

УДК 616-77

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-1-61-68

ПОПОВ Г. И.¹, КРЮКОВ А. Е.^{2, 3}, НАЩЕКИНА Ю. А.^{3, 4},
ИВАНЬКОВА Е. М.^{2, 3}, ВАВИЛОВ В. Н.¹, ЮДИН В. Е.^{2, 3},
ПОПРЯДУХИН П. В.^{2, 3}, ЮКИНА Г. Ю.¹, СМИРНОВА Н. В.^{2, 3}

Сравнительная оценка методов культивирования мезенхимных стволовых клеток на биоразлагаемой матрице из нановолокон L-полилактида для создания тканеинженерного сосудистого имплантата

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт Высокомолекулярных соединений» РАН
199004, Россия, Санкт-Петербург, В. О., Большой пр., д. 31

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого
195251, Россия, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии» РАН
194064, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4
e-mail: trek-4300@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 09.12.17; принята к печати 12.12.17

Резюме

Ключевым этапом в разработке тканеинженерного сосудистого имплантата на основе биоразлагаемой полимерной матрицы является посев и культивирование клеточного материала. Целью работы было определение оптимального метода культивирования мезенхимных стволовых клеток жировой ткани крысы на трубчатой биоразлагаемой матрице из нановолокон L-полилактида. Выполнена сравнительная оценка статичного и динамического способов культивирования клеточного материала. Разработанный вариант интеграции клеток при помощи фильтрационного метода в совокупности с динамическим культивированием в проточном биореакторе доказал свою более высокую эффективность и пригоден для дальнейшей разработки тканеинженерного сосудистого имплантата.

Ключевые слова: матрица, L-полилактид, биореактор, тканевая инженерия

Для цитирования: Попов Г. И., Крюков А. Е., Нащекина Ю. А., Иванькова Е. М., Вавилов В. Н., Юдин В. Е., Попрядухин П. В., Юкина Г. Ю., Смирнова Н. В. Сравнительная оценка методов культивирования мезенхимных стволовых клеток на биоразлагаемой матрице из нановолокон L-полилактида для создания тканеинженерного сосудистого имплантата. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(1):61–68. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-1-61-68

UDC 616-77

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-1-61-68

POPOV G. I.¹, KRYUKOV A. E.^{2, 3}, NASHCHEKINA Yu. A.^{3, 4},
IVANKOVA E. M.^{2, 3}, VAVILOV V. N.¹, YUDIN V. E.^{2, 3},
POPRYADUKHIN P. V.^{2, 3}, YUKINA G. Yu.¹, SMIRNOVA N. V.^{2, 3}

Comparative evaluation of mesenchymal stem cells cultivation methods on biodegradable L-poly lactide scaffold for the creation of tissue-engineered vascular implant

¹ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University

197022, Russia, Saint Petersburg, L'va Tolstogo street, 6–8

² Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences
199004, Russian Federation, Saint-Petersburg, Bolshoy pr., 31

³ Peter the Great Saint-Petersburg State Polytechnical University
194064, Russian Federation, Saint-Petersburg, Politechnicheskaya street, 29

⁴Institute of Cytology of the Russian Academy of Science
194064, Russian Federation, Saint-Petersburg, Tikhoretsky street, 4
e-mail: trek-4300@yandex.ru

Received 09.12.17; accepted 12.12.17.

Summary

Cell integration and cultivation on the matrix are the key processes in the development of a tissue-engineered vascular implant (TEVI) based on a biodegradable polymer scaffold. The aim of this research is to identify the optimal method of mesenchymal stem cells cultivation on the tubular biodegradable scaffold from L-poly lactide. The comparative evaluation of the static and dynamic cultivation methods was performed. Proposed method of combining filtration method of cell integration and dynamic cultivation has proved its higher efficiency and is suitable for further development of TEVI.

Keywords: matrix, L-poly lactide, bioreactor, tissue engineering

For citation: Popov G. I., Kryukov A. E., Swed Yu. A., Ivankova E. M., Vavilov V. N., Yudin V. E., Popryadukhin P. V., Smirnova N. V. Comparative evaluation of mesenchymal stem cells cultivation methods on biodegradable l-poly lactide scaffold for the creation of tissue-engineered vascular implant. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2018;17(1):61–68. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-1-61-68

Введение

Болезни сердечно-сосудистой системы занимают 1-е место в структуре смертности в большинстве стран мира [12]. Число реконструктивных операций, в течение которых необходимо замещать или шунтировать пораженные сосуды, увеличивается. Общее число сосудистых артериальных реконструкций в России за 2016 г. составило 71,810 операций, что на порядок выше, чем за все предыдущие года [1].

В настоящее время в клинике в ходе такого рода оперативных вмешательств широко используют аутологичные артерии и вены или синтетические сосудистые протезы. Но ни те, ни другие не удовлетворяют в полной мере требованиям современной сердечно-сосудистой хирургии, особенно в случае реконструкции сосуда диаметром менее 5 мм [3, 5, 6].

Решением этой проблемы может стать создание тканеинженерного сосудистого имплантата (ТИСИ), который, постепенно трансформируясь, приобретает бы структуру и функцию естественного сосуда. Оптимальным результатом такого процесса должно стать развитие чувствительности клеточных составляющих имплантата к нейрогуморальному воздействию со стороны организма реципиента.

