

# РЕЗУЛЬТАТЫ СУБКУТАННОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИКСОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА И ПОЛИГИДРОКСИБУТИРОВАЛЕРАТА, МОДИФИЦИРОВАННЫХ РОСТОВЫМИ ФАКТОРАМИ

DOI: 10.17691/stm2017.9.2.01

УДК 577.11:678.83

Поступила 1.11.2016 г.



**М.В. Насонова**, научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной и клинической кардиологии;

**Д.К. Шишкова**, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной и клинической кардиологии;

**Л.В. Антонова**, к.м.н., зав. лабораторией клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии;

**В.В. Севостьянова**, к.м.н., научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии;

**Ю.А. Кудрявцева**, д.б.н., зав. отделом экспериментальной и клинической кардиологии;

**О.Л. Барбараш**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор;

**Л.С. Барбараш**, д.м.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, 650002, Сосновый бульвар, 6

**Цель исследования** — гистологическая оценка тканевой реакции при подкожной имплантации нетканых матриксов на основе биodeградируемых полимеров, модифицированных ростовыми факторами.

**Материалы и методы.** Образцы изготавливали методом двухфазного электроспиннинга на основе поликапролактона и смеси полимеров полигидроксибутироалерата и поликапролактона, как немодифицированных (контрольные), так и модифицированных ростовыми факторами VEGF, bFGF и SDF-1 $\alpha$ . Соотношение раствора полимера в хлороформе и водной фазы с биологически активной молекулой составило 20:1. Для изучения тканевой реакции *in vivo* нетканые матриксы имплантировали подкожно лабораторным крысам линии Wistar массой 80–100 г на сроки 1, 2, 3, 6, 9, 12 мес.

**Результаты.** Инкорпорирование матриксов ростовыми факторами в процессе электроспиннинга позволяет их функционализировать: усилить васкулогенез и ангиогенез, оказать влияние на эндотелиальные клетки и их жизнедеятельность. Гистологическое исследование показало, что биомолекулы, включенные в состав матрикса, оказывают свое действие, т.е. функционально активны, в течение всего срока эксперимента.

Испытуемые образцы не вызывают отторжения и острой воспалительной реакции. Вокруг имплантатов формируется тонкая соединительнотканная капсула. Полной резорбции матриксов в толще ткани не происходит, отмечается сохранность локализации образца в области подкожной имплантации в течение 12 мес и более. Подтверждено активное действие ростовых факторов в первые три месяца подкожной имплантации: при включении VEGF в состав матрикса происходит активный ангиогенез, инкорпорирование bFGF формирует толстую соединительнотканную капсулу вокруг образца, SDF-1 $\alpha$  способствует образованию крупных сосудов и повышает клеточную инфильтрацию в целом. На 12-м месяце имплантации отмечена неполная биodeградация нетканых матриксов, вследствие чего наблюдаются очаги гранулематозного воспаления.

**Заключение.** Разработанные нетканые матриксы на основе биodeградируемых полимеров, модифицированных ростовыми факторами VEGF, bFGF и SDF-1 $\alpha$ , перспективны для изготовления изделий для сердечно-сосудистой хирургии.

**Ключевые слова:** скаффолды; биodeградируемые полимеры; ростовые факторы; нетканые матриксы; VEGF; bFGF; SDF-1 $\alpha$ ; поликапролактон; полигидроксибутироалерат; электроспиннинг.

**Для контактов:** Насонова Марина Владимировна, e-mail: mv-nas@mail.ru

**Как цитировать:** Nasonova M.V., Shishkova D.K., Antonova L.V., Sevostyanova V.V., Kudryavtseva Y.A., Barbarash O.L., Barbarash L.S. Subcutaneous implantation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds modified with growth factors. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(2): 7–18, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.2.01>

English

## Subcutaneous Implantation of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Scaffolds Modified with Growth Factors

**M.V. Nasonova**, Researcher, Laboratory of Novel Biomaterials, Division of Experimental and Clinical Cardiology;  
**D.K. Shishkova**, Junior Researcher, Laboratory of Novel Biomaterials, Division of Experimental and Clinical Cardiology;  
**L.V. Antonova**, MD, PhD, Head of the Laboratory of Cell Technologies, Division of Experimental and Clinical Cardiology;  
**V.V. Sevostyanova**, MD, PhD, Researcher, Laboratory of Novel Biomaterials, Division of Experimental and Clinical Cardiology;  
**Y.A. Kudryavtseva**, DSc, Head of Experimental and Clinical Cardiology Division;  
**O.L. Barbarash**, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director;  
**L.S. Barbarash**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, 6 Sosnoviy blvd, Kemerovo, 650002, Russian Federation

**The aim of the investigation** was to assess the tissue response to subcutaneous implantation of nonwoven scaffolds fabricated from biodegradable polymers and further modified by growth factors.

**Materials and Methods.** Specimens were produced by two-phase electrospinning from poly( $\epsilon$ -caprolactone) and a blend of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly( $\epsilon$ -caprolactone) both unmodified (controls) and modified with growth factors VEGF, bFGF, and SDF-1 $\alpha$ . The ratio of a polymer solution in chloroform and a water phase with a bioactive molecule was 20:1. To study the tissue response *in vivo*, nonwoven scaffolds were subcutaneously implanted in Wistar rats weighing 80–100 g for the periods of either 1, 2, 3, 6, 9, or 12 months.

**Results.** Incorporating growth factors into the scaffolds during electrospinning provided biofunctionalization, including enhanced vasculogenesis and angiogenesis and increased viability of endothelial cells. Histological examination showed that biomolecules incorporated into the matrix have been functionally active throughout the whole time of the implantation.

The tested specimens did not cause rejection and acute inflammatory reaction. A thin connective tissue capsule was formed around the implants. A full resorption of the scaffolds did not occur, and the polymers remained at the site of implantation for at least 12 months. Growth factors significantly improved performance of the implants during the first 3 months postimplantation: VEGF enhanced angiogenesis, bFGF stimulated a thick connective tissue capsule formation, while SDF-1 $\alpha$  facilitated angiogenesis and cellular infiltration. From the 12<sup>th</sup> month postimplantation, incomplete biodegradation of nonwoven scaffolds caused granulomatous inflammation.

**Conclusion.** Nonwoven scaffolds fabricated of biodegradable polymers and further modified with VEGF, bFGF, and SDF-1 $\alpha$  represent a promising option for the fabrication of cardiovascular implants.

