

НОВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ МОДИФИЦИРОВАНИЯ RGD-ПЕПТИДАМИ ПОВЕРХНОСТИ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ СОСУДИСТЫХ ПРОТЕЗОВ: ВЛИЯНИЕ НА СТРУКТУРУ ПОВЕРХНОСТИ И ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

DOI: 10.17691/stm2019.11.3.02

УДК 577.112:369.223.25:616–77

Поступила 3.09.2018 г.

© Л.В. Антонова, д.м.н., зав. лабораторией клеточных технологий¹;
 В.Н. Сильников, д.х.н., зав. лабораторией органического синтеза²;
 Т.В. Глушкова, к.б.н., научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов¹;
 Л.С. Королева, к.х.н., научный сотрудник лаборатории органического синтеза²;
 И.Ю. Серпокрылова, к.х.н., младший научный сотрудник лаборатории органического синтеза²;
 В.В. Севостьянова, к.м.н., научный сотрудник лаборатории клеточных технологий¹;
 Е.О. Кривкина, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий¹;
 Е.А. Сенокосова, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий¹;
 А.В. Миронов, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий¹;
 Ю.А. Кудрявцева, д.б.н., зав. отделом экспериментальной и клинической кардиологии¹;
 Л.С. Барбараш, д.м.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник¹

¹Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Сосновый б-р, 6, Кемерово, 650002;

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, пр. Академика Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090

Цель исследования — оценить эффективность новой технологии модифицирования RGD-пептидами биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра из полигидроксибутирата/валерата (PHBV) и поликапролактона (PCL) и ее влияние на структуру поверхности и физико-механические характеристики этих протезов.

Материалы и методы. Трубочатые полимерные протезы (матрицы, графты) диаметром 1,5 мм изготавливали методом электроспиннинга из композиции полимеров PHBV и PCL. Для модифицирования поверхности полимерных каркасов использовали гексаметилендиамин, глутаровый альдегид, аскорбиновую кислоту, аргинин-глицин-аспарагиновую кислоту. Качество проведенной модификации оценивали с помощью нингидринового теста и посредством определения аргининсодержащего пептида. Структуру поверхности протезов до и после модифицирования изучали методом сканирующей электронной микроскопии. Оценку механических свойств проводили в условиях одноосного растяжения с определением предела прочности, относительного удлинения и модуля Юнга. В качестве контроля этих параметров использовали характеристики внутренней грудной артерии человека (a. mammae), в качестве группы сравнения — сосудистый синтетический протез на основе линейного политетрафторэтилена (ePTFE).

Результаты. Присутствие RGD-пептидов на полимерной поверхности подтверждено с помощью теста Сакагучи на наличие аргинина. Использованный режим модифицирования не менял структуру поверхности полимерных графтов, однако привел к снижению их жесткости в 1,6 раза, прочности — в 3,9 раза, а относительного удлинения — в 1,7 раза. При этом физико-механические свойства графтов PHBV/PCL+RGD приблизились к свойствам a. mammae.

Заключение. Разработанная технология модифицирования RGD-пептидами поверхности сосудистых графтов на основе PHBV/PCL позволила приблизить физико-механические свойства протезов PHBV/PCL+RGD к свойствам нативных сосудов без изменения структуры поверхности.

Ключевые слова: биodeградируемые сосудистые протезы; модифицирование поверхности сосудов; RGD-пептиды; электроспиннинг; аргинин-глицин-аспарагиновая кислота.

Как цитировать: Antonova L.V., Silnikov V.N., Glushkova T.V., Koroleva L.S., Serpokrilova I.Yu., Sevostyanova V.V., Krivkina E.O., Senokosova E.A., Mironov A.V., Kudryavtseva Yu.A., Barbarash L.S. Novel technology of modifying the surface of biodegradable vascular grafts with RGD peptides: effect on the surface structure and physical and mechanical properties. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(3): 15–21, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.3.02>

Для контактов: Антонова Лариса Валерьевна, e-mail: antonova.la@mail.ru

Novel Technology of Modifying the Surface of Biodegradable Vascular Grafts with RGD Peptides: Effect on the Surface Structure and Physical and Mechanical Properties