Наиболее перспективным способом разработки ТИСИ является классический метод использования биодеградируемых полимерных матриц [8]. Принцип методики вытекает из основной концепции создания любого тканеинженерного органа, которая предполагает использование биоразлагаемой матрицы, клеточного материала и специфических сигналов, моделирующих активность и судьбу клеток после вживления имплантата в организм реципиента [7]. Предполагается, что далее на фоне биодеградации волокон полимера произойдет образование сосудистой стенки *de novo*. Известно, что техника посева клеток является ключевым моментом в разработке ТИСИ [10]. Кроме того, в ряде исследований показано, что культивирование клеток улучшает проходимость ТИСИ после имплантации в сосудистое русло [4, 9].

В настоящее время разработан целый ряд методик культивирования клеток на матрицах, но большинство из них занимает слишком много времени и малоприменимы в клинике [13]. Для масштабного производства ТИСИ необходим дешевый, надежный и эффективный способ посева [2]. Несмотря на то, что процесс культивирования широко изучен для разных

типов матриц и клеток, все известные исследования были направлены строго для определенной модели матрицы и поэтому не могут быть экстраполированы на другие работы. Поэтому **целью** исследования было определение оптимального метода культивирования мезенхимных стволовых клеток жировой ткани крысы на трубчатой биоразлагаемой матрице из нановолокон L-полилактида.

Материал и методы исследования

Получение матрицы из нановолокон полилактида

Трубчатые матрицы на основе нановолокон полилактида (ПЛА) $M_w=50$ кДа получали методом электроформования из раствора ПЛА в хлороформе на лабораторной установке Nanon-01A (Япония). Раствор ПЛА концентрацией 15 wt % с помощью инжекторного насоса подавали через электрод-фильтр в электрическое поле ($V=16$ кВ) при расстоянии между электродами 0,15 м, осаждение волокон происходило на цилиндрическом электроде диаметром 1,1 мм. Скорость вращения последнего составляла 1500 об./мин. Получены трубчатые матрицы с внутренним диаметром 1,1 мм и толщиной стенки 320 мкм.

Исследование микроструктуры матрицы

Исследование микроструктуры трубчатых матриц на основе нановолокон из ПЛА проводили с помощью метода сканирующей электронной микроскопии. Для этого образцы промывали 0,1 М НФБ (рН 7,4), после чего фиксировали в течение 20 мин 4 %-м раствором формальдегида в НФБ. После удаления фиксирующего раствора образцы промывали НФБ, высушивали на воздухе. Затем они были прикреплены к предметным столикам и напылены тонким (~10 нм) слоем платины, используя установку для катодного распыления Quorum Q150T ES. Изучение объектов проводили на аппарате Supra 55VP (Carl Zeiss) в режиме регистрации вторичных электронов при ускоряющем напряжении 5 кВ.

Получение и культивирование первичной культуры мезенхимных стволовых клеток жировой ткани

Для получения первичной культуры мезенхимных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) использовали традиционную методику селекции по адгезии к пластику [14]. Для выделения клеток был

использован биологический материал одной взрослой лабораторной крысы линии Вистар (масса – 255 г, самец). Обращение с животным соответствовало правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Проведение исследования было одобрено локальным Этическим комитетом ПСПбГМУ им. И. П. Павлова. Оперированы самцы крысы весом 300–350 г одной генетической линии под ингаляционной анестезией (1,5 % изофлуран, вводный наркоз – 3 % – изофлуран). В асептических условиях выделяли 0,3–0,5 мл жировой ткани из передней брюшной стенки. Жировую ткань в чашке Петри механически гомогенизировали. Затем проводили энзиматическую диссоциацию клеток 0,2 %-м раствором коллагеназы I (*Gibco*, США) в растворе Хенкса в термощейкере (*Biosan ES-20*) в течение 60 мин при 37 °С. После нейтрализации действия коллагеназы добавлением 10 % фетальной сыворотки крови телят (*Gibco*, США) суспензию центрифугировали 10 мин при 1,5 тыс. об/мин. Полученный осадок ресуспендировали полной питательной средой α -MEM («Панэко», Россия) с добав-

лением L-глутамина, 10 % бычьей эмбриональной сыворотки и антибиотиков 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (все реактивы *Gibco*, США) и культивировали в условиях CO₂-инкубатора (*Thermo Fisher Scientific*, 3423) при температуре 37 °С, концентрации CO₂ 5 % и повышенной влажности. Через 48 ч неприкрепленные клетки, форменные элементы крови и соединительнотканную строму удаляли двукратной отмывкой НФБ. На 5-е сутки клетки иммобилизовали 0,05 %-м раствором трипсина (*Gibco*, США) и проводили пересев (1 пассаж). В дальнейшем культивирование МСК ЖТ проводили в культуральных флаконах площадью 175 см² (*Erpen-dorf*) до достижения субконфлюентности монослоя (70 % площади поверхности). Для культивирования использовали клетки 3–8 пассажей. Перед посевом МСК ЖТ выполняли кондиционирование матрицы в культуральной среде в течение 1 ч.

Фильтрационный метод посева и культивирования клеток в статичных условиях

В ходе фильтрационного посева клеток производили временное пережатие одного конца матрицы пинцетом, тогда как через второй конец 3-кратно вводили под давлением 1 мл полной культуральной среды с $2,0 \times 10^6$ МСК ЖТ через венозный катетер (*Helmflon*, Германия), подсоединенный к инсулиновому шприцу (*Becton–Dickinson*, Китай). Таким образом, стенка матрицы играла роль фильтра. При этом наружный диаметр венозного катетера и внутренний диаметр матрицы точно совпадали. После чего матрицу помещали в CO₂-инкубатор в пробирке-биореакторе с увеличением объема среды до 5 мл на сроки 1, 7 и 14 суток. Смену среды производили каждые 3-е суток.