**Key words:** scaffolds; biodegradable polymers; growth factors; nonwoven scaffolds; VEGF; bFGF; SDF-1 $\alpha$ ; poly( $\epsilon$ -caprolactone); poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate); electrospinning.

Для регенеративной хирургии представляет особый интерес создание методом электроспиннинга трехмерных волокнистых структур (нетканых матриксов (НМ), имеющих высокое отношение площади поверхности к общему объему матрикса и имитирующих межклеточное вещество [1–4]. Функциональное значение разрабатываемых конструкций заключается в создании структурной поддержки, оптимальных условий метаболизма и дифференцировки клеток, возможности васкуляризации и ремоделирования регенерирующих тканей. Данный подход может быть успешно реа-

лизован и при создании протезов артерий, в частности сосудов малого диаметра, на основе биополимеров. Оптимальными биомеханическими свойствами и скоростью биодеградации для создания протезов сосудов обладают поликапролактон (PCL) и полигидроксибутиролвалерат (PHBV) [5–8].

Для повышения био- и гемосовместимости сосудистых протезов применяют клеточные технологии, суть которых заключается в заселении поверхности протеза эндотелиальными и гладкомышечными клетками, а также фибробластами пациента или донора

[1, 9]. Однако существует ряд сложностей, связанных с выделением этих клеток и их низкой пролиферативной активностью, что приводит к увеличению времени создания необходимой клеточной массы [4]. Ограничением в использовании аутологичных клеток является также их низкая жизнеспособность у пожилых пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями [10].

Альтернативой данной технологии служит использование биологически активных молекул для стимуляции формирования новых тканей. Наиболее перспективным представляется создание биологически активной среды для регенерации кровеносных сосудов на тканеинженерных графтах без предварительного заселения клетками [9]. С этой целью широко используют ростовые факторы, так как они способны регулировать миграцию клеток, их пролиферацию, дифференцировку и апоптоз [11]. Введение ростовых факторов в процессе электроспиннинга позволяет наделять матрицы биофункциональными свойствами с целью регенерации тканей кровеносного сосуда, что усилит адгезию и пролиферацию клеток, окажет влияние на их жизнедеятельность в составе скаффолда.

Наиболее активно для стимуляции эндотелизации графтов применяют сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), так как он служит важнейшим регулятором развития сосудов в эмбриогенезе (васкулогенез), а также их формирования во взрослом организме (ангиогенез) [12]. Основным фактор роста фибробластов (bFGF) является митогеном для фибробластов и играет значимую роль в процессах ремоделирования тканей и регенерации. Ангиогенная функция bFGF заключается в способности стимулировать покоящиеся эндотелиальные клетки, вызывая их пролиферацию и организацию в трубчатые структуры [13]. Большой интерес в качестве регулятора формирования кровеносных сосудов представляет хемокин — фактор стромальных клеток-1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ ), и хотя он не относится к ростовым факторам, однако обладает выраженной ангиогенной активностью.

При разработке имплантатов, в том числе и протезов сосудов, необходимо учитывать требования Международного стандарта ISO 10993-1:2003 для изделий медицинского назначения (ГОСТ ISO 10993-1-2011), который рекомендует для выявления местного патогенного действия разрабатываемых изделий и материалов на живую ткань обязательное применение имплантационных тестов, в том числе и субкутанных [14]. Имплантационные тесты с изучением биоптатов тканей у экспериментальных животных позволяют оценить ответную реакцию организма в целом.

**Цель исследования** — оценка реакции окружающих тканей на сополимерные матрицы на основе поликапролактона и композиции поликапролактона/полигидроксибутиролвалерата (PCL/PHBV), модифицированных сосудистым эндотелиальным фактором роста VEGF, основным фактором роста фибробла-

стов bFGF и хемоаттрактантной молекулой SDF-1 $\alpha$ , на модели подкожной имплантации лабораторным животным.

**Материалы и методы.** Нетканые матрицы на основе PCL и полимерной композиции PCL/PHBV, немодифицированные (контрольные) и модифицированные ростовыми факторами VEGF, bFGF и SDF-1 $\alpha$ , изготавливали методом двухфазного электроспиннинга на устройстве NANON-01A (MECC Co., Ltd., Япония). Оптимальный режим двухфазного электроспиннинга для графтов PCL + VEGF, PCL + bFGF, PCL + SDF-1 $\alpha$ : соотношение раствора полимера в хлороформе и водной фазы с биологически активной молекулой — 20:1; напряжение на игле — 20 кВ; скорость подачи раствора полимера — 0,3 мл/ч; скорость вращения коллектора — 200 об./мин; расстояние от иглы до наматочного коллектора — 15 см; размер иглы — 27 G. Для сополимерных графтов PCL/PHBV напряжение на игле составило 23 кВ, остальные параметры аналогичны изготовлению PCL.

Для изучения тканевой реакции *in vivo* нетканые матрицы имплантировали подкожно лабораторным крысам линии Wistar массой 80–100 г на сроки 1, 2, 3, 6, 9, 12 мес.