L.V. Antonova, MD, DSc, Head of the Laboratory of Cell Technologies¹;
 V.N. Silnikov, DSc, Head of the Laboratory of Organic Synthesis²;
 T.V. Glushkova, PhD, Researcher, Laboratory of New Biomaterials¹;
 L.S. Koroleva, PhD, Researcher, Laboratory of Organic Synthesis²;
 I.Yu. Serpokrilo, PhD, Junior Researcher, Laboratory of Organic Synthesis²;
 V.V. Sevostyanova, PhD, Researcher, Laboratory of Cell Technologies¹;
 E.O. Krivkina, Junior Researcher, Laboratory of Cell Technologies¹;
 E.A. Senokosova, Junior Researcher, Laboratory of Cell Technologies¹;
 A.V. Mironov, Junior Researcher, Laboratory of Cell Technologies¹;
 Yu.A. Kudryavtseva, DSc, Head of Experimental and Clinical Cardiology Department¹;
 L.S. Barbarash, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher¹

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, 6 Sosnovy Blvd, Kemerovo, 650002, Russia;

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 8 Lavrentiev Avenue, Novosibirsk, 630090, Russia

The aim of the study was to assess the effectiveness of a new technology of modifying biodegradable small-diameter vascular grafts from polyhydroxybutyrate/valerate (PHBV) and polycaprolactone (PCL) with RGD peptides and its effect on the surface structure and physical and mechanical characteristics of these grafts.

Materials and Methods. Tubular polymer prostheses (matrices, grafts) 1.5 mm in diameter were fabricated using electrospinning method from the composition of PHBV and PCL polymers. Hexamethylenediamine, glutaraldehyde, ascorbic acid, and arginine-glycine-aspartic acid were used to modify the surface of polymer scaffolds. The quality of the modification performed was assessed using a ninhydrin test and by determining the arginine-containing peptide. The structure of the graft surfaces before and after modification was examined using scanning electron microscopy. Mechanical properties were evaluated by uniaxial tension with determination of ultimate tensile strength, relative elongation, and Young's modulus. The characteristics of the internal mammary artery (a. mammaria interna) were used as a control of these parameters, vascular synthetic ePTFE-based linear grafts served as a group of comparison.

Results. Presence of RGD peptides on the polymer surface was confirmed by a Sakaguchi test which is specific for arginine. The mode of modification did not alter the surface structure of the polymer grafts but resulted in the reduction of their rigidity by 1.6 times, strength by 3.9 times, and relative elongation by 1.7 times. The physical and mechanical properties of PHBV/PCL+RGD grafts approached those of the a. mammaria.

Conclusion. The developed technology of modifying the surfaces of PHBV/PCL-based vascular grafts with RGD peptides made it possible to obtain PHBV/PCL+RGD grafts with the physical and mechanical properties approaching to those of the native vessels without any changes of the surface structure.

Key words: biodegradable vascular grafts; modified vessel surfaces; RGD peptides; electrospinning; arginine-glycine-aspartic acid.

Введение

В настоящее время известно уже большое количество методов физической, химической и биологической модификации поверхности тканеинженерных конструкций, основной целью которой является повышение биосовместимости материала, выбранного для их изготовления. К изделиям, разрабатываемым для нужд сердечно-сосудистой хирургии, предъявляется целый спектр дополнительных требований, в конечном итоге гарантирующих состоятельность данных изделий после имплантации в сосудистое русло.

В частности, тромборезистентность внутренней поверхности сосудистых протезов, которая в нативных сосудах обусловлена функционированием сохраненного эндотелиального слоя, — залог долгосрочной проходимости в условиях организма. В физиологических условиях эндотелий сосудов обладает высокой тромборезистентностью, продуцируя большое количество биологически активных факторов, которые связаны с гомеостазом, фибринолизом, нарушением сосудистого тонуса, проницаемостью сосудов, синтезом факторов роста [1]. Одним из решающих факторов надежности сосудистого трансплантата малого

диаметра является скорейшее образование эндотелиальной выстилки на его внутренней поверхности, что может обеспечить атромбогенный эффект и полноценный просвет будущего новообразованного сосуда. Формирование эндотелиального слоя *in situ* после имплантации протеза (матрикса, графта) в кровоток возможно благодаря привлечению или захвату эндотелиальных прогениторных клеток из кровотока, которые после адгезии на пористой поверхности протеза способны пролиферировать и полностью заполнять поверхность, дифференцируясь далее в зрелые эндотелиальные клетки [2].