Фильтрационный метод посева и культивирование клеток в динамических условиях проточного биореактора

После выполнения описанного выше фильтрационного посева МСК ЖТ на матрицу пробирку с последней в исходной питательной среде помещали в CO₂-инкубатор на 1 ч. Заполняли соединительные трубки культуральной средой (30 мл), предотвращая попадание воздуха в контур. Далее матрицу фиксировали в камере биореактора на периферических венозных катетерах шовной нитью. Исходную питательную среду с неадгизировавшими МСК ЖТ вводили в контур по направлению к матрице через трехходовый краник. В течение первых 3 ч скорость работы перистальтического насоса составляла 1 мл/ч, далее увеличивали до 20 мл/ч на 12 ч, затем – до 600 мл/ч. МСК ЖТ культивировали на матрице в двух ре-

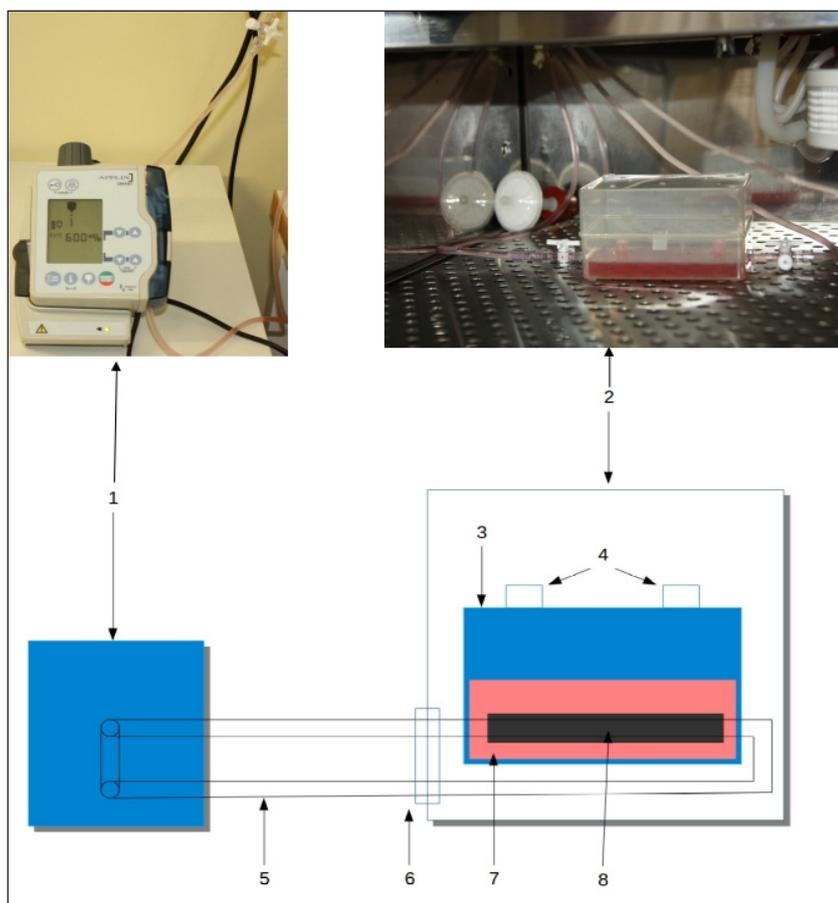


Рис. 1. Схема и фотография сконструированного биореактора: 1 – перистальтический насос; 2 – основная часть биореактора в CO₂-инкубаторе; 3 – камера биореактора; 4 – антибактериальные фильтры; 5 – соединительные трубки; 6 – технологическое отверстие в CO₂-инкубаторе; 7 – питательная среда; 8 – зафиксированная матрица

Fig. 1. Scheme and photography of the constructed bioreactor: 1 – peristaltic pump; 2 – main part of bioreactor in CO₂ incubator; 3 – bioreactor chamber; 4 – antibacterial filters; 5 – connecting tubes; 6 – technological hole in CO₂ incubator; 7 – nutrient medium; 8 – fixed matrix



а



б

Рис. 2. Фотография биореактора Celllab: а – доккинговая станция; б – сменная платформа с пятью культуральными камерами

Fig. 2. Photography of the Cellab bioreactor: а – docking station; б – removable platform with five culture chambers

жимах: 7 суток в динамических условиях (I режим), 7 суток в динамических условиях с последующими 7 сутками в статичном режиме (II режим).

Устройство оригинального проточного биореактора

Разработанный биореактор выполнен в виде системы с закрытым контуром (рис. 1). Это позволяет проводить постоянную перфузию питательной среды (7) через просвет матрицы (8). Биореактор состоит из камеры (3) и перистальтического насоса (1), соединительных полихлорвиниловых трубок (5). Камера биореактора изготовлена из прозрачного пластикового контейнера с герметично закрывающейся крышкой, на которой находятся газообменные отверстия, закрытые антибактериальными фильтрами (4) с размерами пор 0,22 мкм (*Orange Scientific*). Камеру располагали внутри CO₂-инкубатора, она служит резервуаром для питательной среды. Внутри камеры зафиксирована матрица. Она присоединена к двум венозным периферическим катетерам диаметром 1,1 мм. Рядом с CO₂-инкубатором расположен перистальтический насос (*Applix Smart*), от которого через технологическое отверстие инкубатора (б) проходят одноразовые стерильные соединительные трубки (5).