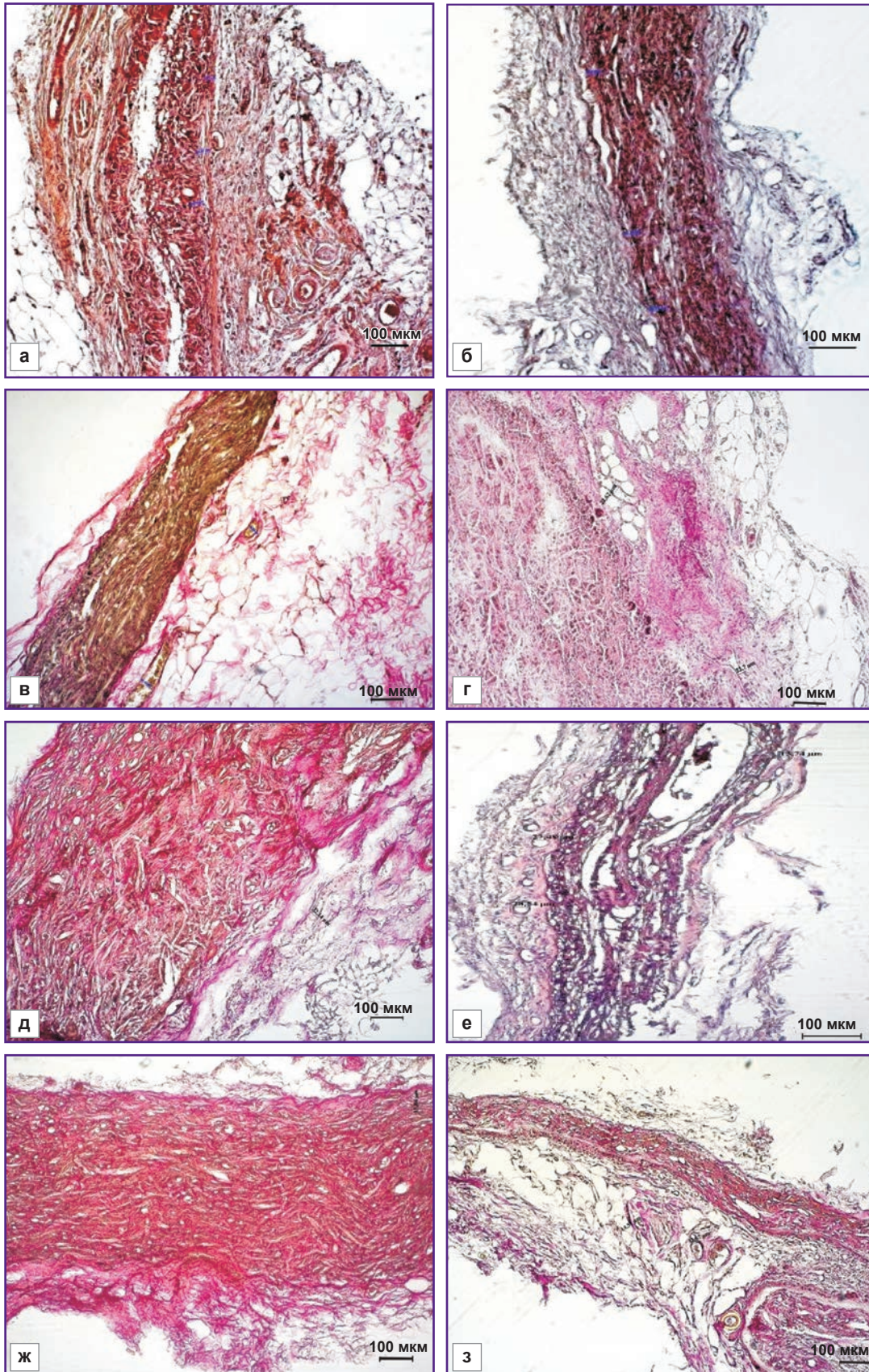
Непосредственно перед имплантацией HM стерилизовали этиленоксидом при комнатной температуре. Имплантацию проводили стандартным способом [15]. После окончания эксперимента образцы матриц эксплантировали вместе с окружающими тканями, фиксировали в 4% растворе нейтрального формалина с последующим заключением в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону, изучали на световом микроскопе Axiо Imager A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении в 100 раз.

Работа проведена в полном соответствии с этическими принципами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.) и одобрена Этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

При гистологическом анализе препаратов оценивали толщину соединительнотканной капсулы (СТК) как косвенный показатель степени биосовместимости полимера, количество вновь образованных сосудов в матрицах и прилегающих тканях, клеточную инфильтрацию в пяти полях зрения и скорость резорбции полимеров.

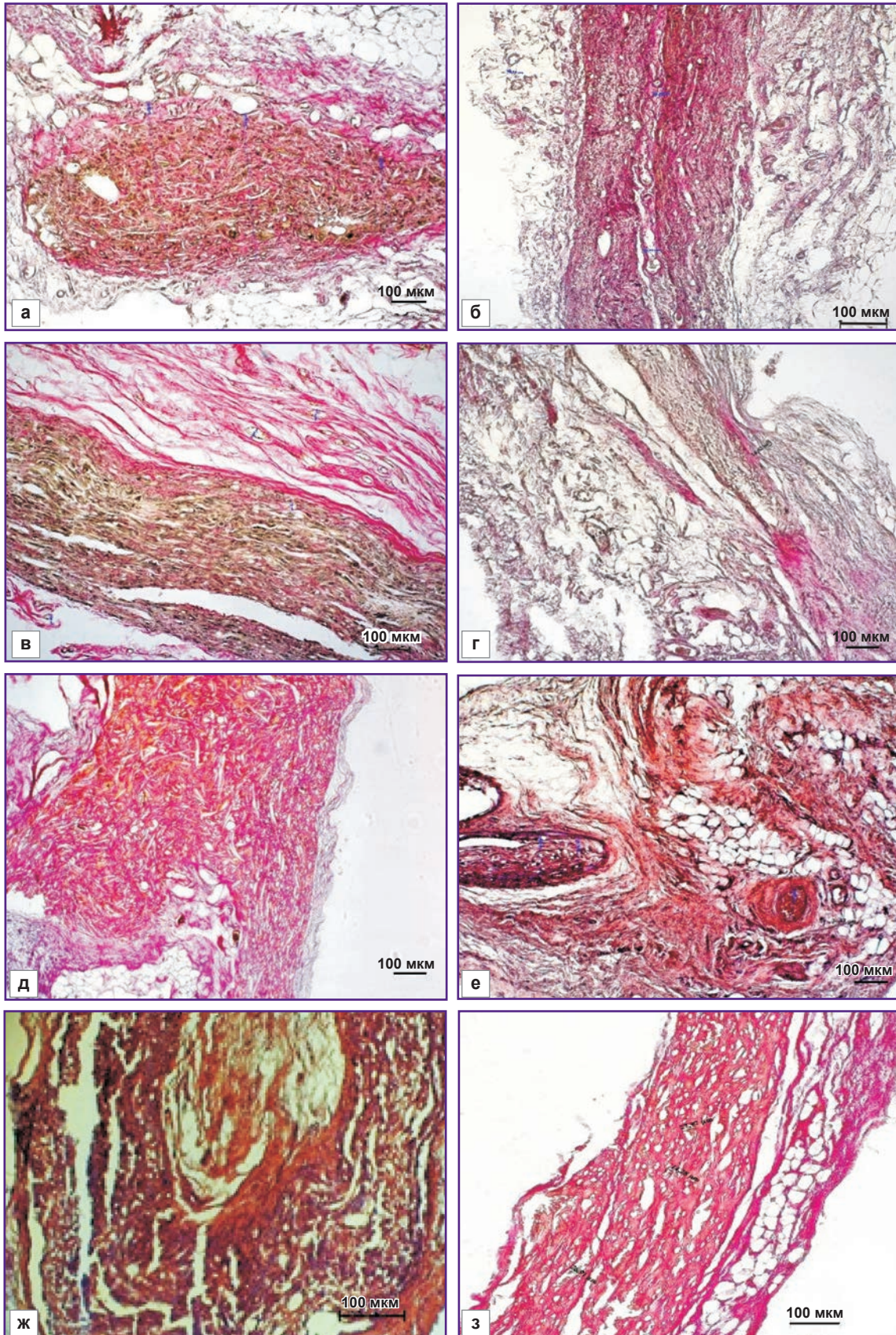
**Результаты и обсуждение.** Через 1 мес после имплантации во всех группах образцов признаков деградации матриц не отмечено (рис. 1). Микроскопически образцы были заключены в капсулы из рыхлой соединительной ткани, содержащей мало межклеточного вещества и множество клеточных элементов, среди которых преобладали лимфоциты, макрофаги и клетки фибробластического ряда.





