

# КОМПОЗИЦИЯ ПОЛИ-D,L-ЛАКТИДА-СО-ГЛИКОЛИДА И ЭНОКСАПАРИНА НАТРИЯ – ПЕРСПЕКТИВНОЕ ПОКРЫТИЕ СОСУДИСТЫХ СТЕНТОВ: ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ СТЕНТ-ГРАФТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРУПНЫХ ЖИВОТНЫХ

DOI: 10.17691/stm2025.17.6.05

УДК 616.132.2–089.819.5:615.03

Поступила 25.03.2025 г.



А.Р. Шабаев, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины<sup>1</sup>;

Н.А. Кочергин, к.м.н., зав. лабораторией тканевой инженерии и внутрисосудистой визуализации<sup>1</sup>;

А.Ю. Каноныкина, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины<sup>1</sup>;

В.А. Кошелев, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины<sup>1</sup>;

А.А. Арнт, младший научный сотрудник лаборатории тканевой инженерии и внутрисосудистой визуализации<sup>1</sup>;

А.Ю. Колесников, младший научный сотрудник лаборатории тканевой инженерии и внутрисосудистой визуализации<sup>1</sup>;

А.А. Шилов, д.м.н., зав. отделением рентгенхирургических методов диагностики и лечения<sup>2</sup>;

Р.С. Тарасов, д.м.н., зав. лабораторией рентгенэндоваскулярной и реконструктивной хирургии сердца и сосудов<sup>1</sup>;

Ю.А. Кудрявцева, д.б.н., главный научный сотрудник отдела экспериментальной медицины<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, бульвар им. академика Л.С. Барбара, 6, Кемерово, 650002;

<sup>2</sup>Кузбасский клинический кардиологический диспансер имени академика Л.С. Барбара, бульвар им. академика Л.С. Барбара, 6, Кемерово, 650002

**Цель исследования** — оценить в эксперименте на крупных животных биосовместимость сосудистых стентов, покрытых мембраной на основе сополимера поли-D,L-лактида-со-гликолида и эноксапарина натрия.

**Материалы и методы.** На металлические коронарные стенты «Калипсо» длиной 8 мм методом электроспиннинга наносили биодеградируемое покрытие на основе сополимера поли-D,L-лактида-со-гликолида с соотношением полилактида и гликолида 50:50 и низкомолекулярного эноксапарина натрия. Покрытые стенты (стент-графты) и стенты без покрытия имплантировали в сонную артерию овец. Проходимость в динамике оценивали с помощью цветного дуплексного сканирования. Через 3 мес фрагменты «артерия–стент» были эксплантированы, зафиксированы забуференным формалином с постфиксацией тетраоксидом осмия, обезвожены в этаноле и ацетоне и затем пропитаны эпоксидной смолой. После полимеризации образцы шлифовали до необходимой глубины и полировали. Для повышения контрастности после полировки образцы обрабатывали цитратом свинца по Рейнольду. Образцы визуализировали посредством сканирующей электронной микроскопии в режиме обратно-рассеянных электронов.

**Результаты.** На протяжении 3 мес эксперимента случаев тромбозов и стенозов стентов и стент-графтов не отмечено. На внутренней поверхности стент-графтов сформирована равномерная плотная неоинтима толщиной до 165 мкм, превышающая в два раза интиму интактной сонной артерии, которая примыкает к стент-графту. На внутренней части стентов без полимерной мембранны сформировалась рыхлая неоинтима, толщина которой достигает местами 380 мкм. Во всех образцах наблюдали классическую картину образования плотной фиброзной капсулы, которая отделяет металлические балки стента от кровотока и структурных элементов артерии, однако ее морфология и клеточный состав в образцах значительно различались. Балки стента без мембранны окружали многочисленные клетки воспалительного ряда. Окружение стент-графтов представлено в основном гладкомышечными клетками, фибробластами, фрагментами эластической мембрани, расположенными в межклеточном матриксе; клетки воспаления отсутствуют. Полимерное покрытие стент-графтов полностью деградировало без образования рубцовой ткани.

Для контактов: Кудрявцева Юлия Александровна, e-mail: kudryavtseva\_yulia@list.ru

**Заключение.** Разработанное полимерное покрытие сосудистого стента на основе сополимера поли-D,L-лактида-ко-гликолида с соотношением полилактида и гликолида 50:50 и низкомолекулярного эноксапарина натрия показало свою эффективность. При имплантации овцам в сонную артерию стент-графты не вызывают развития тромбоза и стеноза, успешно интегрируются с артерией животного. Через 3 мес происходит полная резорбция полимерного покрытия без признаков хронической воспалительной реакции.

**Ключевые слова:** сосудистые стенты; стент-графт; перфорация артерии; биодеградируемые полимеры; биосовместимость.

**Как цитировать:** Shabaev A.R., Kochergin N.A., Kanonykina A.Yu., Koshelev V.A., Arnt A.A., Kolesnikov A.Yu., Shilov A.A., Tarasov R.S., Kudryavtseva Yu.A. Poly-D,L-lactide-co-glycolide and sodium enoxaparin composition — an advanced coating for vascular stents: biocompatibility and efficiency assessment of stent-grafts in an experiment on large animals. Sovremennye tehnologii v medicine 2025; 17(6): 44, <https://doi.org/10.17691/stm2025.17.6.05>

## English

# Poly-D,L-Lactide-co-Glycolide and Sodium Enoxaparin Composition – an Advanced Coating for Vascular Stents: Biocompatibility and Efficiency Assessment of Stent-Grafts in an Experiment on Large Animals

A.R. Shabaev, Junior Researcher, Laboratory of Cellular Technologies, Experimental Medicine Department<sup>1</sup>;  
 N.A. Kochergin, MD, PhD, Head of the Laboratory of Tissue Engineering and Intravascular Imaging<sup>1</sup>;  
 A.Yu. Kanonykina, Junior Researcher, Laboratory of Molecular, Translational, and Digital Medicine, Experimental Medicine Department<sup>1</sup>;  
 V.A. Koshelev, Junior Researcher, Laboratory of Molecular, Translational, and Digital Medicine, Experimental Medicine Department<sup>1</sup>;  
 A.A. Arnt, Junior Researcher, Laboratory of Tissue Engineering and Intravascular Imaging<sup>1</sup>;  
 A.Yu. Kolesnikov, Junior Researcher, Laboratory of Tissue Engineering and Intravascular Imaging<sup>1</sup>;  
 A.A. Shilov, MD, DSc, Head of the Department of X-ray Surgical Diagnostic and Therapeutic Methods<sup>2</sup>;  
 R.S. Tarasov, MD, DSc, Head of the Laboratory of X-ray Endovascular and Reconstructive Cardiovascular Surgery<sup>1</sup>;  
 Yu.A. Kudryavtseva, DSc, Leading Researcher, Experimental Medicine Department<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,  
 6 Academician Barbarash Blvd., Kemerovo, 650002, Russia;

<sup>2</sup>Kuzbass Clinical Cardiology Dispensary named after Academician L.S. Barbarash,  
 6 Academician Barbarash Blvd., Kemerovo, 650002, Russia

**The aim of the study** was to evaluate the biocompatibility of vascular stents coated with the membrane based on a copolymer of poly-D,L-lactide-ко-glycolide and sodium enoxaparin in an experiment on large animals.

**Materials and Methods.** A biodegradable coating based on a copolymer of poly-D,L-lactide-ко-glycolide (the polylactide-glycolide ratio — 50:50) and low-molecular sodium enoxaparin was applied on 8-mm-long metallic coronary Calipso stents by electrospinning. The sheep carotid artery was implanted with the coated stents (stent-grafts) and uncoated stents. The dynamic patency was assessed by color duplex ultrasound. Three months later, the artery-stent fragments were explanted, fixed with buffered formalin with post-fixation with osmium tetroxide, dehydrated in ethanol and acetone followed by impregnating with epoxy resin. After polymerization, the samples were ground and polished to the required depth. To enhance the contrast after polishing, the samples were treated with Reynolds lead citrate. The samples were visualized by scanning electron microscopy in the backscattered electron mode.