Фильтрационный метод посева и культивирование клеток в динамических условиях проточного биореактора Celllab

При помощи описанного выше фильтрационного метода выполняли посев МСК ЖТ на матрицы (n=5), помещали их в CO₂-инкубатор на 1 ч. После заполнения контура и резервуара 500 мл питательной среды матрицы располагали в камерах биореактора. Исходную питательную среду с неприкрепившимися МСК ЖТ вводили в контур биореактора через портативный трехходовый краник. С использованием программного обеспечения удаленно настраивали работу биореактора в следующем режиме: в течение первых 3 ч скорость перистальтического насоса составляла 1 мл/ч с реверсивным током среды каждые 10 мин, далее скорость увеличивали до максимально возможных значений 276 мл/ч с без изменения направления тока среды. МСК ЖТ культивировали на матрице в течение 7 суток (I режим), 7 суток в динамических условиях с последующими 7 сутками в статичном режиме (II режим).

Устройство биореактора Celllab

Данный биореактор разработан компанией *Cellab GmbH* (Германия) и предназначен для параллельного

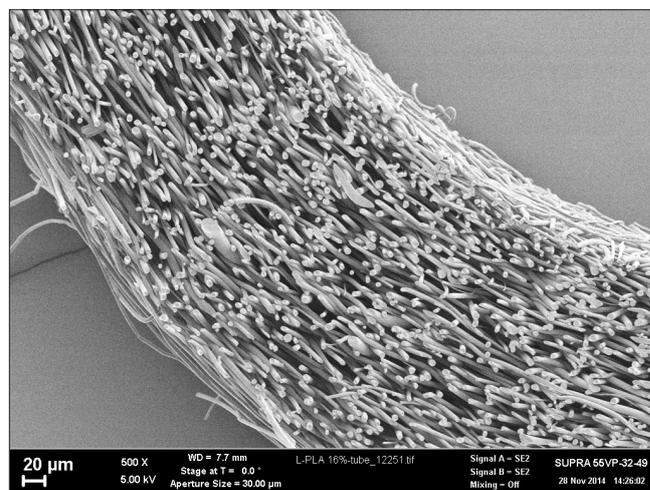
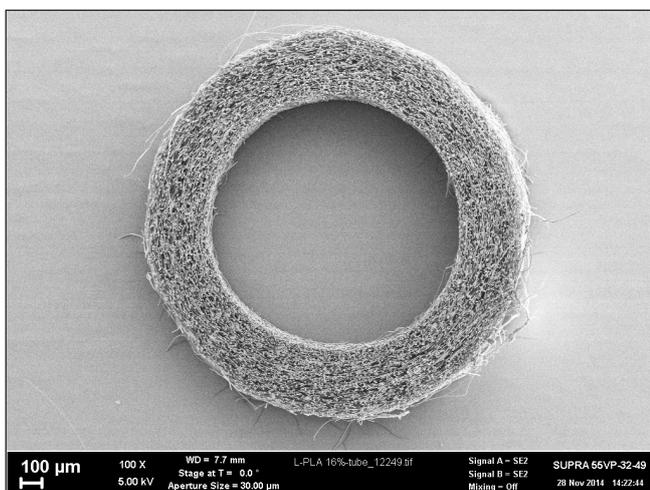


Рис. 3. Поперечное сечение матрицы на основе нано- и микроволокон из ПЛА

Fig. 3. Cross-section of scaffold based on nano- and microfibers from PLA

культивирования клеточного материала на нескольких матрицах. Устройство состоит из двух частей (рис. 2): доккинг-станция, содержащая перистальтический насос, температурный датчик, газовый насос и фильтр, USB-разъем для подключения к персональному компьютеру и сменная платформа с 5 камерами, системой трубок и резервуаром для питательной среды. Достоинства биореактора заключаются в возможности параллельного культивирования клеточного материала на пяти матрицах, низких рисках бактериального контаминирования. Также с помощью прилагаемого программного обеспечения возможны отдаленная настройка и контроль процесса культивирования. Таким образом, возможно составление протокола культивирования с последующим высоким уровнем воспроизводимости результатов.

Флуоресцентная микроскопия

После необходимого срока культивирования клеток на матрице графт отмывали от питательной среды раствором НФБ. После промывки клетки фиксировали 10 мин в 4 %-м растворе формальдегида в НФБ. Отмывали от фиксатора раствором НФБ трижды в течение 10 мин. Далее для перфорации плазматической мембраны клетки инкубировали в течение 10 мин в 0,1 %-м растворе Тритон X-100 (*Helicon*, Россия) в НФБ. Проводили отмывку аналогично предыдущей. Для визуализации ядер клеток препараты окрашивали раствором DAPI в НФБ в концентрации 1 мкг/мл и анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Zeiss LSM 5 PASCAL.

Результаты исследования и их обсуждение

Получение матрицы из нановолокон ПЛА

Методом электроспиннинга получена трубчатая матрица из ПЛА с внутренним диаметром

1,1 мм и толщиной стенки 320 мкм (рис. 3). Нановолокна в структуре матрицы имеют хаотичное расположение, размеры пор между ними находятся в диапазоне 10–50 мкм, что сопоставимо с размерами МСК ЖТ.