**Рис. 1. Нетканые матрицы через 1 мес после имплантации,  $\times 100$ :**  
 а — PCL; б — PCL/PHBV; в — PCL + VEGF; г — PCL/PHBV + VEGF; д — PCL + bFGF; е — PCL/  
 PHBV + bFGF; ж — PCL + SDF-1 $\alpha$ ; з — PCL/PHBV + SDF-1 $\alpha$





**Рис. 2. Нетканые матрицы через 2 мес после имплантации,  $\times 100$ :**

**а** — PCL; **б** — PCL/PHBV; **в** — PCL + VEGF; **г** — PCL/PHBV + VEGF; **д** — PCL + bFGF; **е** — PCL/PHBV + bFGF; **ж** — PCL + SDF-1 $\alpha$ ; **з** — PCL/PHBV + SDF-1 $\alpha$



Отмечена обильная макрофагально-фибробластическая реакция на границе с НМ. В реактивной зоне вокруг матриксов определялись новообразованные кровеносные сосуды. Наибольшее число сосудов по сравнению со всеми исследуемыми группами наблюдали в матриксах с VEGF (рис. 1, в, з). В группе сополимерных матриксов PCL/PHBV с bFGF выявлено значительное количество последовательно расположенных тонкостенных кровеносных сосудов вдоль НМ (рис. 1, е). Образцы данной группы были окружены наиболее толстой, рыхлой, многослойной СТК.

В то же время внутри матриксов с инкорпорированным SDF-1 $\alpha$  были обнаружены единичные новообразованные кровеносные сосуды, наблюдалась интенсивная инфильтрация фибробластами и макрофагами толщи матриксов (рис. 1, ж, з).

Через 2 мес после имплантации существенных отличий в состоянии тканей и структуре фиброзных капсул вокруг матриксов не отмечено. По-прежнему визуализировали большое количество макрофагов, что свидетельствует об интенсивном процессе биорезорбции матриксов. Образцы полимера разделены на овальные фрагменты и окружены тонкой плотной СТК со слабо выраженной лейкоцитарной инфильтрацией (рис. 2).

Через 3 мес после имплантации НМ на основе PCL, как с ростовыми факторами, так без них, были растянуты в продольном направлении в 2,8 раза (рис. 3). Это может быть связано с большей эластичностью матриксов на основе PCL в сравнении с сополимерным вариантом. Поскольку образцы имплантировали на дорсальной стороне животного, движение крысы могло оказывать механическую нагрузку на эластичный материал, вследствие чего образец растягивался. Данный эффект может быть обусловлен и тем, что образцы имплантировали молодым животным массой 80–100 г, после имплантации матриксов активно развивающимся и увеличивающимся в размерах, а матриксы, которые уже в первый месяц

после имплантации прорастают тканями реципиента, вследствие высокой эластичности растягивались вслед за ростом животного. При имплантации аналогичных матриксов на переднюю поверхность сердца в ранее проведенных экспериментах подобного эффекта не наблюдали [5].

Слабо выраженная лейкоцитарная инфильтрация СТК отмечена у всех типов образцов. Через 3 мес после имплантации капсула характеризовалась наличием ярко выраженной двухслойности (рис. 4). Внутренний слой занимает 1/3 толщины, представлен рыхлой фиброзной тканью с большим количеством макрофагов, фибробластов и гигантских клеток инородных тел. Наружный слой представлен плотной фиброзной тканью в виде пучков коллагеновых волокон и прилегающих к ним фиброцитов, с обеднением клеточного состава инфильтрата. В НМ с VEGF наблюдали наибольшее количество сосудов в сравнении с другими группами (рис. 4, в, з). В группе образцов НМ с инкорпорированным bFGF отмечена интенсивная инфильтрация фибробластами самой толщи матриксов (рис. 4, д, е). Вокруг фибробластов располагался внеклеточный матрикс, причем количество клеток, заселявших матриксы, значительно увеличилось к 3-му месяцу эксперимента. СТК вокруг образцов данной группы отличались большей толщиной по сравнению с контролем и матриксами с VEGF и SDF-1 $\alpha$ . В матриксах с SDF-1 $\alpha$  визуализировали единичные сосуды в полях зрения (рис. 4, ж, з).

Через 6 мес эксперимента на наружной поверхности матриксов четко прослеживали дегенеративные процессы. Происходили разволокнение биоматериала и его лимфогистиоцитарная инфильтрация. Новообразованные коллагеновые волокна отмечали не только вокруг трансплантата, но и в толще матриксов. Наиболее интенсивно этот процесс происходил в НМ с SDF-1 $\alpha$  (рис. 5, ж, з). В группе образцов с инкорпорированным VEGF отмечено уменьшение количества сосудов (рис. 5, в, з), в матриксах с