**Results.** During the three-month experiment, no cases of thrombosis or stenosis of stents and stent-grafts were revealed. A uniform dense neointima up to 165  $\mu\text{m}$  thick formed on the internal surface of the stent-grafts, it was twice as thick as the intima of the intact carotid artery adjacent to the stent-graft. A loose neointima formed on the inner part of the stents without a polymer membrane, reaching 380  $\mu\text{m}$  in some places. All samples demonstrated a classic picture of the formation of a dense fibrous capsule, which separated the metal stent struts from the blood flow and structural elements of the artery, however, the morphology and cellular composition in the samples varied significantly. The struts of the stents without a membrane were surrounded by numerous inflammatory cells. The environment of the stent grafts was represented mainly by smooth muscle cells, fibrocytes, fragments of the elastic membrane located in the intercellular matrix; there were no inflammatory cells. The polymer coating of the stent-grafts completely degraded forming no scar tissue.

**Conclusion.** The developed polymer coating based on a copolymer of poly-D,L-lactide-ко-glycolide (the polylactide-glycolide ratio — 50:50) and the low-molecular sodium enoxaparin for a vascular stent appeared to be effective. When implanted in sheep carotid arteries, the stent-grafts cause no development of thrombosis and stenosis, successfully integrating with the animal artery. In 3 months, complete resorption of the polymer coating occurred with no signs of a chronic inflammatory reaction.

**Key words:** vascular stents; stent-graft; arterial perforation; biodegradable polymers; biocompatibility.

## Введение

Заболевания системы кровообращения продолжают занимать лидирующие позиции среди причин смертности трудоспособного населения, при этом значительная часть летальных исходов (до 50%) приходится на ишемическую болезнь сердца [1–4]. В связи с этим своевременная диагностика и эффективное лечение сердечно-сосудистых заболеваний остаются одной из приоритетных задач современной медицины.

Восстановление коронарного кровотока может быть осуществлено как методами «открытой» хирургии, так и путем использования малоинвазивных эндоваскулярных вмешательств. Однако в последние десятилетия рентгенэндоваскулярные методы значительно опередили аортокоронарное шунтирование по числу выполняемых процедур, что обусловлено их меньшей травматичностью, сокращением сроков реабилитации и хорошими клиническими исходами. В частности, при лечении пациентов с острым коронарным синдромом соотношение аортокоронарного шунтирования и чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) составляет 8–12% и 50–60% соответственно [2].

С развитием технологий рентгенэндоваскулярной хирургии наблюдается неуклонный рост количества вмешательств не только на коронарных артериях, но и на сосудах других бассейнов, включая брахиоцефальные, интра- и экстракраниальные артерии, а также артерии нижних конечностей. В таких процедурах широко применяются различные конструкции стентов, позволяющие обеспечивать восстановление кровотока в пораженных сосудах [2]. Однако, несмотря на значительные достижения в области рентгенэндоваскулярной хирургии, проблема осложнений, возникающих как при лечебных, так и при диагностических вмешательствах, остается актуальной [5–7].

Одним из наиболее опасных осложнений ЧКВ является ятрогенная перфорация коронарных артерий, частота которой, по данным клинических исследований, составляет 0,2–0,6% всех вмешательств [6]. Риск возникновения данных осложнений увеличивается пропорционально сложности выполняемой процедуры: при рутинном ЧКВ частота их составляет около 0,43%, тогда как при вмешательствах, направленных на реканализацию хронических окклюзий коронарных артерий, этот показатель возрастает до 2,9% [7]. Наибольшему риску развития перфорации подвержены пациенты с выраженной извитостью сосудов и наличием кальцифицированных бляшек, что значительно затрудняет проведение процедуры.

Перфорация коронарных артерий сопряжена с высоким риском жизнеугрожающих осложнений, включая тампонаду сердца, массивные кровоизлияния и кардиогенный шок. Летальность данных осложнений

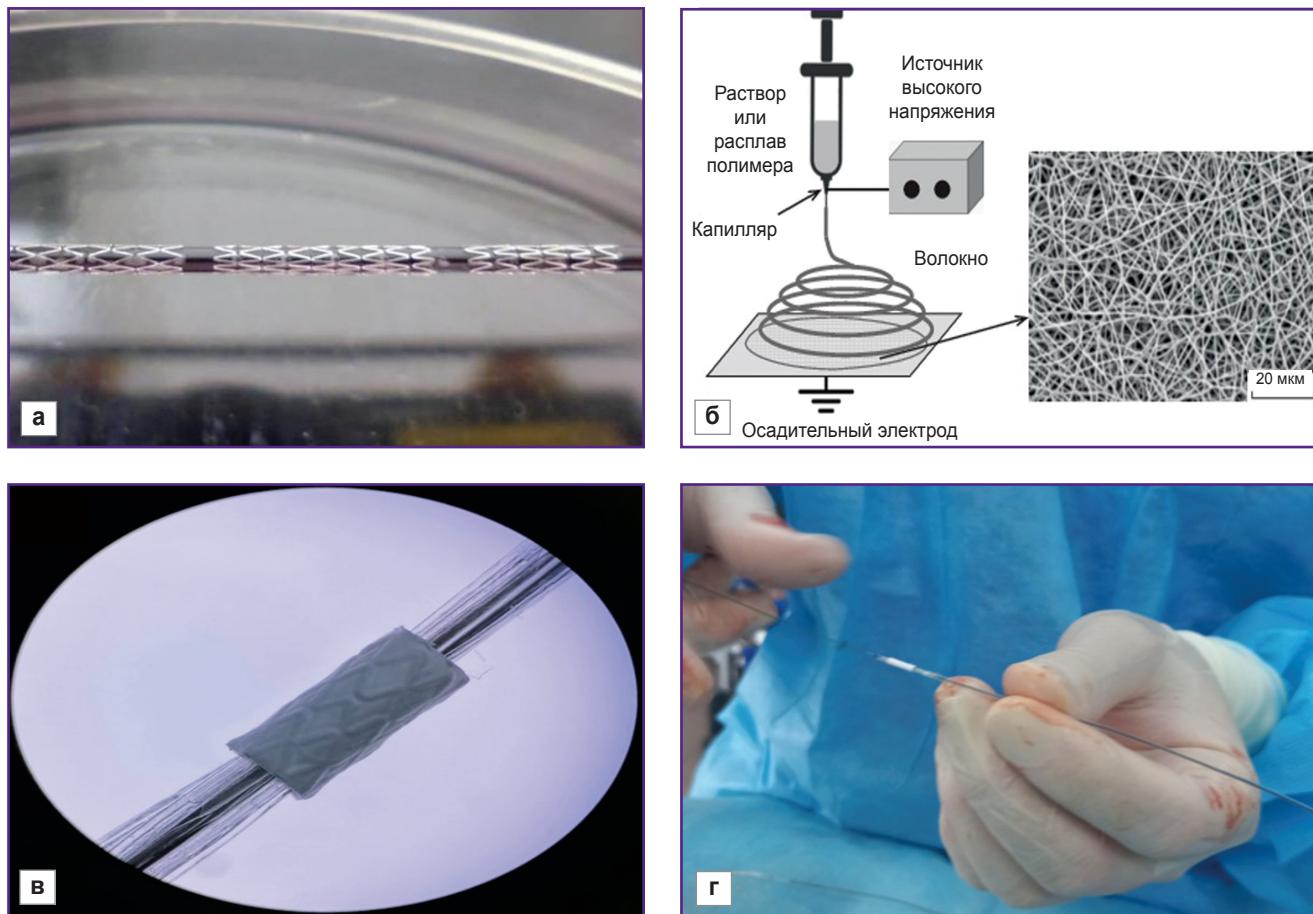
достигает 10,7% [5], что обуславливает актуальность поиска новых методов профилактики и лечения ятрогенных перфораций, а также совершенствования эндоваскулярных технологий, направленных на снижение риска таких осложнений.