В последние годы был разработан ряд стратегий для улучшения возможностей придания полимерным поверхностям способности селективно адгезировать эндотелиальные клетки с целью ускорения эндотелизации. Большинство из них заключаются в иммобилизации или фиксации на поверхности специфических белков клеточной адгезии и биоактивных пептидов [3].

Аргинин-глицин-аспарагин (RGD) представляет собой сайт клеточной адгезии, присутствующий на многих белках внеклеточного матрикса [4]. Данная последовательность является одним из ключевых лигандов для интегринов — рецепторов, которые ответственны за клеточную адгезию, миграцию, пролиферацию, дифференцировку и выживание [5]. RGD-пептид можно считать общим интегринсвязывающим мотивом. В сравнении с белками биоактивные RGD-содержащие пептиды обладают более простой структурой и более высокой химической стабильностью. Благодаря искусственному синтезу можно получать разнообразные конфигурации RGD-пептидов, обладающие низкой иммуногенностью и разным потенциалом взаимодействия с клетками.

Различные виды синтетических материалов, модифицированных с помощью различных форм RGD, были протестированы на эффективность адгезии зрелых и прогениторных эндотелиальных клеток [6–9]. Доказано, что RGD-трипептид ускоряет эндотелизацию поверхности полимерных материалов [10–12]. Тропность к эндотелиальным клеткам делает RGD-пептиды и их конфигурации идеальными агентами для модифицирования медицинских изделий, контактирующих с кровью и требующих скорейшей эндотелизации поверхности материала.

Установлено, что на эффективность клеточной адгезии влияет не только конфигурация RGD, но и длина линкерных групп, связывающих RGD-пептид с поверхностью модифицируемой конструкции. Лучшие результаты были получены при использовании наиболее протяженных линкерных групп [13].

По данным наших предыдущих исследований, степень первичной модификации поверхности возрастала с увеличением времени обработки гексаметилендиамином. Максимальная плотность модифицирования поверхности графтов составила 8,9 нМ/см² при продолжительности модифицирования в течение

60 мин [14]. Однако при этом значительно ухудшились физико-механические характеристики протезов [15].

Известно, что основное требование к любым модифицирующим процессам — они не должны менять структуру и негативно сказываться на физико-механических характеристиках конечного изделия. Запас прочности для изделий, функционирующих в условиях пульсирующего потока крови, необходим для предотвращения образования аневризм до момента формирования новообразованной ткани *in situ*. Упруго-деформативные свойства должны быть приближены к свойствам нативного сосуда с целью сохранения комплайенса между сосудом и имплантируемым протезом. Вышеперечисленные требования являются особенно критичными для изделий, разрабатываемых для нужд сердечно-сосудистой хирургии.

Цель исследования — оценить эффективность новой технологии модифицирования RGD-пептидами биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра из полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона и ее влияние на структуру поверхности и физико-механические характеристики протезов.

Материалы и методы

Изготовление трубчатых каркасов PHBV/PCL. Трубчатые полимерные матрицы диаметром 1,5 мм изготовлены методом электроспиннинга на приборе Nanon-01A (MECC Co. Ltd, Япония) из композиции полимеров полигидроксibuтирата/валерата (PHBV) с 10% содержанием валерата (Sigma-Aldrich, США) и поликапролактона (PCL) с молекулярной массой 80 000 кДа (Sigma-Aldrich, США). В качестве растворителя использовали неполярный органический растворитель хлороформ ХЧ («Вектон», Россия). Соотношение полимеров в растворе — 1:2.