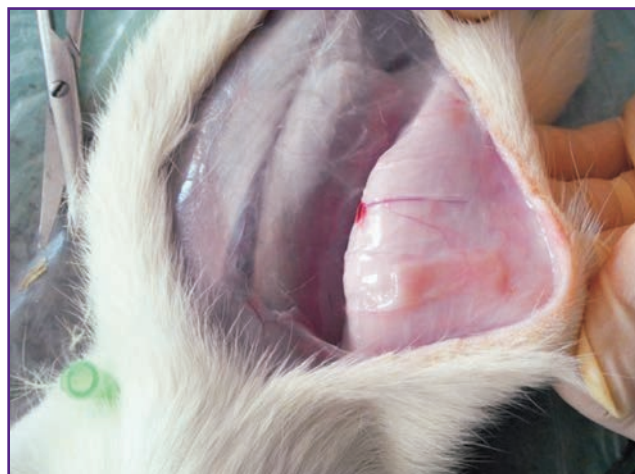
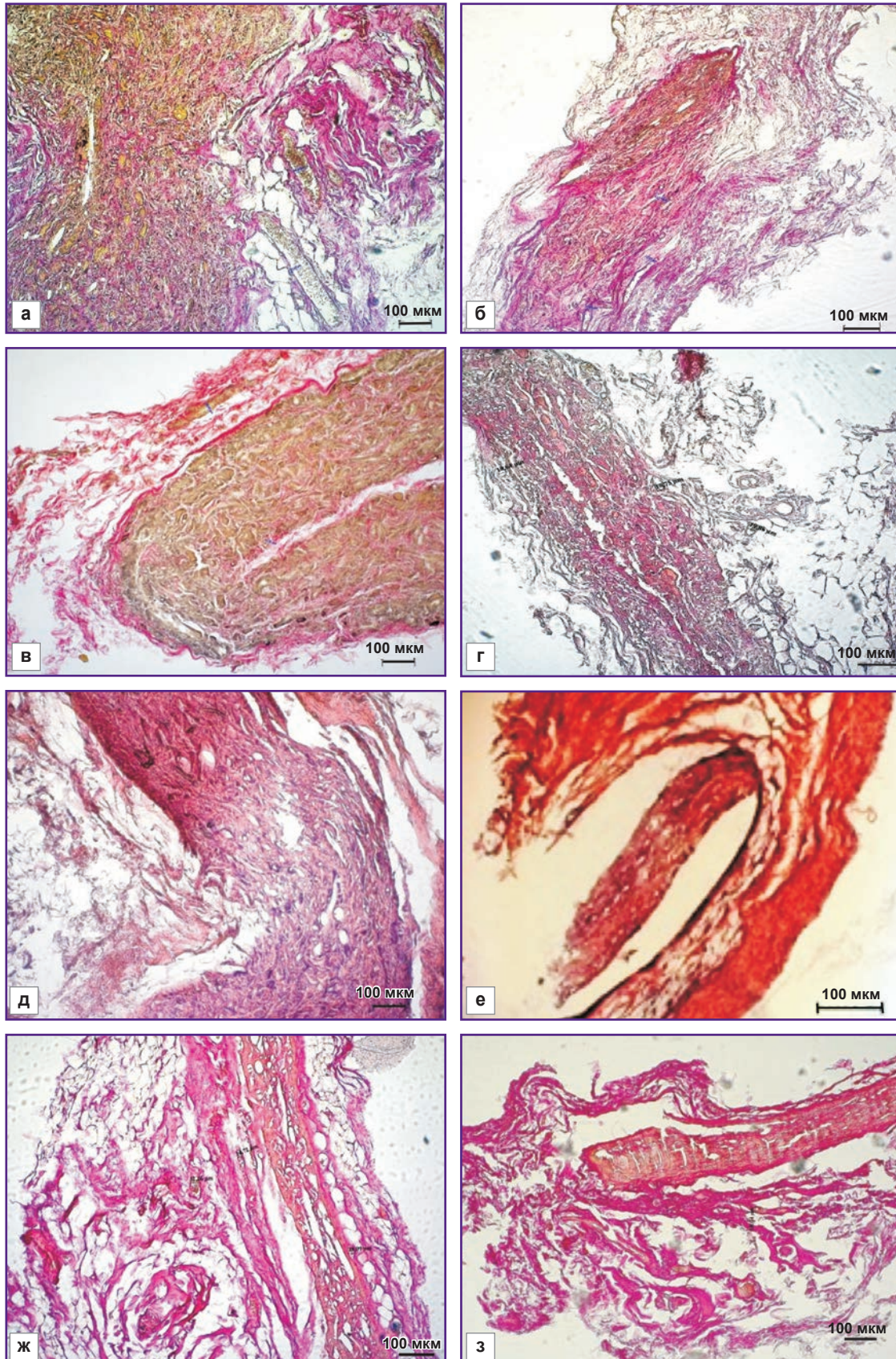


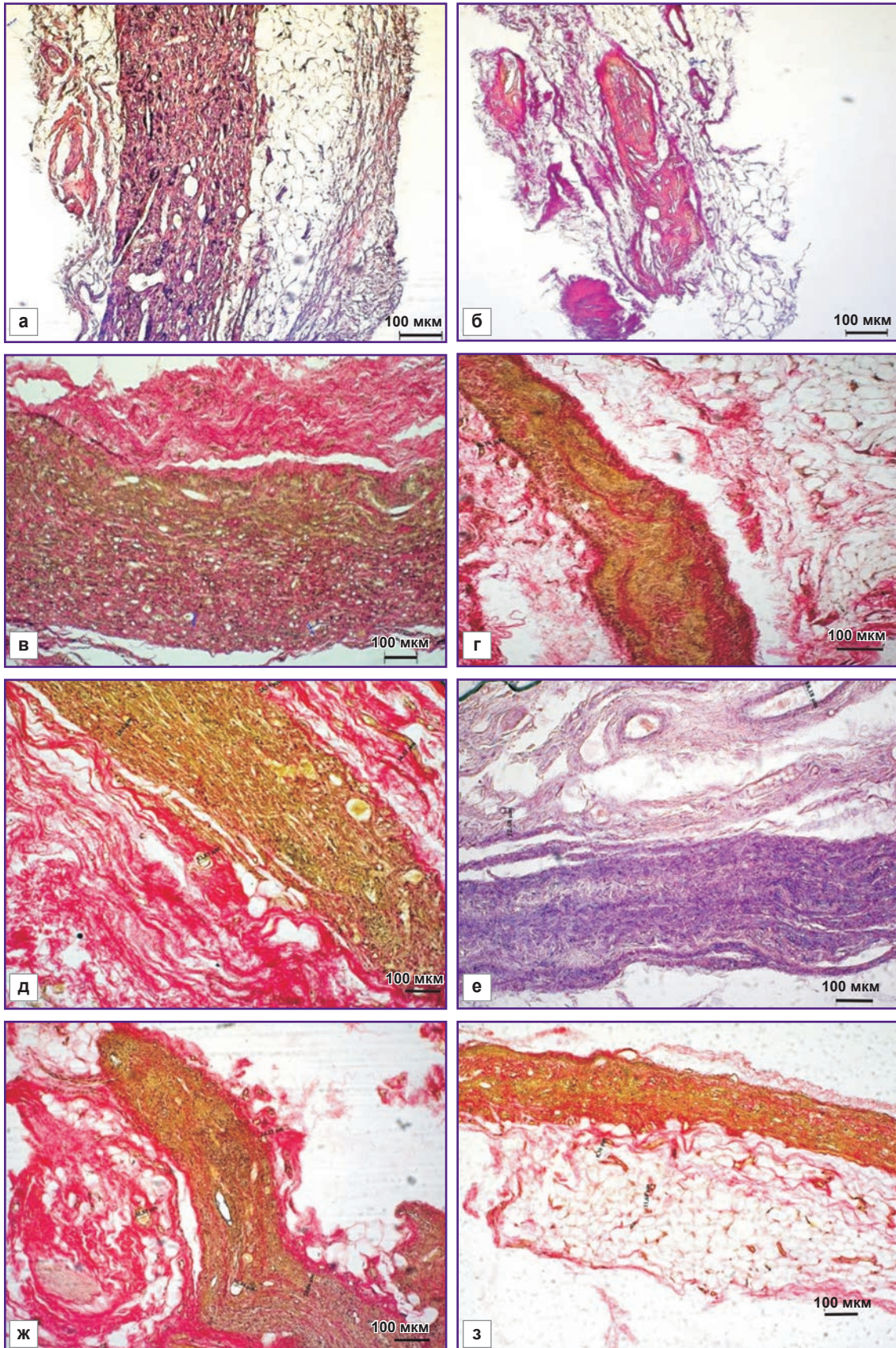
Рис. 3. Нетканые матриксы PCL через 3 мес после имплантации