Для остановки кровотечений труднодоступных артерий оптимальным решением является использование стент-графтов, т.е. стентов, имеющих с внешней стороны покрытие, закрывающее диссекцию/перфорацию артерии и восстанавливающее кровоток. В настоящее время на рынке представлены стент-графты с покрытием из различных материалов: недеградируемых полимеров (например, политетрафторэтилен, полиуретан) и биологических тканей (например, перикард лошади) [8–10]. При этом недеградируемые полимеры, как и биоматериалы, остаются в стенке артерии на долгое время и могут вызывать хроническое воспаление и, как следствие, нередко приводить к кальцификации в зоне имплантации [11, 12].

Биодеградируемые полимеры, особенно с коротким сроком резорбции, могут служить более успешной альтернативой, поскольку, выполнив свою защитную функцию при закрытии перфорации и во время ремоделирования перфорированной артерии, далее деградируют, не вызывая хронического воспаления. При этом в полимерное покрытие можно включать лекарственные препараты по принципу производства стентов с лекарственным покрытием: лекарственное вещество будет дозированно выделяться по мере деградации полимерной композиции и оказывать локальное терапевтическое действие.

Ранее [13, 14] нами был проведен скрининг различных полимеров с целью создания стент-графта с позиции упругодеформативных свойств, био- и гемосовместимости. Сополимер поли-D,L-лактид-согликолид с соотношением полилактида и гликогида 50:50 был выбран как наиболее оптимальный, отвечающий всем требованиям: сохранность покрытия при раздувании баллоном, высокая био- и гемосовместимость и короткие сроки биодеградации — не более 3 мес. Для нанесения покрытия использован метод электроспиннинга, который позволяет равномерно наносить покрытие требуемой толщины, включать лекарственные вещества в состав микроволокон, что приводит к их дозированному выделению после имплантации по мере деструкции полимерной нити. В качестве лекарственного вещества был выбран низкомолекулярный гепарин — эноксапарин натрия, поскольку помимо антитромботических и антикоагулянтных свойств он обладает также противовоспалительным действием [15].

Для оценки клинической эффективности выбранного покрытия *in vivo* решено имплантировать стент-графты в артерию крупного животного с последующей оценкой рисков тромбозов, рестенозов, а также реакции окружающих тканей на полимерное покрытие.



**Рис. 1. Подготовка стент-графтов для имплантации:**  
а — размещение стентов на металлическом штифте; б — нанесение покрытия методом электротиннинга; в — оценка качества нанесенного покрытия при помощи стереомикроскопа; г — фиксация стент-графта на баллоне

**Цель исследования** — оценить в эксперименте на крупных животных биосовместимость сосудистых стентов, покрытых мембраной на основе сополимера поли-D,L-лактида-со-гликолида и эноксапарина натрия.

### Материалы и методы

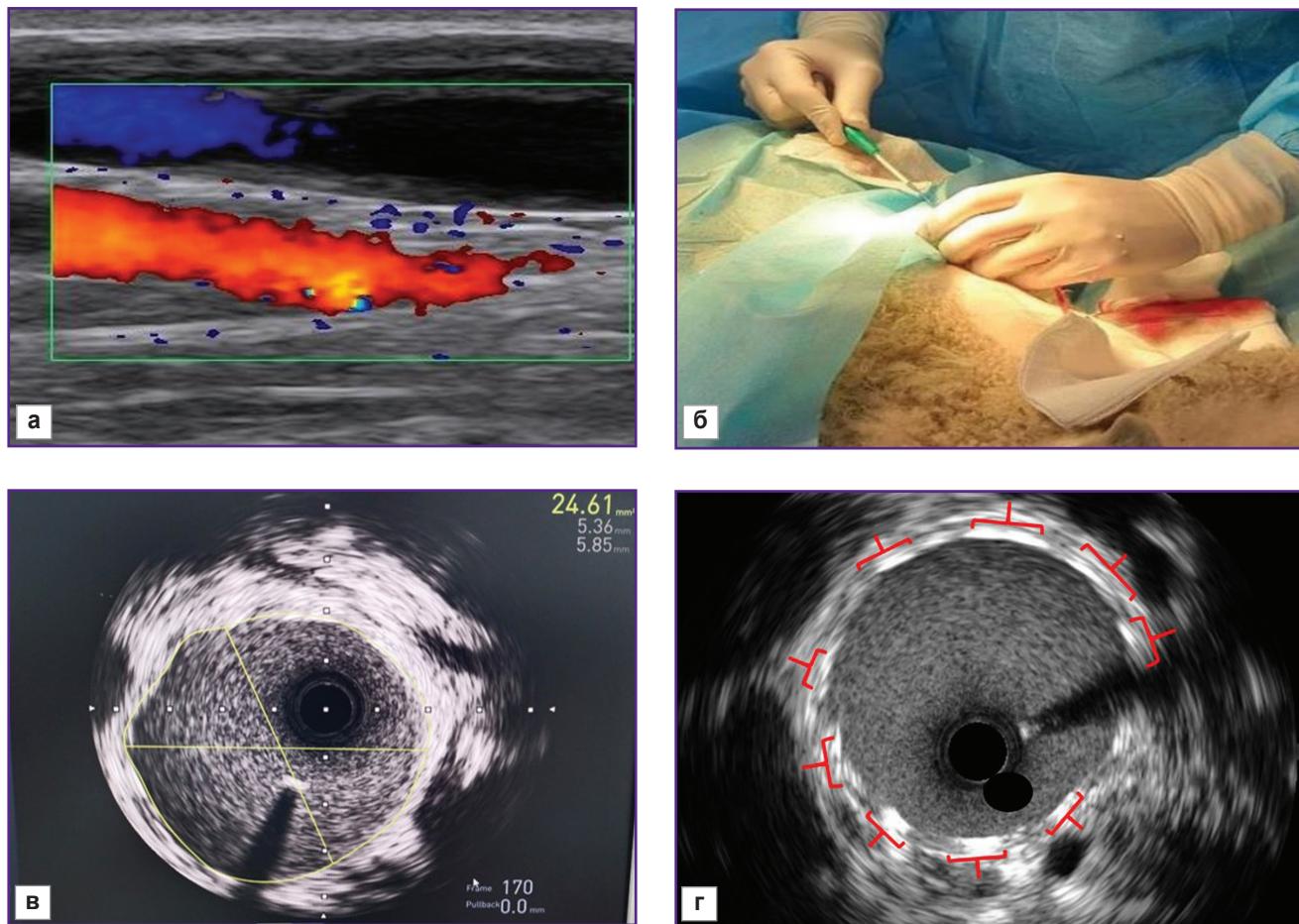
Для покрытия биополимерной мембраной были использованы металлические коронарные стенты «Калипсо» («Ангиолайн», Россия) длиной 8 мм, диаметром 4 и 4,5 мм. Для получения покрытия готовили 15% раствор сополимера поли-D,L-лактида-со-гликолида с молекулярной массой 30 000–45 000 г/моль и соотношением лактида и гликогида 50:50 («Новохим», Россия), растворенного в гексафторпропаноле (1,1,1,3,3-гексафтор-2-пропанол), чистота ≥99,8% (Sigma-Aldrich, США). Полимер размешивали на магнитной мешалке в течение 12 ч при комнатной температуре до полного растворения. Для придания гемсовместимости и снижения риска

тромбоза в раствор полимера добавляли низкомолекулярный гепарин Эноксапарин натрия, после чего размешивали раствор еще в течение 30 мин. Стенты размещали на металлическом штифте диаметром 1,0 мм (рис. 1, а). Полимерное покрытие наносили методом электротиннинга (рис. 1, б) на установке Nanop-01A (МЕСС СО, Япония). При помощи стереомикроскопа оценивали качество нанесенного покрытия (рис. 1, в). Толщина полимерного покрытия составляла 80–90 мкм. После высыхания стент-графт помещали на баллон (рис. 1, г) и стерилизовали методом радиационного излучения.

