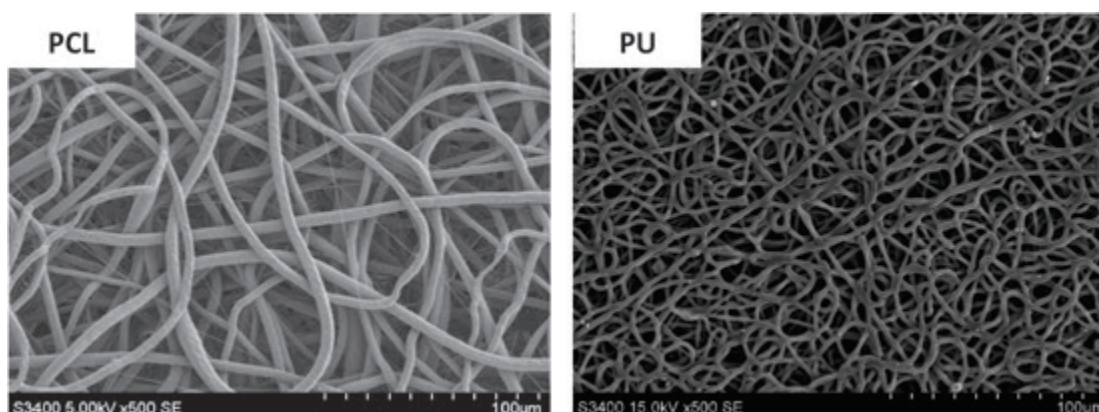


Рисунок 1. Сканирующая электронная микроскопия поверхности образцов полимерных матриксов.

Figure 1. Scanning electron microscopy of polymer scaffolds. Poly(ϵ -caprolactone) (PCL) and polyurethane (PU).

за пористости матриксов. Размеры пор в матриксах из PCL были более чем в 2 раза больше, чем в матриксах из PU – 19,50 (16,20; 28,6) мкм и 9,050 (5,43; 11,60) соответственно ($p=0,001$).

При анализе результатов заселения клетками матриксов было показано, что по количеству клеток матрикса из PCL значимо ($p<0,05$) превышали матриксы из PU (**рисунок 2А**). В то же время не было обнаружено значимых различий между полимерными матриксами и контрольными образцами.

Аналогичная тенденция сохранялась при оценке жизнеспособности клеток методом МТТ (**рисунок 2Б**). После проведения теста уровень оптической плотности в образцах с матриксами PCL статистически значимо превышал таковой в образцах с матриксами из PU.

При анализе пролиферативной активности результаты немного отличались (**рисунок 2В, Г**). Так, отмечали небольшое повышение коли-

чества пролиферирующих клеток, адгезированных на матриксах из PCL, по сравнению с матриксами из PU, однако не было обнаружено статистически значимых различий между экспериментальными группами.

В то же время доля пролиферирующих клеток в контрольных образцах составляла около 80%, в 1,5 раза превышая значение данного показателя в экспериментальных группах ($p<0,05$).

При анализе динамики клеточного индекса в реальном времени не наблюдали признаков цитотоксического действия полимерных матриксов (**рисунок 3**). График роста всех исследуемых культур свидетельствовал о нормальной жизнеспособности клеток.