Модифицирование матриц PHBV/PCL RGD-пептидами. Для модифицирования поверхности полимерных трубчатых каркасов PHBV/PCL диаметром 1,5 мм использовали гексаметилендиамин, глутаровый альдегид, нингидрин, аскорбиновую кислоту (Sigma-Aldrich, США) и RGD («НаноТех-С», Россия). Сначала каркасы обрабатывали 10% раствором гексаметилендиамина в смеси изопропанола и воды (соотношение 1:1) при 37°C в течение 30 мин, что сокращало в 2 раза время проведения модификации [14, 15]. При этом, как и при дальнейших обработках, каждый графт находился в отдельном реакторе объемом 15 мл в горизонтальном положении при постоянном покачивании.

Далее трубчатые каркасы PHBV/PCL последовательно промывали трехкратным объемом следующих реакторов:

- 1) смесью изопропанола и воды 1:1;
- 2) бидистиллированной водой;
- 3) 0,1% раствором Тритон X-100;
- 4) бидистиллированной водой.

После последней промывки трубчатые каркасы

PHBV/PCL обрабатывали 2% раствором глутарового альдегида в воде в течение 3 ч при 24°C, промывали трехкратным объемом бидистиллированной воды, затем помещали в раствор 0,2 мг/мл пептида в 50 мМ карбонатном буфере (pH=8,5), содержащем 2,5 мМ цианоборгидрида натрия, и выдерживали в течение 4 ч при 24°C.

После присоединения RGD-пептида графты промывали трехкратным объемом реактора:

- 1) 0,1% раствором Тритон X-100;
- 2) бидистиллированной водой.

Определение наличия аргинин-содержащего пептида [16, 17]. К 1 см² образца графты добавляли раствор 0,5 мл α-нафтола (0,01% раствор в 95% этиловом спирте с 5% мочевины). После равномерного смачивания образцов в раствор вносили 50 мкл 2 н. раствора NaOH в спирте. Через 5 мин в реакционные смеси добавляли по 0,5 мл раствора брома (2% раствор в 8% водном растворе NaOH). Образец инкубировали 12 ч при комнатной температуре. Окрашивание его в оранжево-красный цвет свидетельствовало о наличии гуанидиновой группы аргинина.

Сканирующая электронная микроскопия поверхности матриц. Структура внутренней поверхности и толщина стенки нетканых трубчатых каркасов PHBV/PCL размером 0,5×0,5 мм, немодифицированных и модифицированных RGD-пептидами (n=5 в каждой группе), была изучена на сканирующем электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума. Для исследования образцы напыляли золотом и палладием на вакуумной установке SC-7640 (Quorum Technologies, Англия).

Физико-механические испытания биодеградируемых сосудистых протезов. Оценка механических свойств проводили в условиях одноосного растяжения в соответствии с ГОСТ 270-75. Вырубку образцов осуществляли в продольном направлении сосудистого сегмента. Для контроля использовали параметры внутренней грудной артерии человека (a. mammaria) в качестве «золотого стандарта». Сегменты a. mammaria забирали при проведении операции аортокоронарного шунтирования у пациентов, подписавших Договор информированного согласия на забор материала. В качестве сравнительной группы исследовали сосудистый синтетический протез на основе политетрафторэтилена (ePTFE), широко используемый в сердечно-сосудистой хирургии.

Испытания проведены на универсальной испытательной машине Zwick/Roell (Zwick GmbH, Германия) с использованием датчика с номинальной силой 50 Н при скорости перемещения траверсы 10 мм/мин. Предел прочности материала оценивали как максимальное напряжение при растяжении (МПа) до начала разрушения, а упруго-деформативные свойства — по относительному удлинению до начала разрушения образца (%) и модулю Юнга (МПа), который опреде-

ляли в диапазоне физиологического давления (80–120 мм рт. ст.).

Статистика. Обработку полученных данных проводили общепринятыми методами статистики при помощи пакета прикладных программ для обработки медицинской и биологической информации Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США). Характер распределения в выборках оценивали при помощи критерия Колмогорова–Смирнова. При распределении, отличном от нормального, данные представлены как медиана (Me) и квартили (25% и 75%). При нормальном распределении данные представлены как средняя (M) и ошибка средней (σ). Статистическую значимость различий между двумя независимыми группами оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни или t-критерия Стьюдента. Достоверными считали различия при уровне значимости p<0,05.