Основные этапы исследования:

- 1) имплантация стент-графта во внутреннюю сонную артерию лабораторного животного с предварительной оценкой состояния нативного сосуда с помощью внутрисосудистого ультразвукового исследования (ВСУЗИ) под контролем цветного дуплексного сканирования (ЦДС);

- 2) динамическое наблюдение при помощи ЦДС, контрольные точки — 3-й день, 1 и 3 мес;



**Рис. 2. Процесс имплантации стент-графта в сонную артерию:**

а — ультразвуковая визуализация общей сонной артерии; б — установка интродьюсера; в — оценка референсного диаметра сосуда с помощью датчика внутрисосудистого ультразвукового исследования; г — контроль качества раскрытия стент-графта с помощью внутрисосудистого ультразвукового исследования

3) эксплантация стент-графтов через 3 мес;  
4) гистологическое исследование эксплантов.

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Research Council, 2011); с принципами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 2006); Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (2024) и одобрены Локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (протокол №11 от 20.11.2023 г.).

С целью профилактики раннего тромбоза стент-графта перед оперативным вмешательством на кануне вечером лабораторному животному давали нагрузочную дозу 300 мг клопидогрела и 300 мг ацетилсалicyловой кислоты. Операции проведены в условиях эндотрахеального наркоза. Покрытые

полимерной мембраной стент-графты имплантированы животным во внутреннюю сонную артерию с двух сторон. В эксперименте участвовали овцы ( $n=5$ ) массой 32–35 кг. Использовано 7 стент-графтов (опытная группа) и 3 стента без покрытия (контрольная группа). Неравное количество стентов в группах обусловлено тем, что результаты имплантации стентов без покрытия ранее уже описаны в работе [16]. Кроме того, в экспериментальном исследовании [17] мы подтвердили уже имеющиеся данные работы [16]. Имплантация стентов с разработанным биополимерным покрытием предусматривала тщательный анализ, что потребовало увеличения количества наблюдений.

Имплантацию стент-графта в общую сонную артерию выполняли следующим образом. После введения экспериментального животного в наркоз с использованием аппарата УЗИ с функцией ЦДС Mindray M5 (Mindray, Китай) визуализировали общую сонную артерию (рис. 2, а) с последующей ее

пункцией и установкой интродьюсера 6 Fr (рис. 2, б). После системного введения гепарина (2500 ЕД) для оценки референсного диаметра сосуда и выбора необходимого размера стента или гrafta (рис. 2, в) использовали систему ВСУЗИ iLab Polaris с датчиками OptiCross (Boston Scientific, США). Измерение диаметра артерии двумя различными методами показало существенную разницу: при использовании ВСУЗИ диаметр артерии был в среднем на 0,8–1,0 мм больше, чем при предварительном измерении с помощью УЗИ. На основании показателей ВСУЗИ выбирали диаметр стент-графта.

После этого параллельно датчику ВСУЗИ дистальнее на 0,5–1,0 см заводили стент-графт. После позиционирования под контролем чрескожного и внутрисосудистого УЗИ стент-графт имплантировали в общую сонную артерию. Затем проводили контроль раскрытия стент-графта с помощью ВСУЗИ, при выявлении мальпозиции и/или недораскрытия выполняли постдилатацию баллоном (до 16 атм) с повторной оценкой результата. Методом ВСУЗИ оценивали площадь раскрытия, аппозицию, а также наличие диссекций (рис. 2, г).

После имплантации стент-графта удаляли баллон и интродьюсер, отверстие герметизировали с помощью ушивающего устройства Angio-Seal (Terumo Medical Corporation, США).

В интраоперационный период всем животным вводили антибиотик цефтриаксон (750 мг однократно). В послеоперационном периоде им назначали следующую терапию: инъекции цефуроксима (по 750 г 2 раза в сутки в течение до 5 сут после операции); кетопрофена 50 мг/мл (по 2 мл внутримышечно 2 раза в сутки в течение до 5 сут после операции); двойная антиагрегантная терапия до 90 сут после операции: клопидогрел (75 мг перорально) и ацетилсалциловая кислота (75 мг перорально).

Функциональность стентов оценивали методом ЦДС на 3-и сутки, а также через 1 и 3 мес после операции. Вывод животных из эксперимента осуществляли через 3 мес после имплантации стента. Для сравнения в качестве эталона был забран фрагмент интактной (нативной) сонной артерии, примыкающей к стент-графту. Эксплантированные стент-графты/стенты подвергли макро- и микроскопическому исследованию. Интеграцию стентов с сонной артерией, наличие воспалительной реакции, характер деградации полимерного покрытия, особенности образования неоинтимы оценивали оригинальным методом EM-BSEM, который заключается в заливке цельных фрагментов эксплантированного материала в эпоксидную смолу с последующим изучением с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в обратно-рассеянных электронах [17]. Этот метод позволяет получать микрофотографии высокого разрешения, визуально сходные со снимками, сделанными при просвечивающей электронной микроскопии.

Для этого удаленные комплексы «стент–сонная

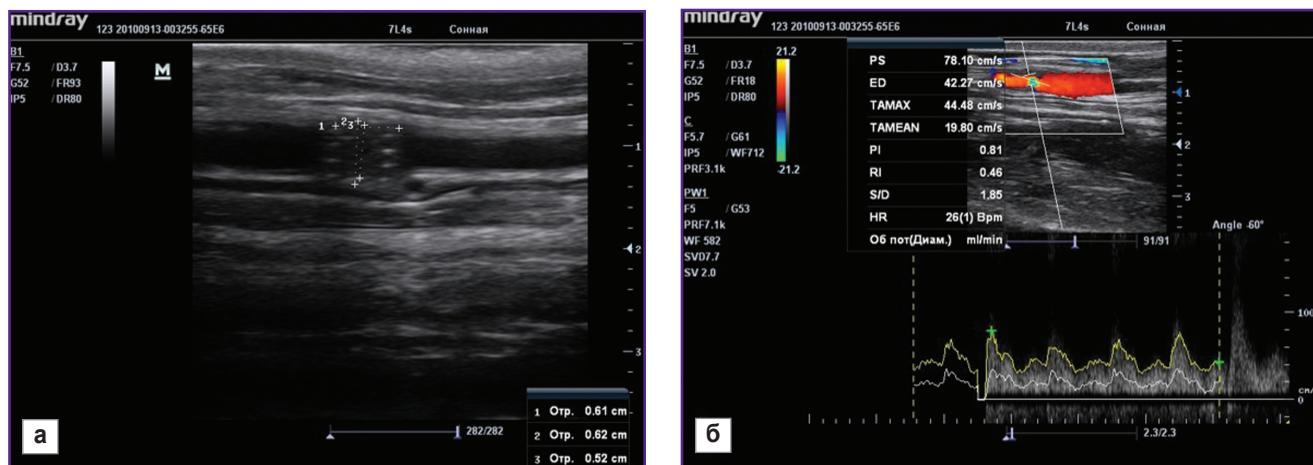
артерия» и фрагмент интактной артерии, примыкающей к имплантированному стент-графту, промывали в охлажденном физиологическом растворе хлорида натрия и помещали в забуференный (рН 7,4) 10% водный раствор формалина (B06-003; «БиоВитрум», Россия) на 24 ч с однократной сменой формалина через первые 12 ч. На следующем этапе образцы постфиксировали в 1% тетраоксиде осмия (19110; Electron Microscopy Sciences, США), приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере, в течение 12 ч, и далее окрашивали 2% водным раствором тетраоксида осмия в течение 48 ч. Затем образцы обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации (50, 60, 70, 80, 95%) — по две 15-минутных смены в каждой из указанных концентраций. После этого образцы докрашивали 2% спиртовым (95% этанол) раствором уранилацетата (22400-2; Electron Microscopy Sciences, США) в течение 5 ч и обезвоживали в изо-пропаноле (06-002; «БиоВитрум», Россия) в течение 5 ч и ацетоне (150495; «ЛенРеактив», Россия) в течение 1 ч. Затем образцы пропитывали смесью эпоксидной смолы Araldite 502 (13900; Electron Microscopy Sciences) и ацетона в соотношении 1:1 в течение 6 ч, чистой эпоксидной смолой в течение 24 ч и полимеризовали в свежей эпоксидной смоле в емкостях FixiForm (40300085; Struers, Дания) при 60°C в течение 24 ч. Получившиеся эпоксидные блоки шлифовали до поверхности образца и полировали на установке TegraPol-11 (Struers, Дания) с последовательным использованием шлифовальных дисков с диаметром зерна 9, 6 и 3 мкм. После полировки образцы контрастировали цитратом свинца по Рейнольду (17810; Electron Microscopy Sciences, США) в течение 15 мин путем нанесения раствора на отполированную поверхность блока. После отмычки в бидистиллированной воде на эпоксидные блоки наносили углеродное напыление толщиной 10–15 нм с помощью вакуумной напылительной системы EM ACE200 (Leica, Германия).