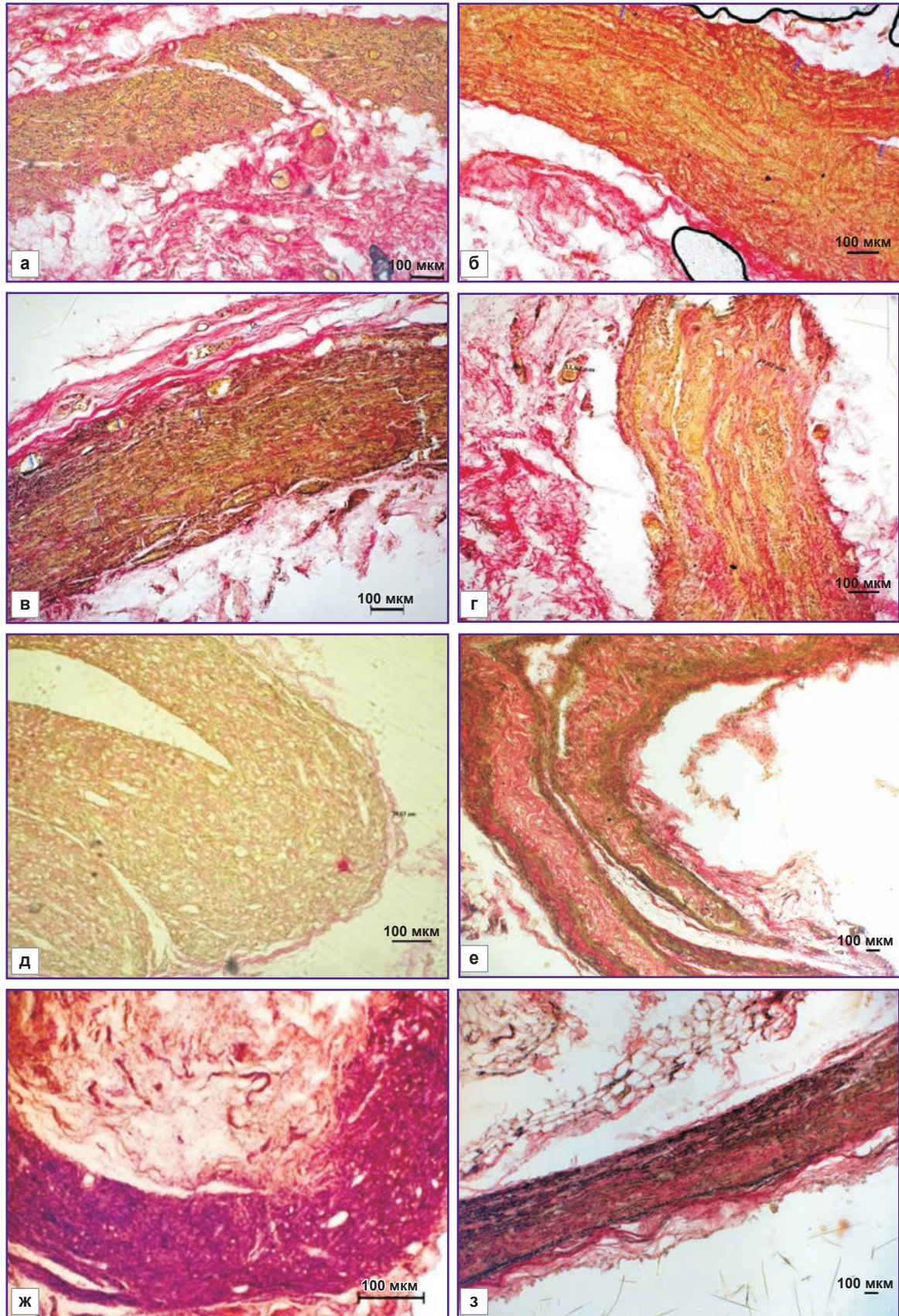
**Рис. 4. Нетканые матрицы через 3 мес после имплантации,  $\times 100$ :**  
 а — PCL; б — PCL/PHBV; в — PCL + VEGF; г — PCL/PHBV + VEGF; д — PCL + bFGF; е — PCL/PHBV + bFGF; ж — PCL + SDF-1 $\alpha$ ; з — PCL/PHBV + SDF-1 $\alpha$





**Рис. 5. Нетканые матрицы через 6 мес после имплантации, ×100:**  
 а — PCL; б — PCL/PHBV; в — PCL + VEGF; г — PCL/PHBV + VEGF; д — PCL + bFGF; е — PCL/PHBV + bFGF; ж — PCL + SDF-1α; з — PCL/PHBV + SDF-1α