Фильтрационный метод посева и культивирование клеток в статических условиях

При выполнении фильтрационного метода посева стенка матрицы выполняла роль своеобразного фильтра для клеток. Происходила значимая интеграция МСК ЖТ в объеме графта. Через 1 сутки культивирования в статических условиях регистрировали формирование градиента плотности расположения клеток от максимальной на внутренней до минимальной на внешней поверхности графта. После 7 суток наблюдали незначительное снижение разницы в плотности распределения клеток в толще матрицы (рис. 4, а). По истечении 14 суток сформированный изначально градиент сохранялся, так как не происходило значимого увеличения количества клеток на периферии стенки матрицы (рис. 4, б).

Фильтрационный метод посева и культивирование клеток в динамических условиях оригинального проточного биореактора

При культивировании в течение 7 суток в динамических условиях разработанного проточного биореактора в стенке матрицы также определяется градиент распределения клеток с максимальной концентрацией во внутренних слоях. При этом наблюдается их распространение и во внешние слои матрицы. Через 14 суток определяется схожая картина, но с увеличенным количеством клеточного материала в

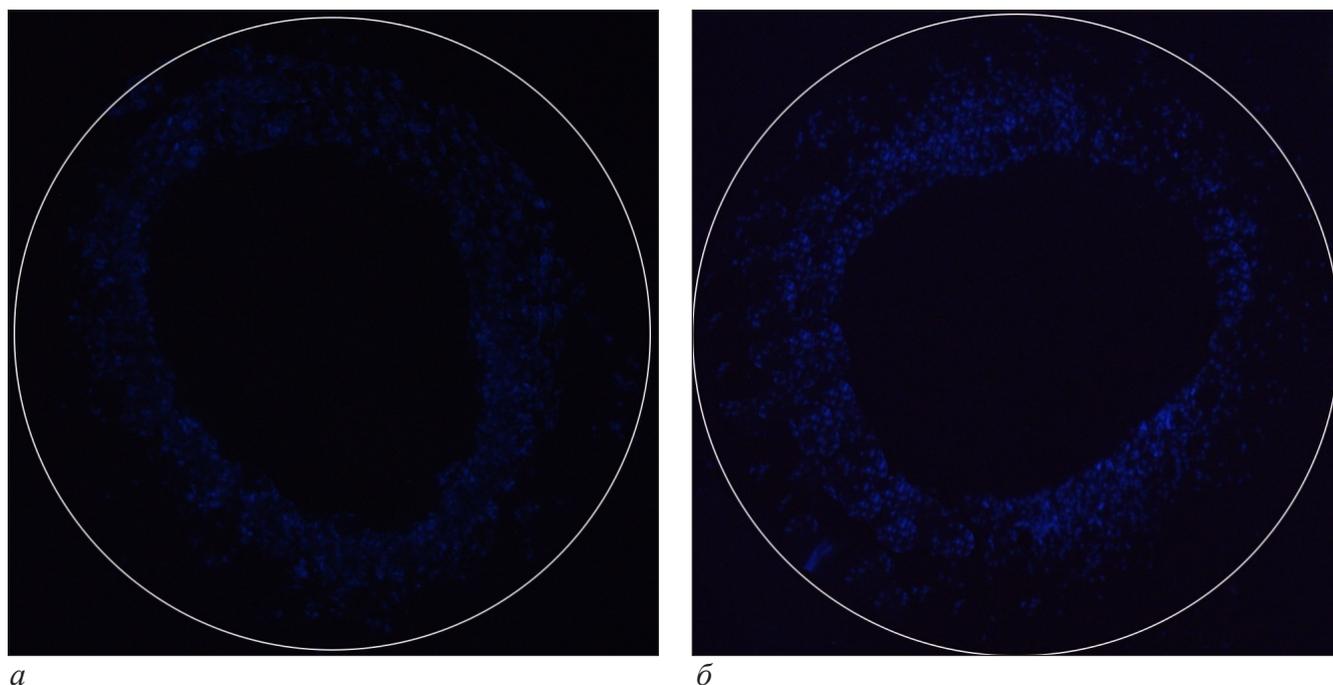


Рис. 4. Результаты фильтрационного способа посева МСК ЖТ на ПЛА-матрицу. Распределение клеток в матрице через 7 (а) и 14 (б) суток. Увеличение $\times 2,5$

Fig. 4. Results of the AD MSC sowing by filtration method on the PLA scaffold. Cells distribution in the matrix after 7 (a) and 14 (b) days. Magnification $\times 2.5$