Визуализацию структуры образцов выполняли при помощи СЭМ в режиме вторичных (обратно-рассеянных) электронов на сканирующем электронном микроскопе S-3400N (Hitachi, Япония) при ускоряющем напряжении 10 или 15 кВ.

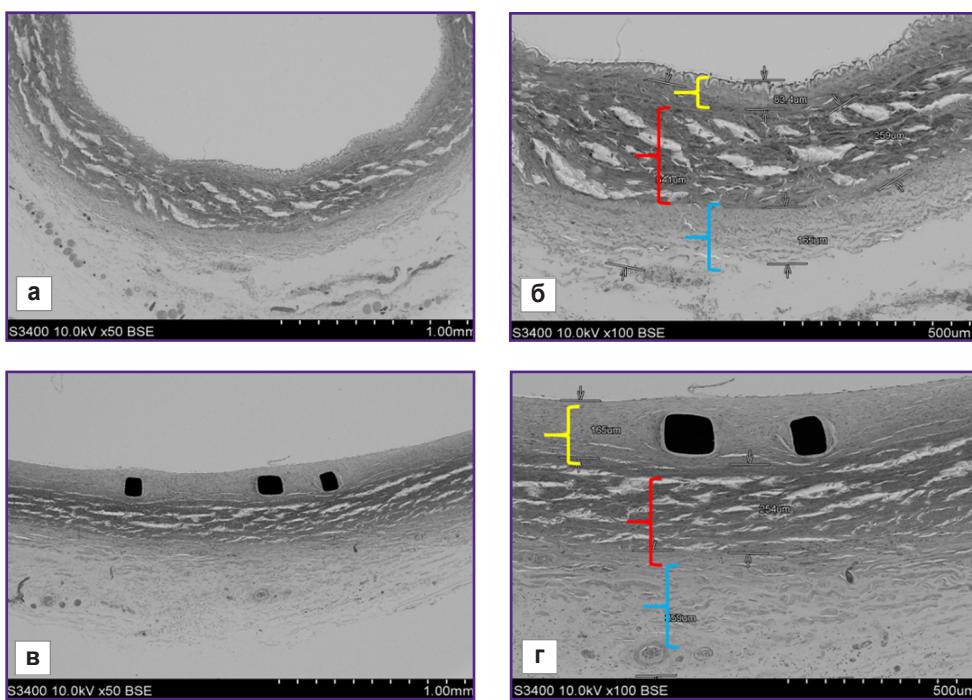
## Результаты и обсуждение

С целью оценки проходимости установленных стентов и стент-графтов на 3-и сутки, через 1 и 3 мес всем животным проводили УЗИ. Полученные результаты подтвердили проходимость всех имплантированных изделий: стенты и стент-графты визуализировались хорошо, отчетливо были видны балки (страты) (рис. 3, а). Кровоток через имплантированный стент-графт сохранен (рис. 3, б). Случаев тромбоза не зафиксировано.

После эксплантации отмечена деформация имплантированных изделий: стенты и стент-графты



**Рис. 3. Ультразвуковой контроль проходимости стент-графта:**  
а — визуализация балок (стратов) стент-графта; б — подтверждение кровотока через стент-графт



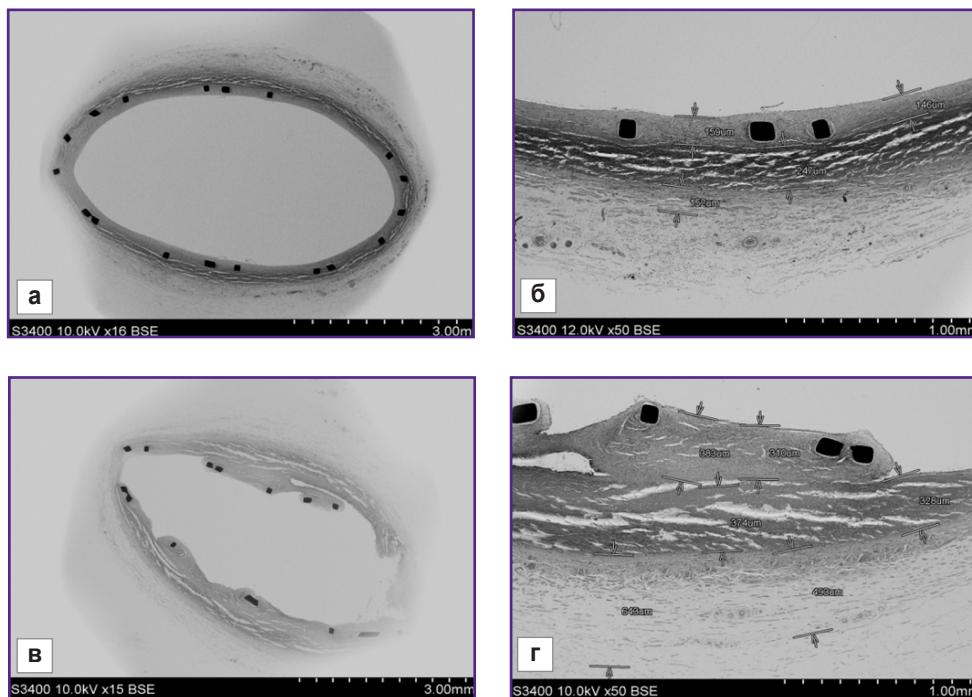
**Рис. 4. Сканирующая электронная микроскопия интактной артерии (а, б) и эксплантированного стент-графта (в, г)**

Желтым цветом выделена зона интимы/неоинтимы, красным — медия, голубым — адвентиция; ×50 (а, в); ×100 (б, г)

принимали овальную форму вместо ожидаемой круглой. Данный факт обусловлен тем, что сонная артерия находится близко к коже, а коронарные стенты, используемые в данном исследовании, достаточно хрупкие. Это и привело к сжатию стента и принятию им овальной формы при проведении УЗИ в динамике из-за прижатия датчика плотно к коже животного. Необходимо отметить, что кровоток через деформи-

рованный стент был сохранен и случаев тромбоза стента либо стент-графта не отмечено.