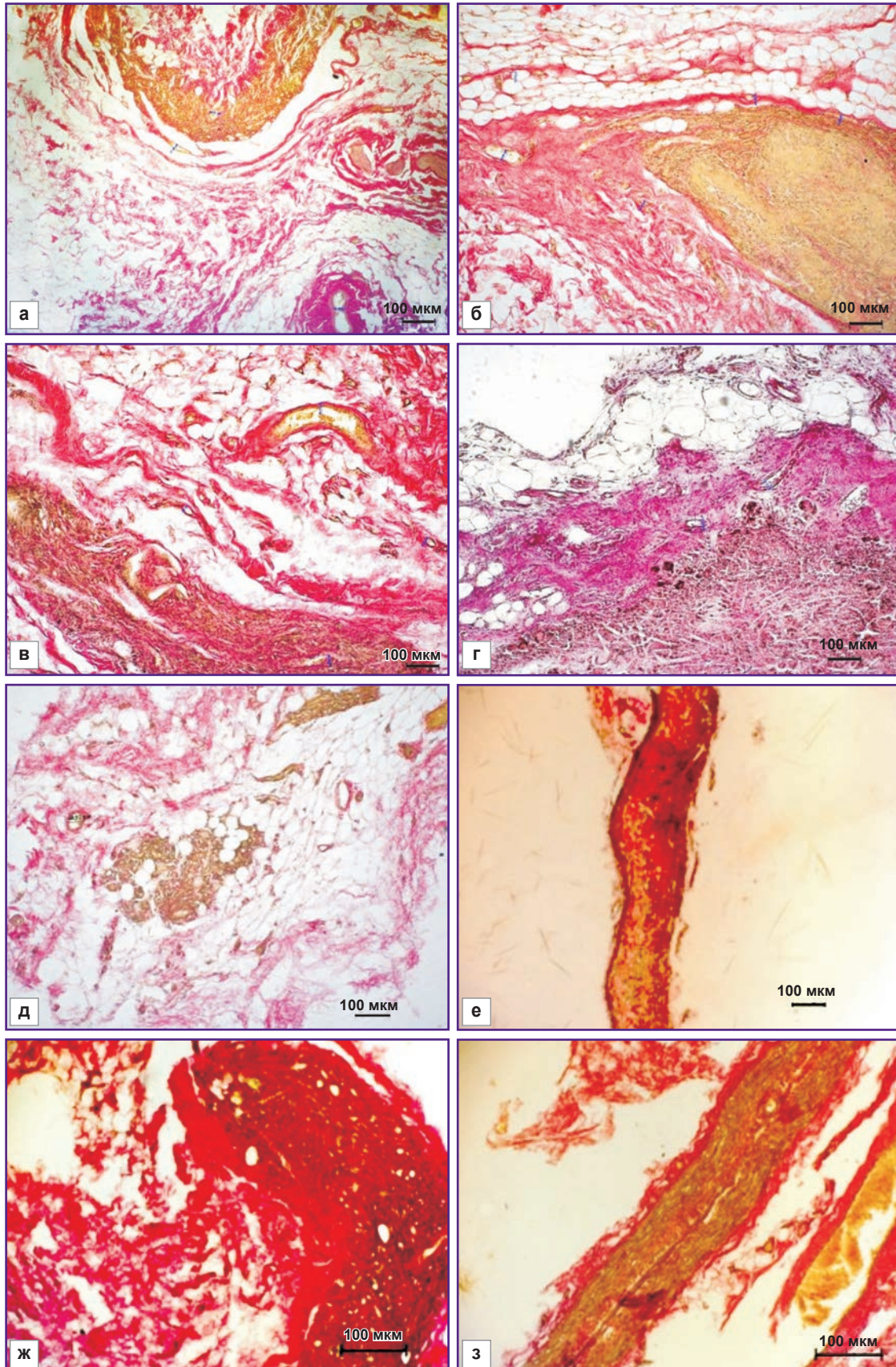




**Рис. 6. Нетканые матрицы через 9 мес после имплантации,  $\times 100$ :**

**а** — PCL; **б** — PCL/PHBV; **в** — PCL + VEGF; **г** — PCL/PHBV + VEGF; **д** — PCL + bFGF; **е** — PCL/PHBV + bFGF; **ж** — PCL + SDF-1 $\alpha$ ; **з** — PCL/PHBV + SDF-1 $\alpha$





**Рис. 7. Нетканые матрицы через 12 мес имплантации,  $\times 100$ :**

а — PCL; б — PCL/PHBV; в — PCL + VEGF; г — PCL/PHBV + VEGF; д — PCL + bFGF; е — PCL/PHBV + bFGF; ж — PCL + SDF-1 $\alpha$ ; з — PCL/PHBV + SDF-1 $\alpha$



bFGF визуализировали пучки соединительной ткани (рис. 5, д, е).

Через 9 мес после имплантации происходило дальнейшее разрушение биоматериала с разволокнением матрикса. В матриксах с bFGF наблюдали очаги фиброза (рис. 6, д, е), с VEGF — слабую лимфоцитарную инфильтрацию (рис. 6, б, в). Во всех группах экспериментальных образцов визуализировали единичные сосуды в полях зрения. Необходимо отметить, что замещение НМ на основе PCL/PНВВ соединительной тканью происходит слоями с сохранением каркаса самого матрикса (см. рис. 6, б, в), в образцах чистого PCL разрастание ткани — хаотичное (см. рис. 6, а, в).

Через 12 мес имплантации гистологическая картина выглядит следующим образом: сохраняется гранулематозное воспаление, отмечается слабая васкуляризация матрикса всех исследуемых групп, происходит замещение фибробластов фиброцитами (рис. 7).

В толще матрикса с инкорпорированным VEGF наблюдались соединительнотканые прослойки (рис. 7, в, г), в образцах с bFGF сохранялись очаги фиброза (рис. 7, д, е). Отсутствовали признаки воспаления в группе PCL+SDF-1 $\alpha$  (рис. 7, ж, з). Поскольку происходит деградация НМ, образуются просветы, заполненные рыхлой соединительной тканью.