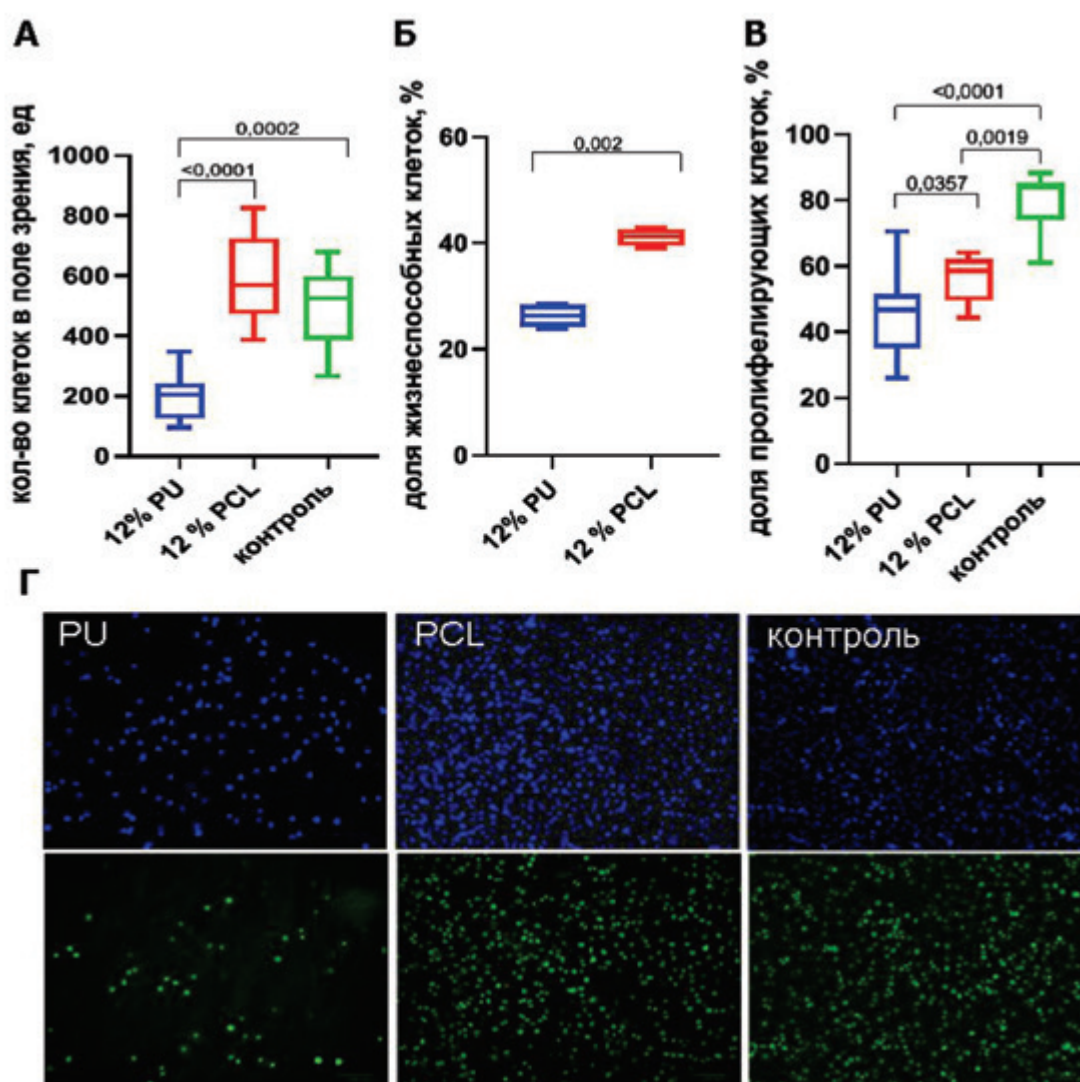
Обсуждение

Исследование биосовместимости является обязательным этапом разработки тканеинженерных конструктов. При изучении цитотоксично-

Рисунок 2.

Оценка биосовместимости полимерных матриксов. А – плотность клеточной культуры, Б – результаты МТТ-теста, В – результаты оценки пролиферативной активности, Г – репрезентативные микрофотографии окраски на пролиферацию, зеленый – ядра пролиферирующих клеток, синий – ядра всех клеток.

Figure 2. Assessment of polymer scaffold biocompatibility. А – endothelial cell culture density, В – viability and proliferation evaluated by MTT assay, С – evaluation of proliferation by 5-ethynyl-2'-deoxyuridine incorporation, D – representative images of proliferating cells visualised by 5-ethynyl-2'-deoxyuridine incorporation.



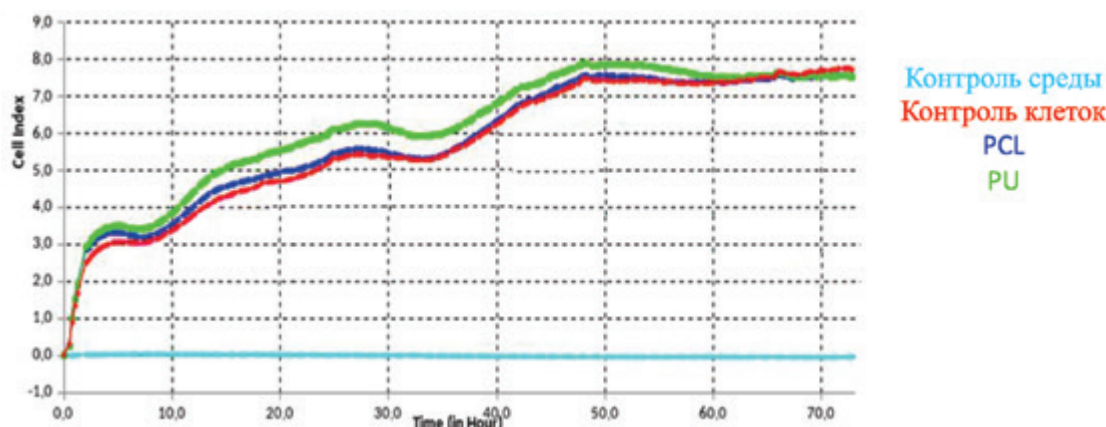


Рисунок 3. Динамика роста контрольной культуры клеток и клеток в присутствии полимерных матриц.