При сравнении методом СЭМ состояния интактной артерии, примыкающей к имплантированному стент-графту, и фрагмента артерии с имплантированным стент-графтом, установлено, что строение слоев артерий схоже: отчетливо визуализируются интима/неоинтима, слои меди и адвентиции (рис. 4). При уве-



**Рис. 5. Сканирующая электронная микроскопия фрагментов сонной артерии, включающих:**

**а** — имплантированный стент-графт с биополимерным покрытием, **б** — толщина неоинтимы при имплантации стент-графта (стрелки); **в** — стент без покрытия; **г** — толщина неоинтимы при имплантации стента без покрытия (стрелки);  $\times 15$  (**а, в**),  $\times 50$  (**б, г**)

личении в 100 раз видно, что размеры слоев меди и адвентииции в среднем составили 250 и 200 мкм соответственно как в интактной артерии, так и в артерии, содержащей стент-графт (рис. 4, б, г). Различались только размеры внутреннего слоя: толщина интимы в интактной артерии не превышала 85 мкм, в то время как толщина неоинтимы в зоне имплантации стент-графта была в 2 раза больше и достигала 165 мкм.

При этом следует отметить, что неоинтима была равномерной, плотноупакованной, на поверхности встречались единичные эндотелиальные клетки. Признаки пристеночного тромбоза отсутствовали во всех образцах. В отличие от интактной артерии внутренняя эластическая мембрана в артерии со стент-графтом не визуализируется по причине ее сжатия стентом при имплантации.

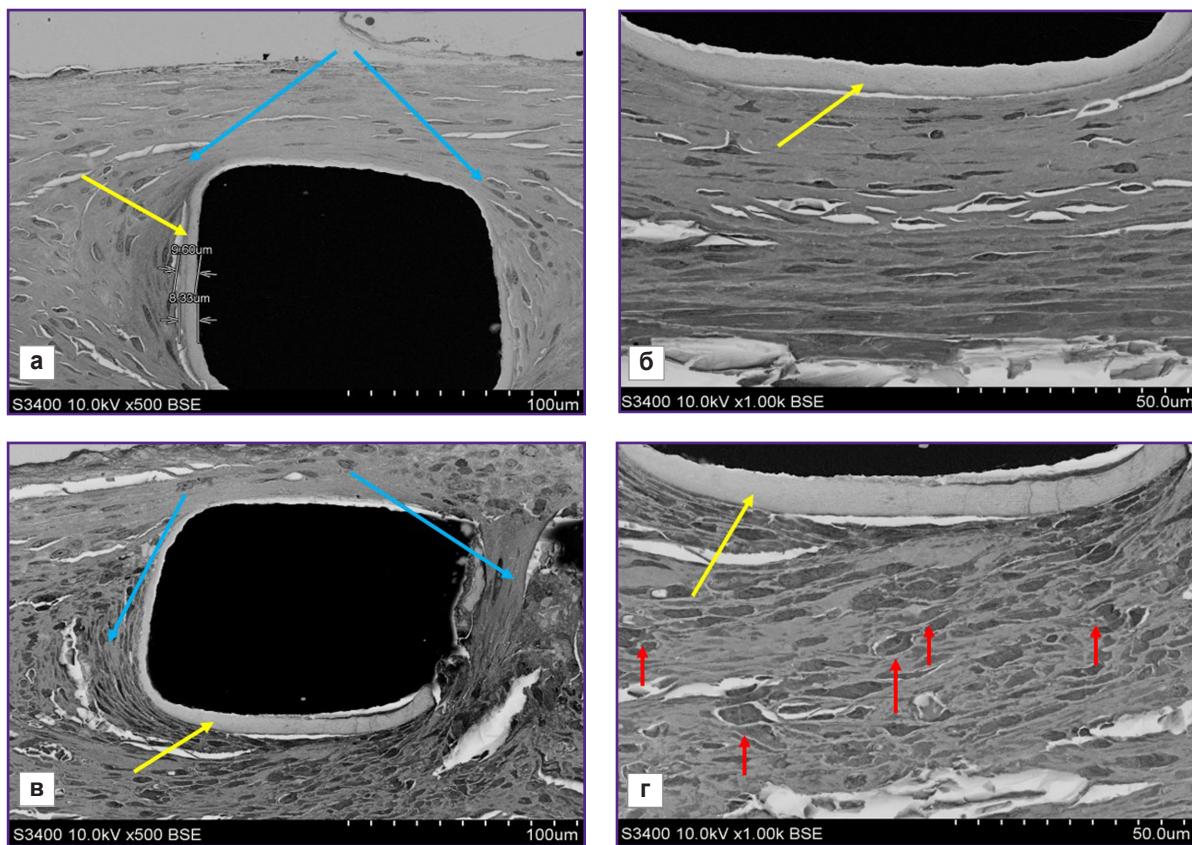
Совсем иную картину наблюдали при сравнении артерий с имплантированными стентами без покрытия биополимерной мемброй и с покрытием (рис. 5). Неоинтима в случае имплантации металлического стента без биополимерной мемброй была неравномерной, рыхлой, бугристой (рис. 5, в), достигая местами толщины до 380 мкм (рис. 5, г).

При увеличении в 500 раз отчетливо видны балки (страты) стентов и полимерное покрытие, нанесен-

ное изготовителем (рис. 6, а, в). Согласно инструкции, для снижения риска разрастания неоинтимы и рестеноза изготовитель покрывает балки стента биодеградируемым полимером — полилактидом-со-гликолидом с добавлением сиролимуса. Данное покрытие сохранилось через 3 мес имплантации и отчетливо визуализировалось вокруг балок, его толщина составляла 8–9 мкм.

У артерий с имплантированными стентами и стент-графтами различались не только толщина и морфология неоинтимы, но и клеточный состав. Во всех образцах наблюдали классическую картину образования плотной фиброзной капсулы, которая отделяет металлические балки стента от кровотока и структурных элементов артерии. При увеличении в 1000 раз (рис. 6, б, г) видно сохранившееся полимерное покрытие, нанесенное при изготовлении стента, а вокруг — новообразованные ткани, состав которых значительно отличается. Балки стента без мемброй окружают многочисленные клетки воспалительного ряда (см. рис. 6, в), балки стент-графтов окружают компактный слой без признаков воспаления (см. рис. 6, б).

Наиболее презентативно выглядят различия в окружении балок стента и стент-графта на больших



**Рис. 6. Сканирующая электронная микроскопия фрагментов эксплантированных стент-графта с биополимерным покрытием (а, б) и стента без покрытия (в, г)**  
Желтыми стрелками указано полимерное покрытие балок стента производителем; красными стрелками — клетки воспалительного ряда; голубыми стрелками — фиброзная капсула; ×500 (а, в), ×1000 (б, г)

увеличениях (рис. 7). Окружение балок стент-графтов представлено в основном гладкомышечными клетками, фибробластами, фрагментами эластической мембранны, расположенными в межклеточном матриксе, клетки воспаления отсутствуют (рис. 7, б). Периферия балок непокрытого стента состоит из макрофагов, фибробластов, встречаются единичные гигантские клетки инородного тела, что свидетельствует о хроническом воспалении (рис. 7, г). На границе фиброзной капсулы также отмечено наличие фибробластов (рис. 7, д).