Результаты и обсуждение

Плотность модифицирования поверхности протезов RGD-пептидами при продолжительности модифицирования в течение 30 мин составила 6,3 нМ/см². Наличие пептидов на полимерной поверхности подтверждено с использованием теста Сакагучи на наличие аргинина [16, 17]. Окраска образца не исчезла после промывки, что свидетельствовало о ковалентной пришивке пептида. Контрольный образец, не содержащий RGD-пептида, окрашивался в светло-желтый цвет, окраска его исчезала при промывках. Таким образом, была подтверждена эффективность модифицирования RGD-пептидами поверхности трубчатых каркасов PHBV/PCL с продолжительностью времени модификации 30 мин, что значительно укорачивает время проведения процедуры модифицирования.

Модифицированные и немодифицированные RGD-пептидами графты PHBV/PCL обладали высокопористой структурой с толщиной стенки 170–250 мкм и гомогенными волокнами (рис. 1).

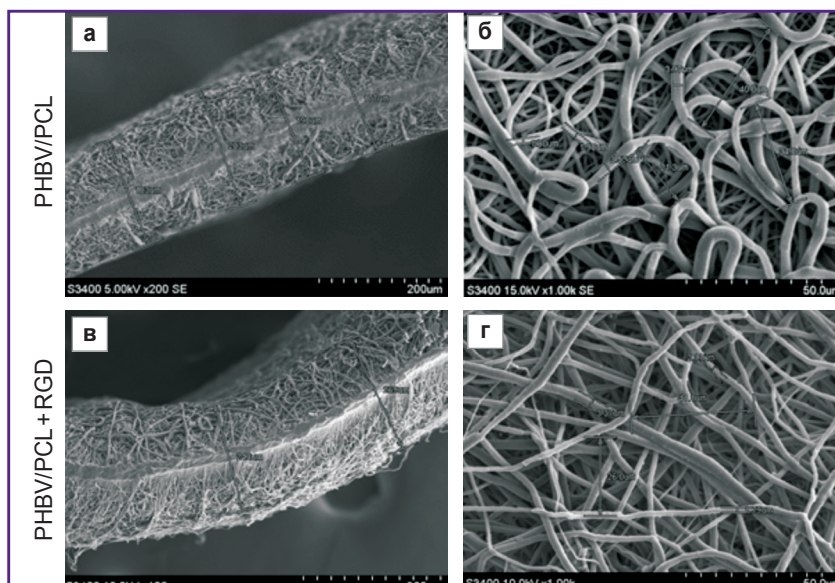
Средний диаметр волокон и средняя площадь пор в графтах составили соответственно 2,63±1,14 мкм и 47,13±23,0 мкм² при пористости около 50,0%. Модификация RGD-пептидами статистически значимо не влияла на данные показатели. В отличие от немодифицированных образцов полимерные графты, конъюгированные с RGD-пептидами, имели выпуклости на нитях полимера. Данные неровности предположительно представляют собой иммобилизованные на поверхности RGD-биомолекулы.

Сосудистый протез на основе ePTFE по упруго-деформативным свойствам достоверно не отличался, а по прочностным характеристикам — в 3,9 раза превосходил a. mammaria, p<0,05 (см. таблицу).

Обнаружено, что механические свойства немодифицированных сосудистых протезов на основе PHBV/PCL не соответствовали таковым у нативных

Рис. 1. Сканирующая электронная микроскопия графтов PHBV/PCL, немодифицированных и модифицированных RGD-пептидами:

а — поперечный срез стенки немодифицированного PHBV/PCL, $\times 200$; **б** — внутренняя поверхность немодифицированного PHBV/PCL, $\times 1000$; **в** — поперечный срез стенки PHBV/PCL+RGD, $\times 150$; **г** — внутренняя поверхность PHBV/PCL+RGD, $\times 1000$



сосудов и синтетических сосудистых протезов на основе ePTFE, характеризующаясь высокой жесткостью, прочностью и относительным удлинением. Значения модуля Юнга графтов PHBV/PCL в 10 раз превысили значения данного показателя у *a. mammaria* ($p < 0,05$). Прочность немодифицированных графтов PHBV/PCL была выше в 2,8 раза, а относительное удлинение — в 14,5 раза относительно *a. mammaria* ($p < 0,05$). При этом прочность не отличалась от таковой у синтетического сосудистого протеза на основе ePTFE ($p < 0,05$).