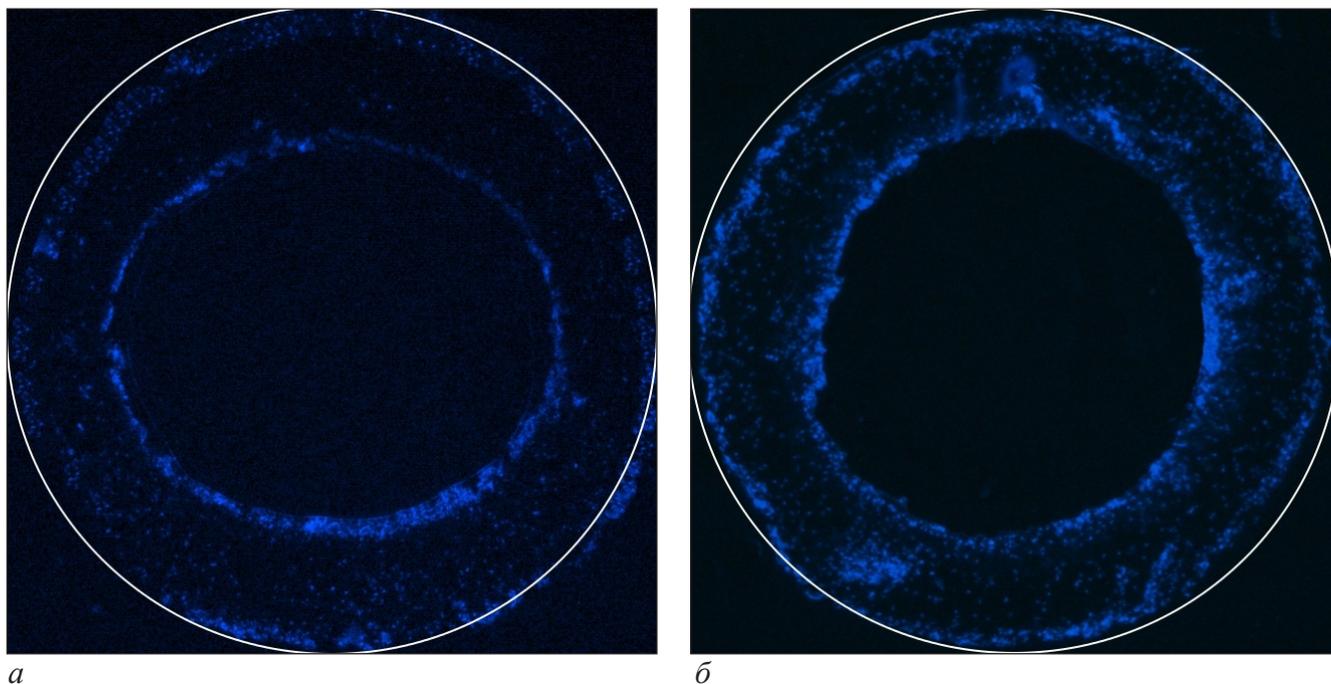


Рис. 5. Распределение МСК ЖТ в матрице в результате культивирования в проточном биореакторе: *a* – 7 суток воздействия пульсовой волны (I режим); *б* – 7 суток воздействия пульсовой волны с последующими 7 сутками статичного культивирования (II режим). Увеличение $\times 2,5$

Fig. 5. Distribution of AD MSC in the scaffold as a result of cultivation in the flow bioreactor: *a* – 7 days of dynamic cultivation (I mode); *б* – 7 days of dynamic cultivation and subsequent 7 days of static cultivation (II mode). Magnification $\times 2.5$

структуре матрицы, без градиента распределения клеток в ее толще (рис. 5, *a, б*). Таким образом, культивирование в динамических условиях приводит к практически однородному распределению МСК ЖТ в стенке матрицы.

Фильтрационный метод посева и культивирование клеток в динамических условиях биореактора Cellab
В результате выполненного посева МСК ЖТ фильтрационным методом и культивирования в камере биореактора Cellab через 7 суток (рис. 6, *a*)