Figure 3. Endothelial cell growth on cell culture plastic (red), poly(ϵ -caprolactone) (PCL, blue) and polyurethane (green, PU).

сти материалов, предназначенных для имплантации в кровяное русло, стандарты ГОСТ предполагают проведение тестирования как в прямом контакте клеток с исследуемым материалом, так и в его присутствии [11]. Подобный протокол в сочетании с использованием нескольких методов оценки жизнеспособности клеток позволяет более полно оценить особенности взаимодействия материала с культурой клеток.

В нашем исследовании при проведении анализа в условиях непрямого контакта, при оценке культуры клеток в режиме реального времени, не было получено данных о цитотоксическом действии образцов матриц. Уровень клеточного индекса в экспериментальных группах в течение всего эксперимента, также как и кривая роста клеточной культуры, не отличались от контроля. Таким образом, можно заключить, что исследуемые полимерные матрицы из PCL и PU не выделяли в культуральную среду веществ с цитотоксическим действием.

При проведении исследования в условиях прямого контакта клеток с материалом результаты несколько отличались. Так, матрицы из PCL значительно превосходили по биосовместимости матрицы из PU практически по всем исследованным показателям. По способности поддерживать адгезию клеток на поверхности матрицы из PCL не отличались от культурального пластика, составлявшего группу контроля; этим, по-видимому, также объясняются высокие уровни значения жизнеспособности, полученные в тесте МТТ, результаты которого тесно связаны с плотностью клеточной культуры. Интересно, что при этом разница в уровне пролиферации клеток между матриксами была не настолько выраженной, при этом и PCL и PU матрицы значительно отличались от контроля.

Несмотря на несколько противоречивые результаты в проведенных исследованиях, можно

заклучить, что матрицы из PCL и PU не обладают цитотоксичностью и могут быть использованы для разработки сосудистых протезов малого диаметра. В пользу этого говорят не только результаты культивирования клеток в присутствии матриц, показавшие отсутствие цитотоксического воздействия, но и достаточно высокие показатели пролиферативной активности клеток. Снижение количества клеток на поверхности полиуретановых матриц, по-видимому, свидетельствует не о токсическом действии материала, а о его недостаточной способности поддерживать адгезию клеток. В исследованиях показано, что полиуретан без дополнительной обработки обладает высокой гидрофобностью, что препятствует удержанию клеток на его поверхности [12]. Известно, что физические свойства синтетического материала, такие как гидрофобность, поверхностный заряд или шероховатость, имеют огромное значение в вопросе взаимодействия с клетками [13]. Управление этими свойствами посредством различных модификаций, в конечном счете, означает влияние на биосовместимость изготовленной из этого материала конструкции.

Таким образом, можно заключить, что PU может быть использован в качестве элементов каркаса для увеличения прочностных свойств тканеинженерной конструкции. При этом для его применения в качестве основного материала сосудистого протеза необходима модификация внутренней поверхности для поддержания адгезии клеток и стимулирования эндотелизации.

Заключение

Матрицы из поликапролактона и полиуретана не проявляли цитотоксического действия и могут быть использованы для изготовления полимерных каркасов сосудистых протезов.

Литература :