Таким образом, инкорпорирование НМ ростовыми факторами VEGF, bFGF и хемоаттрактантной молекулой SDF-1 $\alpha$  в процессе электроспиннинга не приводит к их разрушению при подкожной имплантации, что подтверждается эффектами их специфического воздействия, выявленного при гистологическом анализе. Наиболее активный ангиогенез (НМ с VEGF), формирование толстой СТК (НМ с bFGF), обогащение клеточного состава (НМ с SDF-1 $\alpha$ ) зарегистрированы в первые три месяца подкожной имплантации. Далее наблюдалась динамика в ряде случаев. Это может быть связано как с сохранением биологической активности данных молекул, так и с продолжением развития каскада реакций, которые были запущены в первые три месяца.

**Заключение.** При подкожной имплантации немодифицированных и биофункционализированных нетканых матриксах наблюдается картина асептического воспаления. Наиболее активный ангиогенез и умеренная клеточная инфильтрация на протяжении первых трех месяцев отмечаются у экспериментальных образцов нетканых матрикса с инкорпорированным VEGF. В образцах с инкорпорированным SDF-1 $\alpha$  происходит активная инфильтрация прилежащих тканей клетками, синтезирующими внеклеточный матрикс. Наличие гранулематозного воспаления на 12-м месяце имплантации, проходящего в перифокальной зоне, отражает иммунные процессы по типу гранулематозного воспаления, что говорит о неполной резорбции нетканых матрикса.

**Финансирование исследования.** Исследование

выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда (проект №14-25-00050).

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить.

## Литература/References

1. Catto V., Farè S., Freddi G., Tanzi M.C. Vascular tissue engineering: recent advances in small diameter blood vessel regeneration. *ISRN Vascular Medicine* 2014; 2014: 923030, <https://doi.org/10.1155/2014/923030>.
2. Hasan A., Memic A., Annabi N., Hossain M., Paul A., Dokmeci M.R., Dehghani F., Khademhosseini A. Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. *Acta Biomater* 2014; 10(1): 11–25, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.08.022>.
3. Lee Y.-S., Livingston Arinze T. Electrospun nanofibrous materials for neural tissue engineering. *Polymers* 2011; 3(4): 413–426, <https://doi.org/10.3390/polym3010413>.
4. Sankaran K.K., Subramanian A., Krishnan U.M., Sethuraman S. Nanoarchitecture of scaffolds and endothelial cells in engineering small diameter vascular grafts. *Biotechnol J* 2015; 10(1): 96–108, <https://doi.org/10.1002/biot.201400415>.
5. Антонова Л.В., Бураго А.Ю., Матвеева В.Г., Кудрявцева Ю.А., Насонова М.В., Торопова Я.Г., Великанова Е.А., Головкин А.С. Особенности биорезорбции клеточных и бесклеточных пленочных матрикса из полиоксиданов и поликапролактона в условиях хронического долгосрочного эксперимента. *Фундаментальные исследования* 2013; 7(1): 17–23. Antonova L.V., Burago A.Y., Matveeva V.G., Kudryavtseva Y.A., Nasonova M.V., Toropova Y.G., Velikanova E.A., Golovkin A.S. Bioresorption characteristics of plain and cell-loaded polyhydroxyalkanoate and polycaprolactone film scaffolds in chronic long-term experiment. *Fundamentalnye issledovaniya* 2013; 7(1): 17–23.
6. Антонова Л.В., Насонова М.В., Кудрявцева Ю.А., Головкин А.С. Возможности использования полиоксиданов и поликапролактона в качестве сополимерной основы для создания тканеинженерных конструкций в сердечно-сосудистой хирургии. *Бюллетень сибирской медицины* 2012; 11(1): 128–134. Antonova L.V., Nasonova M.V., Kudryavtseva Yu.A., Golovkin A.S. Potential for polyhydroxyalkanoates and polycaprolactone copolymer use as tissue-engineered scaffolds in cardiovascular surgery. *Bulleten sibirskoy meditsiny* 2012; 11(1): 128–134.
7. Попова И.В., Степанова А.О., Плотникова Т.А., Сергеевичев Д.С., Акулов А.Е., Покушалов А.А., Лaktionov П.П., Карпенко А.А. Изучение проходимости сосудистого протеза, изготовленного методом электроспиннинга. *Ангиология и сосудистая хирургия* 2015; 21(2): 136–141. Popova I.V., Stepanova A.O., Plotnikova T.A., Sergeevichev D.S., Akulov A.E., Pokushalov A.A., Laktionov P.P., Karpenko A.A. Study of patency of vascular grafts manufactured by means of electrospinning. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya* 2015; 21(2): 136–141.
8. de Valence S., Tille J.-C., Mugnai D., Mrowczynski W., Gurny R., Möller M., Walpoth B.H. Long term performance of polycaprolactone vascular grafts in a rat abdominal aorta replacement model. *Biomaterials* 2012; 33(1): 38–47, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.09.024>.



9. Rabkin E., Schoen F.J. Cardiovascular tissue engineering. *Cardiovasc Pathol* 2002; 11(6): 305–317, [https://doi.org/10.1016/s1054-8807\(02\)00130-8](https://doi.org/10.1016/s1054-8807(02)00130-8).

10. Finlay H.M., Whittaker P., Canham P.B. Collagen organization in the branching region of human brain arteries. *Stroke* 1998; 29(8): 1595–1601, <https://doi.org/10.1161/01.str.29.8.1595>.

11. Natasha G., Tan A., Gundogan B., Farhatnia Y., Nayyer L., Mahdibeiraghdar S., Rajadas J., De Coppi P., Davies A.H., Seifalian A.M. Tissue engineering vascular grafts a fortiori: looking back and going forward. *Expert Opin Biol Ther* 2014; 15(2): 231–244, <https://doi.org/10.1517/14712598.2015.980234>.

12. Azimi-Nezhad M. Vascular endothelial growth factor from embryonic status to cardiovascular pathology. *Rep Biochem Mol Biol* 2014; 2(2): 59–69.

13. Harburger D.S., Calderwood D.A. Integrin signalling at a glance. *J Cell Sci* 2009; 122(9): 1472–1472, <https://doi.org/10.1242/jcs.052910>.

14. ГОСТ ISO 10993-1-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования. 5.2.9 Имплантация. GOST ISO 10993-1-2011. Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 1. Evaluation and testing. 5.2.9 Implantation.

15. Nasonova M.V., Antonova I.V., Matveeva V.G., Doronina N.V., Ezhov V.A., Burago A.Y., Glushkova T.V., Kudryavtseva Yu.A. Resorption rate of polyhydroxyalkanoatebased scaffolds and scaffolds with multipotent mesenchymal stromal cells. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases* 2015; 1: 39, <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2015-1-39-45>.