Особенно критичным показателем для осуществления последующего комплайенса с сосудом, в который планируется имплантировать протез, является жесткость. Значимые несовпадения данных показателей протезируемого сосуда и сосудистого протеза могут в последующем провоцировать гипертрофию неоинтимы или тромбоз. Поэтому устранение жесткости являлось основной задачей при модификации RGD-пептидами сосудистых графтов на основе PHBV/PCL.

Модифицирование RGD-пептидами графтов PHBV/PCL привело к изменению физико-механических характеристик образцов (см. таблицу): отмечено снижение относительного удлинения в 1,7 раза на фоне снижения жесткости в 1,6 раза относительно немодифицированных аналогов ($p < 0,05$).

После проведенной модификации RGD-пептидами предел прочности сосудистых графтов PHBV/PCL стал в 3,9 раза ниже ($p > 0,05$), чем до модификации, что привело к нивелированию разницы в данных показателях с *a. mammaria*. При этом граф-

Механические свойства графтов в сравнении с нативными сосудами и синтетическими сосудистыми протезами (Me [25%; 75%])

Группы	Предел прочности, МПа	Относительное удлинение, %	Модуль Юнга, МПа
<i>A. mammaria</i> (n=6)	2,48 (1,36; 3,25)	29,72 (23,51; 39,62)	2,34 (1,53; 2,95)
ePTFE (n=6)	9,70 (8,26; 10,97)*	38,69 (32,23; 52,13)	2,31 (1,65; 2,78)
PHBV/PCL (n=6)	7,05 (5,58; 8,02)*	431,33 (397,30; 574,55)**	28,0 (22,0; 32,9)**
PHBV/PCL+RGD (n=6)	1,82 (1,51; 2,04)##	248,40 (163,55; 288,23)***	17,85 (16,20; 19,40)***

Примечание: статистически значимые различия значений ($p < 0,05$): * — с показателями *a. mammaria*; # — с показателями полимерного графта ePTFE; + — с показателями полимерного графта PHBV/PCL.

ты PHBV/PCL+RGD имели статистически значимо большую способность к удлинению (в 8,4 и 6,4 раза соответственно) и высокую жесткость (в 7,6 и 7,7 раза соответственно) относительно данных показателей *a. mammaria* и синтетических протезов из ePTFE ($p > 0,05$).

Ответная реакция материалов на механическую нагрузку при повышенном сопротивлении проявляется ростом напряжения в материале при незначительных удлинениях, что мы и наблюдаем для графтов вне зависимости от модификации в диапазоне физиологических нагрузок. Несмотря на достоверное снижение жесткости и относительного удлинения графтов PHBV/PCL при модифицировании RGD-пептидами ($p \leq 0,05$), графики, отражающие соотношения напряжение/деформация, демонстрируют механическое поведение модифицированных графтов, отличное от *a. mammaria* и ePTFE (рис. 2).

Данный факт указывает на необходимость дальнейших исследований, направленных на оптимизацию упруго-деформативных свойств полимерных графтов.

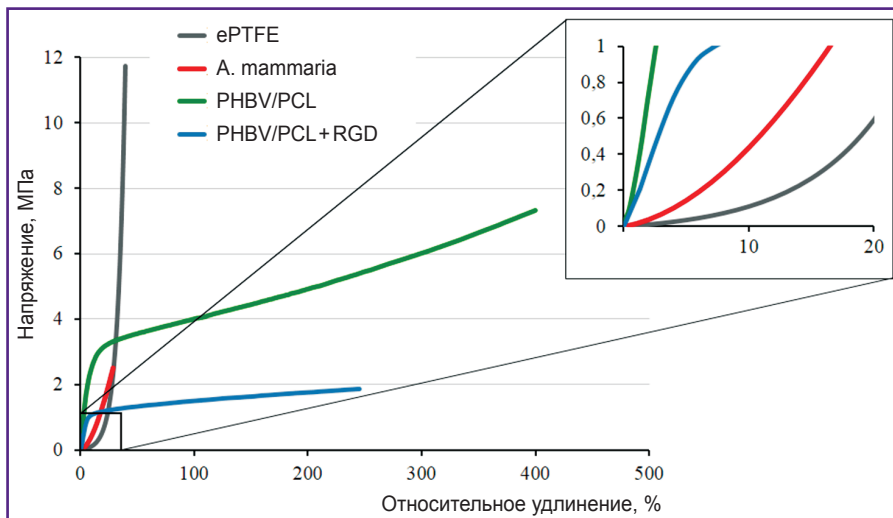


Рис. 2. Механические свойства полимерных графтов:

соотношение напряжение–деформация до начала разрушения; напряжение–деформация в условиях физиологического давления

Заключение

Использованный в данной работе режим модифицирования полимерных биodeградируемых трубчатых каркасов из PHBV/PCL RGD-пептидами продолжительностью 30 мин не привел к статистически значимому изменению структуры их поверхности. При этом после проведенного модифицирования снизилась жесткость графтов и их способность к удлинению, что приблизило физико-механические свойства сосудистых протезов PHBV/PCL+RGD к свойствам нативных сосудов.

В дальнейших экспериментах по проведению модифицирования биodeградируемых трубчатых каркасов необходим более тщательный подбор оптимальных значений времени и режимов воздействия модифицирующих агентов на полимер. Это необходимо как для достижения максимального качества модификации, так и для предупреждения пагубного воздействия на полимерную поверхность используемых в методике модифицирования пептидами поверхностно-активных веществ.

Финансирование исследования. Исследование выполнено в Научно-исследовательском институте комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний и в Институте химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН за счет средств интеграционного проекта «Биodeградируемый сосудистый графт малого диаметра, модифицированный функционально активными пептидами» комплексной программы фундаментальных научных исследований Сибирского отделения РАН II.1 (№0546-2018-0001). Блок работ Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний — «Разработка научных основ изготовления и модификации биodeградируемого сосудистого графта и его тестирования *in vitro*». Блок работ Института химической биологии и фундаментальной

медицины — «Модификация полимерного каркаса функционально активными пептидами и оценка качества проведенной модификации».

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература/References

1. Fadini G.P., Rattazzi M., Matsumoto T., Asahara T., Khosla S. Emerging role of circulating calcifying cells in the bone-vascular axis. *Circulation* 2012; 125(22): 2772–2781, <https://doi.org/10.1161/circulationaha.112.090860>.
2. Lee K.-W., Johnson N.R., Gao J., Wang Y. Human progenitor cell recruitment via SDF-1 α coacervate-laden PGS vascular grafts. *Biomaterials* 2013; 34(38): 9877–9885, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.08.082>.
3. 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>.
4. Wang F., Li Y., Shen Y., Wang A., Wang S., Xie T. The functions and applications of RGD in tumor therapy and tissue engineering. *Int J Mol Sci* 2013; 14(7): 13447–13462, <https://doi.org/10.3390/ijms140713447>.
5. Harburger D.S., Calderwood D.A. Integrin signalling at a glance. *J Cell Sci* 2008; 122(2): 159–163, <https://doi.org/10.1242/jcs.018093>.
6. Tiwari A., Kidane A., Salacinski H., Punshon G., Hamilton G., Seifalian A.M. Improving endothelial cell retention for single stage seeding of prosthetic grafts: use of polymer sequences of arginine-glycine-aspartate. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003; 25(4): 325–329, <https://doi.org/10.1053/ejvs.2002.1854>.
7. Kidane A.G., Punshon G., Salacinski H.J., Ramesh B., Dooley A., Olbrich M., Heitz J., Hamilton G., Seifalian A.M. Incorporation of a lauric acid-conjugated GRGDS peptide directly into the matrix of a poly(carbonate-urea)urethane polymer for use in cardiovascular bypass graft applications. *J Biomed Mater Res A* 2006; 79(3): 606–617, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30817>.
8. Alobaid N., Salacinski H.J., Sales K.M., Ramesh B.,

Kannan R.Y., Hamilton G., Seifalian A.M. Nanocomposite containing bioactive peptides promote endothelialisation by circulating progenitor cells: an in vitro evaluation. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006; 32(1): 76–83, <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2005.11.034>.