- Kitsuka T., Hama R., Ulziibayar A., Matsuzaki Y., Kelly J., Shinoka T. Clinical Application for Tissue Engineering Focused on Materials. *Biomedicines*. 2022;10(6):1439. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061439>
- Moore M.J., Tan R.P., Yang N., Rnjak-Kovacina J., Wise S.G. Bioengineering artificial blood vessels from natural materials. *Trends Biotechnol.* 2022;40(6):693-707. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.11.003>
- Pashneh-Tala S., MacNeil S., Claeyssens F. The Tissue-Engineered Vascular Graft-Past, Present, and Future. *Tissue Eng. Part B Rev.* 2016;22(1):68-100. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2015.0100>
- 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):5680-742. <https://doi.org/10.1039/c4cs00483c>
- Антонова Л.В., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. Тканеинженерные конструкции для нужд сердечно-сосудистой хирургии: возможности персонализации и перспективы использования. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2023;78(2):141-150. <https://doi.org/10.15690/vramn7578>
- Tan W., Boodagh P., Selvakumar P.P., Keyser S. Strategies to counteract adverse remodeling of vascular graft: A 3D view of current graft innovations. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2023;10:1097334. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1097334>
- Di Francesco D., Pigliafreddo A., Casarella S., Di Nunno L., Mantovani D., Boccafocchi F. Biological Materials for Tissue-Engineered Vascular Grafts: Overview of Recent Advancements. *Biomolecules*. 2023;13(9):1389. <https://doi.org/10.3390/biom13091389>
- Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Mironov A.V., Krivkina E.O., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Glushkova T.V., Elgudin Ya.L., Barbarash L.S. In situ vascular tissue remodeling using biodegradable tubular scaffolds with incorporated growth factors and chemoattractant molecules. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2018;7(2):25-36. (In Russ). <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36>
- Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Silnikov V.N., Krivkina E.O., Velikanova E.A., Mironov A.V., Shabaev A.R., Senokosova E.A., Khanova M.Yu., Glushkova T.V., Akentieva T.N., Sinitskaya A.V., Markova V.E., Shishkova D.K., Lobov A.A., Repkin E.A., Stepanov A.D., Kutikhin A.G., Barbarash L.S. Comparison of the patency and regenerative potential of bio-degradable vascular prostheses of different polymer compositions in an ovine model. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(10):8540. <https://doi.org/10.3390/ijms24108540>
- Watanabe T., Sassi S., Ulziibayar A., Hama R., Kitsuka T., Shinoka T. The Application of Porous Scaffolds for Cardiovascular Tissues. *Bioengineering (Basel)*. 2023;10(2):236. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10020236>
- ГОСТ ISO 10993-5-2011. *Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы in vitro* [Электронный ресурс]. М.: Стандартинформ, 2024. Ссылка активна на 15.04.2024. <https://www.lamsystems-lto.ru/files/pdf/gost/10993-5-2011.pdf> GOST ISO 10993-5-2011. *Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 5. Tests for in vitro cytotoxicity* [Electronic version]. Moscow: Standartinform; 2024. (In Russ). Available at: <https://rotest.info/gost/001.011.100.020/gost-iso-10993-5-2011/>. Accessed: 15.04.2024.
- Чудинов В.С., Кондюрина И.В., Шардаков И.Н., Свистков А.Л., Осоргина И.В., Кондюрин А.В. Полиуретан для медицинского применения, модифицированный плазменно-ионной обработкой. *Биофизика*. 2018; 63(3):444-454. Chudinov VS, Shardakov IN, Svistkov AL, Kondyurina IV, Osorgina IV, Kondyurin AV. Polyurethane modified with plasma-ion implantation for medical applications. *Biophysics*. 2018; 63(3):444-454 (In Russ).
- Ferrari M., Cirisano F., Morán M.C. Mammalian Cell Behavior on Hydrophobic Substrates: Influence of Surface Properties. *Colloids Interfaces*. 2019;3(48). <https://doi.org/10.3390/colloids3020048>

References:

- Kitsuka T., Hama R., Ulziibayar A., Matsuzaki Y., Kelly J., Shinoka T. Clinical Application for Tissue Engineering Focused on Materials. *Biomedicines*. 2022;10(6):1439. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061439>
- Moore MJ, Tan RP, Yang N, Rnjak-Kovacina J, Wise SG. Bioengineering artificial blood vessels from natural materials. *Trends Biotechnol.* 2022;40(6):693-707. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.11.003>
- Pashneh-Tala S, MacNeil S, Claeyssens F. The Tissue-Engineered Vascular Graft-Past, Present, and Future. *Tissue Eng Part B Rev.* 2016;22(1):68-100. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2015.0100>
- 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):5680-742. <https://doi.org/10.1039/c4cs00483c>
- Antonova LV, Barbarash OL, Barbarash LS. Tissue-Engineered Constructions for the Needs of Cardiovascular Surgery: Possibilities of Personalization and Prospects for Use (Problem Article). *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2023;78(2):141-150. (In Russ). <https://doi.org/10.15690/vramn7578>
- Tan W, Boodagh P, Selvakumar PP, Keyser S. Strategies to counteract adverse remodeling of vascular graft: A 3D view of current graft innovations. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023;10:1097334. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1097334>
- Di Francesco D, Pigliafreddo A, Casarella S, Di Nunno L, Mantovani D, Boccafocchi F. Biological Materials for Tissue-Engineered Vascular Grafts: Overview of Recent Advancements. *Biomolecules*. 2023;13(9):1389. <https://doi.org/10.3390/biom13091389>
- Antonova LV, Sevostyanova VV, Mironov AV, Krivkina EO, Velikanova EA, Matveeva VG, Glushkova TV, Elgudin YaL, Barbarash LS. 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. (In Russ). <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2018-7-2-25-36>
- Antonova LV, Sevostyanova VV, Silnikov VN, Krivkina EO, Velikanova EA, Mironov AV, Shabaev AR, Senokosova EA, Khanova MYu, Glushkova TV, Akentieva TN, Sinitskaya AV, Markova VE, Shishkova DK, Lobov AA, Repkin EA, Stepanov AD, Kutikhin AG, Barbarash LS. Comparison of the patency and regenerative potential of bio-degradable vascular prostheses of different polymer compositions in an ovine model. *Int J Mol Sci.* 2023;24(10):8540. <https://doi.org/10.3390/ijms24108540>
- Watanabe T, Sassi S, Ulziibayar A, Hama R, Kitsuka T, Shinoka T. The Application of Porous Scaffolds for Cardiovascular Tissues. *Bioengineering (Basel)*. 2023;10(2):236. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10020236>
- GOST ISO 10993-5-2011. *Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 5. Tests for in vitro cytotoxicity* [Electronic version]. Moscow : Standartinform; 2024. (In Russ). Available at: <https://rotest.info/gost/001.011.100.020/gost-iso-10993-5-2011/>. Accessed: 15.04.2024.
- Chudinov VS, Shardakov IN, Svistkov AL, Kondyurina IV, Osorgina IV, Kondyurin AV. Polyurethane modified with plasma-ion implantation for medical applications. *Biophysics*. 2018; 63(3):444-454 (In Russ).
- Ferrari M, Cirisano F, Morán MC. Mammalian Cell Behavior on Hydrophobic Substrates: Influence of Surface Properties. *Colloids Interfaces*. 2019;3(48). <https://doi.org/10.3390/colloids3020048>

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, бульвар имени академика Л.С. Барбараша, д. 6).

Вклад в статью: выполнение работ по клеточному эксперименту, анализ и интерпретация данных исследования, поиск литературы, анализ литературы, написание статьи.

ORCID: 0000-0002-1079-1956

Сенокосова Евгения Андреевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, бульвар имени академика Л.С. Барбараша, д. 6).

Вклад в статью: выполнение работ по клеточному эксперименту, анализ и интерпретация данных исследования, анализ литературы, написание статьи.

ORCID: 0000-0002-9430-937X

Глушкова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, бульвар имени академика Л.С. Барбараша, д. 6).

Вклад в статью: выполнение сканирующей электронной микроскопии, анализ и интерпретация данных исследования, описание соответствующего раздела статьи.

ORCID: 0000-0003-4890-0393

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

Вклад в статью: изготовление полимерных матриц, выполнение клеточного эксперимента, описание соответствующего раздела статьи.

ORCID: 0000-0002-2500-2147

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

Вклад в статью: руководитель исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации.

ORCID: 0000-0002-8874-0788

Статья поступила: 20.02.2024 г.

Принята в печать: 30.05.2024 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Authors

Dr. Elena A. Velikanova, PhD, Researcher, Laboratory of Cell and Tissue Engineering, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Barbarash Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: conducted the experiments, performed the data analysis; wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-1079-1956

Dr. Evgenia A. Senokosova, PhD, Researcher, Laboratory of Cell and Tissue Engineering, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Barbarash Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: conducted the experiments, performed the data analysis; wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-9430-937X

Dr. Tatiana V. Glushkova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Cell and Tissue Engineering, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Barbarash Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: conducted the experiments, performed the data analysis.

ORCID: 0000-0003-4890-0393

Ms. Evgenia O. Krivkina, MSc, Junior Researcher, Laboratory of Cell and Tissue Engineering, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Barbarash Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: conducted the experiments.

ORCID: 0000-0002-2500-2147

Dr. Larisa V. Antonova, MD, DSc, Head of the Laboratory of Cell and Tissue Engineering, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Barbarash Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: conceived and designed the study; wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-8874-0788

Received: 20.02.2024

Accepted: 30.05.2024

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.