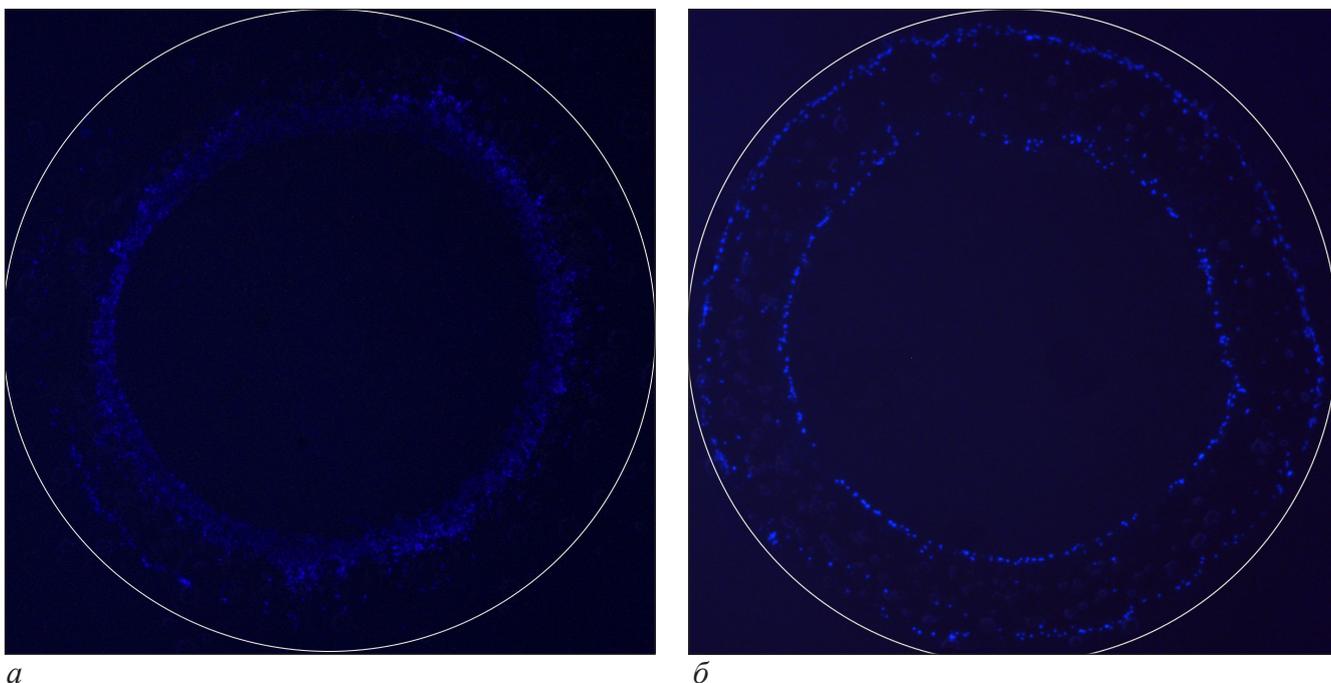


Рис. 6. Распределение МСК ЖТ в матрице в результате культивирования в биореакторе Cellab: *a* – 7 суток воздействия пульсовой волны (I режим); *б* – 7 суток воздействия пульсовой волны и 7 суток статичного культивирования (II режим). Увеличение $\times 2,5$

Fig. 6. Distribution of AD MSC in the scaffold as a result of cultivation in the Cellab bioreactor: *a* – 7 days of dynamic cultivation (I mode); *b* – 7 days of dynamic cultivation and subsequent 7 days of static cultivation (II mode). Magnification $\times 2.5$

сохраняется градиент распределения клеток в стенке матрицы, большая часть которых располагается во внутренних слоях. Через 14 суток культивирования (рис. 6, б) определяется равномерный слой клеток, как на внутренней, так и на внешней поверхности матрицы. В средних ее слоях определяли клетки в умеренной количестве. Отмеченного ранее градиента распределения МСКТ ЖТ не регистрировали.

Полученные результаты подтверждают возможность использования разработанной трубчатой матрицы из нановолокон ПЛА в работе с МСК ЖТ для получения ТИСИ. Известные положительные свойства непосредственно самого полимера – биосовместимость, умеренная гидрофобность и безопасность – дополняются такими значимыми характеристиками полученной матрицы, как достаточная для проникновения клеток внутрь пористость, а также волокнистая структура, позволяющая клеткам распределиться в объеме матрицы [11]. При статичном культивировании МСК ЖТ на матрице в течение 7 и 14 суток сохраняется градиент распределения клеток с максимальной их концентрацией во внутренних слоях. При этом с течением времени не происходит значимого увеличения количества клеток на периферии матрицы. Таким образом, не происходит равномерного распределения МСКТ ЖТ во всем объеме матрицы. В то же время существует предположение, что именно оно позволяет сформироваться внеклеточному матриксу во всем объеме матрицы, а это в последующем приводит к росту однородной функциональной ткани. С этой позиции статичное культивирование МСК ЖТ на матрице из ПЛА не может быть признано оптимальным. Тогда как культивирование клеток в разработанном проточном биореакторе приводило к равномерному их распределению в матрице. Изначальный градиент распространения клеток сохранялся при сроке культивирования 7 суток, а часть клеток достигала внешних слоев ПЛА-матрицы. Культивирование клеток в течение 14 суток приводило к более однородному их распределению в матрицы. Представляется, что это следствие постоянного влияния пульсовой волны биореактора на МСК ЖТ. При культивировании МСК ЖТ на ПЛА матрице в камере биореактора Cellab происходит постоянное омывание матрицы питательной средой со всех сторон, но прямого тока сквозь внутренний ее просвет нет. В результате через 14 суток культивирования клетки образуют равномерные слои на внешней и внутренней поверхности матрицы, тогда как в среднем слое они представлены в незначительном количестве. Таким образом, сочетание фильтрационного способа посева МСК ЖТ на матрицу с динамическим культивированием в разработанном проточном биореакторе оказалось высоко эффективным и, судя по всему, пригодным при дальнейшей разработке ТИСИ. В дальнейшем представляется необходимым совместить такие положительные характеристики биореактора Cellab, как возможность параллельного культивирования клеточного материала на 5 матрицах, низкие риски бактериального контаминирования, отдаленная на-

стройка и мониторинг процесса культивирования, высокий уровень воспроизводимости результатов и основное достоинство разработанного проточного биореактора, проведение тока питательной среды по внутреннему просвету трубчатой матрицы. Возможным техническим решением является модификация структуры камер биореактора Cellab и фиксации в них трубчатой матрицы.

Авторы благодарят Российский научный фонд за содействие в проведении исследований, грант № 14-33-00003.