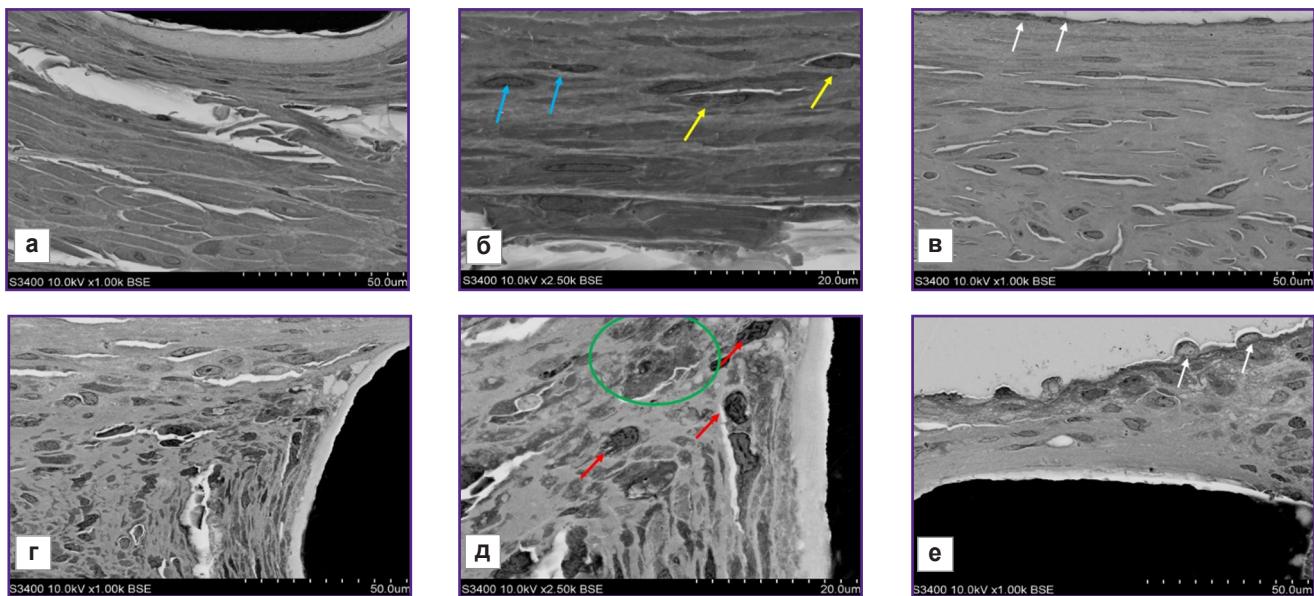
На всех образцах стент-графтов через 3 мес после имплантации полимерная мембрана — нанесенное методом электротрансферного полимерного покрытия — не визуализируется (рис. 7, а). Можно утверждать, что полимерное покрытие полностью деградировало без образования рубцовой ткани.

Поверхность неоинтимы, обращенной к кровотоку, у изучаемых образцов также существенно различалась: при имплантации стент-графта на поверхности визуализировали ровный слой эндотелиальных клеток (рис. 7, в), в то время как на поверхности стента без покрытия — эндотелиоподобные клетки, под

которыми располагался рыхлый субэндотелиальный слой, представленный фибробластами и макрофагами (рис. 7, е).

В случае имплантации стентов без полимерной мембранны наблюдается формирование более рыхлой и утолщенной неоинтимы. Однако разрастание неоинтимы в просвет артерии (в сторону кровотока) оставалось умеренным по сравнению с имплантацией стент-графтов без лекарственного покрытия согласно результатам других исследований [17]. Вероятно, это обусловлено действием сиролимуса, включенного в состав полимерного покрытия стентов «Калипсо».

Существует мнение, что рестеноз сосудов, включая область имплантации стента, связан с пролиферацией сосудистых гладкомышечных клеток (СГМК), рост которых может стимулироваться стентами с лекарственным покрытием [4]. Этот факт объясняет различие в толщине неоинтимы у разработанных нами стент-графтов и стентов с полимерным покрытием, содержащим сиролимус. Полимерная мембрана на основе поли-D,L-лактида-ко-гликогена изолировала металлические элементы стента от



**Рис. 7. Сканирующая электронная микроскопия фрагментов эксплантированных стент-графта с биополимерным покрытием (а–в) и стента без покрытия (г–е)**  
Желтыми стрелками отмечены гладкомышечные клетки, голубыми — фиброзиты, красными — макрофаги (клетки воспалительного ряда), белыми — клетки эндотелия; в зеленом круге — гигантские клетки инородного тела;  $\times 1000$  (а, в, г, е);  $\times 2500$  (б, д)

внутреннего слоя артерии, препятствуя прямому контакту лекарственного покрытия, содержащего сиролимус, с СГМК. Помимо механического разделения конструкции стента от окружающих тканей положительный эффект также оказал инкорпорированный в полимерную мембрану эноксапарин натрия, оказывая локальный антикоагулянтный и противовоспалительный эффект.

Наши данные согласуются с результатами исследований [15], в которых установлено, что эноксапарин натрия в составе композиционных покрытий стентов снижает скорость апоптоза эндотелиальных клеток и уменьшает локальное воспалительное повреждение при имплантации кроликам.

Следует обратить внимание на еще одно различие между тканями, окружающими стент-графт и стент без покрытия. В последнем случае наблюдалось присутствие фиброкластов — клеток, участвующих в ремоделировании коллагеновых и эластиновых волокон в процессе репараторной регенерации. Фиброкласты содержат большое количество лизосом, которые выделяют лизосомальные ферменты и, разрушая коллаген и эластин, способствуют их перестройке и формированию рубцов в зоне повреждения [18]. Напротив, в тканях, окружающих стенты с биодеградируемой мембраной, обнаружены лишь единичные фиброзиты (конечная форма фибробластов) и СГМК, что может свидетельствовать о завершении репараторного процесса через 3 мес после имплантации.

Выбор трехмесячного периода наблюдения обусловлен характеристиками используемого сopolимера, который обладает высокой скоростью гидролитической деградации за счет низкой молекулярной массы [19]. Мы подтвердили это свойство как в случае с подкожной имплантацией [14], так и в настоящем исследовании. По истечении 3 мес следов полимерной мембраны между металлическими элементами стента и стенкой артерии не обнаружено.

Гистологическая картина также свидетельствует о минимальной воспалительной реакции при использовании сopolимера в соотношении полилактида и гликолида 50:50 по сравнению с другими соотношениями, например с покрытиями стентов сopolимерами с более высоким содержанием полилактида, когда к концу 3-го месяца полимер сохранял целостность [19].

### Заключение

Экспериментальное исследование на крупных животных показало, что разработанное полимерное покрытие сосудистого стента на основе сopolимера поли-D,L-лактида-со-гликолида с соотношением полилактида и гликолида 50:50 и низкомолекулярного эноксапарина натрия является весьма эффективным. При имплантации в сонную артерию овцы стент-графт с таким покрытием предотвращает тромбоз и стеноз, способствует успешной интеграции с сосудистой стенкой и не вызывает хронического воспаления.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено в рамках гранта Фонда поддержки молодых ученых в области биомедицинских наук №2024\_2 «Разработка стент-графтов с биополимерным покрытием для закрытия перфораций артерий в сердечно-сосудистой хирургии».