9. Salacinski H.J., Hamilton G., Seifalian A.M. Surface functionalization and grafting of heparin and/or RGD by an aqueous-based process to a poly(carbonate-urea)urethane cardiovascular graft for cellular engineering applications. *J Biomed Mater Res A* 2003; 66(3): 688–697, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.10020>.

10. Gabriel M., van Nieuw Amerongen G.P., van Hinsbergh V.W.M., van Nieuw Amerongen A.V., Zentner A. Direct grafting of RGD-motif-containing peptide on the surface of polycaprolactone films. *J Biomater Sci Polym Ed* 2006; 17(5): 567–577, <https://doi.org/10.1163/156856206776986288>.

11. Chung T.-W., Yang M.-G., Liu D.-Z., Chen W.-P., Pan C.-I., Wang S.-S. Enhancing growth human endothelial cells on Arg-Gly-Asp (RGD) embedded poly(epsilon-caprolactone) (PCL) surface with nanometer scale of surface disturbance. *J Biomed Mater Res A* 2004; 72(2): 213–219, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30225>.

12. Zheng W., Guan D., Teng Y., Wang Z., Zhang S., Wang L., Kong D., Zhang J. Functionalization of PCL fibrous membrane with RGD peptide by a naturally occurring condensation reaction. *Chinese Science Bulletin* 2014; 59(22): 2776–2784, <https://doi.org/10.1007/s11434-014-0336-0>.

13. Gabriel M., Nazmi K., Dahm M., Zentner A., Vahl C.-F., Strand D. Covalent RGD modification of the inner pore surface of polycaprolactone scaffolds. *J Biomater Sci Polym Ed* 2012; 23(7): 941–953, <https://doi.org/10.1163/092050611x566793>.

14. Антонова Л.В., Сильников В.Н., Ханова М.Ю., Королева Л.С., Серпокрялова И.Ю., Великанова Е.А., Матвеева В.Г., Сенокосова Е.А., Миронов А.В., Кривкина Е.О.,

Кудрявцева Ю.А., Барбараш Л.С. Оценка адгезии, пролиферации и жизнеспособности эндотелиальных клеток пупочной вены человека, культивируемых на поверхности биodeградируемых нетканых матриксов, модифицированных RGD-пептидами. Вестник трансплантологии и искусственных органов 2019; 21(1): 142–152. Antonova L.V., Silnikov V.N., Khanova M.Yu., Koroleva L.S., Serpokrylova I.Yu., Velikanova E.A., Matveeva V.G., Senokosova E.A., Mironov A.V., Krivkina E.O., Kudryavtseva Yu.A., Barbarash L.S. Adhesion, proliferation and viability of human umbilical vein endothelial cells cultured on the surface of biodegradable non-woven matrices modified with RGD peptides. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov* 2019; 21(1): 142–152, <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-1-142-152>.

15. Antonova L.V., Silnikov V.N., Sevostyanova V.V., Yuzhalin A.E., Koroleva L.S., Velikanova E.A., Mironov A.V., Godovikova T.S., Kutikhin A.G., Glushkova T.V., Serpokrylova I.Yu., Senokosova E.A., Matveeva V.G., Khanova M.Yu., Akentyeva T.N., Krivkina E.O., Kudryavtseva Yu.A., Barbarash L.S. Biocompatibility of small-diameter vascular grafts in different modes of RGD modification. *Polymers* 2019; 11(1): 174, <https://doi.org/10.3390/polym11010174>.

16. Lin H.B., Sun W., Mosher D.F., García-Echeverría C., Schaufelberger K., Lelkes P.I., Cooper S.L. Synthesis, surface, and cell-adhesion properties of polyurethanes containing covalently grafted RGD-peptides. *J Biomed Mater Res* 1994; 28(3): 329–342, <https://doi.org/10.1002/jbm.820280307>.

17. Parniak M.A., Lange G., Viswanatha T. Quantitative determination of monosubstituted guanidines: a comparative study of different procedures. *J Biochem Biophys Methods* 1983; 7(4): 267–276, [https://doi.org/10.1016/0165-022x\(83\)90051-9](https://doi.org/10.1016/0165-022x(83)90051-9).