Литература / References

1. Покровский А. В., Ивандаев А. С. Ежегодный отчет Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов. Состояние сосудистой хирургии в России в 2016 году. – М., 2017. [Pokrovsky A.V., Ivandaev A.S. Annual report of the Russian Society of Angiologists and Vascular Surgeons. The state of vascular surgery in Russia in 2016. Moscow, 2017 (In Russ)].
2. Ashan T, Nerem R. Bioengineered tissues: the science, the technology, and the industry. *Orthod. Craniofac.* 2005;8(3):134-140. doi: 10.1111/j.1601-6343.2005.00326.x.
3. Harskamp R, Lopes R, Baisden C, de Winter R, Alexander J. Saphenous Vein Graft Failure After Coronary Artery Bypass Surgery. *Ann. Surg.* 2013;257(5):824-833. doi:10.1097/sla.0b013e318288c38d.
4. Hashi C, Zhu Y, Yang G et al. Antithrombogenic property of bone marrow mesenchymal stem cells in nanofibrous vascular grafts. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2007;104(29):11915-11920. doi: 10.1073/pnas.0704581104.
5. Kannan R, Salacinski H, Butler P, Hamilton G, Seifalian A. Current status of prosthetic bypass grafts: A review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;74B(1):570-581. doi: 10.1002/jbm.b.30247.
6. Kim F, Marhefka G, Ruggiero N, Adams S, Whellan D. Saphenous Vein Graft Disease. *Cardiol Rev.* 2013;21(2):101-109. doi: 10.1097/crd.0b013e3182736190.
7. Langer R, Vacanti J. Tissue engineering. *Science.* 1993;260(5110):920-926. doi: 10.1126/science.8493529.
8. L'Heureux N, Dusserre N, Marini A, Garrido S, de la Fuente L, McAllister T. Technology Insight: the evolution of tissue-engineered vascular grafts—from research to clinical practice. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 2007;4(7):389-395. doi: 10.1038/ncpcardio0930.
9. Pawlowski K. Endothelial cell seeding of polymeric vascular grafts. *Front Biosci.* 2004;9(1-3):1412. doi: 10.2741/1302.
10. Pei M. Bioreactors mediate the effectiveness of tissue engineering scaffolds. *FASEB J.* 2002. doi: 10.1096/fj.02-0083ffe.
11. Popryadukhin P, Popov G, Yukina G et al. Tissue-Engineered Vascular Graft of Small Diameter Based on Electrospun Polylactide Microfibers. *Int J Biomater.* 2017;2017:1-10. doi: 10.1155/2017/9034186.
12. World health statistics 2016: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. World Health Organization. Geneva, WHO Press, 2016:64-121.
13. Yow K, Ingram J, Korossis S, Ingham E, Homer-Vanniasinkam S. Tissue engineering of vascular conduits. *Br. J. Surg.* 2006;93(6):652-661. doi:10.1002/bjs.5343.
14. Zhu M, Heydarkhan-Hagvall S, Hedrick M, Benhaim P, Zuk P. Manual Isolation of Adipose-derived Stem Cells from Human Lipoaspirates. *J. Vis. Exp.* 2013;79. doi:10.3791/50585.

Информация об авторах

Попов Гурий Иванович – врач-ангиохирург ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, e-mail: trek-4300@yandex.ru.

Крюков Артем Евгеньевич – старший лаборант-исследователь лаборатории Механики полимеров и композиционных материалов Института высокомолекулярных соединений РАН, e-mail: kryukov14@gmail.com.

Нашекина Юлия Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории Полимерных материалов для тканевой инженерии и трансплантологии Санкт-Петербургского государственного политехнического университета Петра Великого, научный сотрудник Центра клеточных технологий Института цитологии РАН, e-mail: ulychka@mail.ru.

Иванькова Елена Михайловна – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории Механики полимеров и композиционных материалов института высокомолекулярных соединений РАН, e-mail: ivelen@mail.ru.

Вавилов Валерий Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения сосудистой хирургии ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, e-mail: anastasia.vavilova@gmail.com.

Юдин Владимир Евгеньевич – доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией Механики полимеров и композиционных материалов Института высокомолекулярных соединений РАН, заведующий лабораторией Полимерных материалов для тканевой инженерии и трансплантологии Санкт-Петербургского государственного политехнического университета Петра Великого, e-mail: yudin@hq.macro.ru.

Попрядухин Павел Васильевич – кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории Механики полимеров и композиционных материалов Института высокомолекулярных соединений РАН, e-mail: pavel-pn@mail.ru.

Юкина Галина Юрьевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, заведующая лабораторией патоморфологии НИЦ Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова», e-mail: pipson@inbox.ru.

Смирнова Наталья Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории Механики

полимеров и композиционных материалов Института высокомолекулярных соединений РАН, e-mail: nvsmirnoff@yandex.ru.

Author information

Popov Guriy I. – vascular surgeon, vascular surgery department, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: trek-4300@yandex.ru.

Kryukov Artem E. – laboratory assistant-researcher, Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Laboratory Mechanics of Polymers and Composite Materials, e-mail: kryukov14@gmail.com.

Nashchekina Yulia A. – Ph.D., senior research fellow, Laboratory «Polymeric Materials for Tissue Engineering and Transplantation» of St. Petersburg State Polytechnic University Peter the Great, e-mail: ulychka@mail.

Ivankova Elena M. – Ph.D., senior researcher, Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Laboratory of Mechanics of Polymers and Composite Materials, e-mail: ivelen@mail.ru.

Vavilov Valery N. – professor, head of the vascular surgery department, First Medical University n. after I. P. Pavlov, vascular surgery department, e-mail: anastasia.vavilova@gmail.com.

Yudin Vladimir E. – head of the Laboratory «Mechanics of Polymers and Composite Materials», Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, head of the Laboratory «Polymeric Materials for Tissue Engineering and Transplantation», St. Petersburg State Polytechnic University, Peter the Great, e-mail: yudin@hq.macro.ru.

Popryadukhin Pavel V. – senior researcher, Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Laboratory of Mechanics of Polymers and Composite Materials, e-mail: pavel-pn@mail.ru.

Yukina Galina Yu. – PhD, Docent, docent of the Department of Histology, Embryology and Cytology, Head of the Laboratory pathomorphology Research Center Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, e-mail: pipson@inbox.ru.

Smirnova Natallia V. – researcher, Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Laboratory of Mechanics of Polymers and Composite Materials, e-mail: nvsmirnoff@yandex.ru.