**Конфликт интересов** отсутствует.

### Литература/References

1. Timmis A., Townsend N., Gale C.P., Torbica A., Lettino M., Petersen S.E., Mossialos E.A., Maggioni A.P., Kazakiewicz D., May H.T., De Smedt D., Flather M., Zuhlik L., Beltrame J.F., Hucleci R., Tavazzi L., Hindricks G., Bax J., Casadei B., Achenbach S., Wright L., Vardas P.; European Society of Cardiology. European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2019. *Eur Heart J* 2020; 41(1): 12–85, <https://doi.org/10.1093/euroheartj/ehz859>.
2. Алексян Б.Г., Бойцов С.А., Маношкина Е.М., Ганюков В.И. Реваскуляризация миокарда в Российской Федерации при остром коронарном синдроме 2016–2022 гг. *Кардиология* 2021; 61(12): 4–15, <https://doi.org/10.18087/cardio.2021.12.n1879>.
3. Collet J.P., Thiele H., Barbato E., Barthélémy O., Bauersachs J., Bhatt D.L., Dendale P., Dorobantu M., Edvardsen T., Folliguet T., Gale C.P., Gilard M., Jobs A., Jüni P., Lambrinou E., Lewis B.S., Mehilli J., Meliga E., Merkely B., Mueller C., Roffi M., Rutten F.H., Sibbing D., Siontis G.C.M.; ESC Scientific Document Group 2020. ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2021; 42(14): 1289–1367, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa575>.
4. Рябов В.В., Кретов Е.И., Попов С.В., Хасанов И.Ш., Яковлев М.Ю. Технология коронарного стентирования и роль воспаления в атерогенезе: проблемы и перспективы. *Бюллетень сибирской медицины* 2021; 20(1): 200–21, <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-200-212>.
5. Lemmert M.E., van Bommel R.J., Diletti R., Wilschut J.M., de Jaegere P.P., Zijlstra F., Daemen J., Van Mieghem N.M. Clinical characteristics and management of coronary artery perforations: a single-center 11-year experience and practical overview. *J Am Heart Assoc* 2017; 6(9): e007049, <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.007049>.
6. Rao G., Sheth S., Grines C. Percutaneous coronary intervention: 2017 in review. *J Interv Cardiol* 2018; 31(2): 117–128, <https://doi.org/10.1111/jic.12508>.
7. Patel V.G., Brayton K.M., Tamayo A., Mogabgab O., Michael T.T., Lo N., Alomar M., Shorrock D., Cipher D., Abdullah S., Banerjee S., Brilakis E.S. Angiographic success and procedural complications in patients undergoing percutaneous coronary chronic total occlusion interventions: a weighted meta-analysis of 18,061 patients from 65 studies. *JACC Cardiovasc Interv* 2013; 6(2): 128–136, <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2012.10.011>.
8. Kufner S., Schacher N., Ferenc M., Schlundt C., Hoppmann P., Abdel-Wahab M., Mayer K., Fusaro M., Byrne R.A., Kastrati A. Outcome after new generation single-layer polytetrafluoroethylene-covered stent implantation for the treatment of coronary artery perforation. *Catheter Cardiovasc Interv* 2019; 93(5): 912–920, <https://doi.org/10.1002/ccd.27979>.
9. Chen S., Lotan C., Jaffe R., Rubinshtein R., Ben-Assa E., Roguin A., Varshitsky B., Danenberg H.D. Pericardial covered stent for coronary perforations. *Catheter Cardiovasc Interv* 2015; 86(3): 400–404, <https://doi.org/10.1002/ccd.26011>.
10. Kandzari D.E., Birkemeyer R. PK Papyrus covered stent: device description and early experience for the treatment of coronary artery perforations. *Catheter Cardiovasc Interv* 2019; 94(4): 564–568, <https://doi.org/10.1002/ccd.28306>.
11. Agathos E.A., Tomos P.I., Kostomitsopoulos N., Koutsoukos P.G. Calcitonin as an anticalcification treatment for implantable biological tissues. *J Cardiol* 2019; 73(2): 179–182, <https://doi.org/10.1016/j.jcc.2018.07.010>.
12. Глушкова Т.В., Овчаренко Е.А., Севостьянова В.В., Клышиников К.Ю. Особенности кальцификации элементов сердечно-сосудистой системы и их заменителей: состав, структура и локализация кальцификаторов. *Кардиология* 2018; 58(5): 72–81, <https://doi.org/10.18087/cardio.2018.5.10110>.
13. Glushkova T.V., Ovcharenko E.A., Sevostyanova V.V., Klyshnikov K.Yu. Features of calcification of valves heart and their biological prostheses: composition, structure and localization of calcifications. *Kardiologiya* 2018; 58(5): 72–81, <https://doi.org/10.18087/cardio.2018.5.10110>.
14. Rezvova M.A., Ovcharenko E.A., Klyshnikov K.Y., Glushkova T.V., Kostyunin A.E., Shishkova D.K., Matveeva V.G., Velikanova E.A., Shabaev A.R., Kudryavtseva Y.A. Electrospun bioresorbable polymer membranes for coronary artery stents. *Front Bioeng Biotechnol* 2024; 12: 1440181, <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1440181>.
15. Шабаев А.Р., Каноныкина А.Ю., Богданов Л.А., Шишкова Д.К., Кудрявцева Ю.А. Выбор полимера для покрытия стент-графта с позиции биосовместимости и особенности биодеградации. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний 2024; 13(4): 77–89, <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2024-13-4-77-89>.
16. Shabaev A.R., Kanonykina A.Yu., Bogdanov L.A., Shishkova D.K., Kudryavtseva Yu.A. Selection of polymer for stent-graft coating in terms of biocompatibility and biodegradation characteristics. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases* 2024; 13(4): 77–89, <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2024-13-4-77-89>.
17. Hao K., Sang L., Ding L., Shen X., Fu D., Qi X. Enoxaparin sodium bone cement displays local anti-inflammatory effects by regulating the expression of IL-6 and TNF- $\alpha$ . *Heilyon* 2023; 9(6): e16530, <https://doi.org/10.1016/j.heilyon.2023.e16530>.

- 16.** Nakamura K., Keating J.H., Edelman E.R. Pathology of endovascular stents. *Interv Cardiol Clin* 2016; 5(3): 391–403, <https://doi.org/10.1016/j.iccl.2016.02.006>.
- 17.** Мухамадиев Р.А., Евтушенко А.В., Тарасов Р.С., Халивопуло И.К., Ляпин А.А., Кутихин А.Г. Различия структуры неоинтимы на голометаллическом стенте и заплате из политетрафторэтилена у детей после двухэтапной хирургической коррекции тетрады Фалло. *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского* 2022; 10(3): 64–75, <https://doi.org/10.33029/2308-1198-2022-10-3-64-75>.
- Mukhamadiyev R.A., Evtushenko A.V., Tarasov R.S., Khalivopulo I.K., Lyapin A.A., Kutikhin A.G. Structure of neointima in bare metal stents and expanded poly (tetrafluoroethylene) patches in children after two-step surgical treatment of tetralogy of Fallot. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal* 2022; 10(3): 64–75, <https://doi.org/10.33029/2308-1198-2022-10-3-64-75>.
- 18.** Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Аюшинова Н.И., Каня О.В. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)* 2012, 3: 8–12.
- Shurygina I.A., Shurygin M.G., Ayushinova N.I., Kanya O.V. Fibroblasts and their role in the development of connective tissue. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)* 2012, 3: 8–12.
- 19.** Сорокумова М.В., Компантцев Д.В., Щербакова Л.И., Компантцев В.А., Медвецкий А.И., Зяблицева Н.С., Васина Т.М., Санникова Е.Г. Поли-D,L-лактид-ко-гликолид — перспективный полимер для разработки наносистем доставки лекарственных средств (обзор). *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»* 2022; 24(8): 42–52, <https://doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-8-42-52>.
- Sorokumova M.V., Kompartsev D.V., Shcherbakova L.I., Kompartsev V.A., Medvetsky A.I., Zyablitseva N.S., Vasina T.M., Sannikova E.G. Poly-D,L-lactide-co-glycolide — a prospective polymer for the development of nanosystems for drug delivery (review). *Medical & Pharmaceutical Journal “Pulse”* 2022; 24(8): 42–52, <https://doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-8-42-52>.