

СРАВНЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКИХ СОСУДИСТЫХ ПРОТЕЗОВ *IN VITRO*

© Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, Н.Д. Мжаванадзе, Н.В. Короткова, А.А. Никифоров, И.Ю. Суров, П.Ю. Иванова, А.Д. Боженова, Е.А. Стрельникова

ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия

Цель. Изучить и сравнить цитотоксичность ключевых видов синтетических протезов, используемых в артериальной реконструктивной хирургии, включая политетрафторэтилен (ПТФЭ) и полиэтилентерефталат (дакрон).

Материалы и методы. На культуре первичных эндотелиальных клеток пупочной вены человека (англ. – *human umbilical vein endothelial cells*, HUVEC) 3 пассажа проведен MTS-тест, используемый в лабораторных исследованиях с привлечением клеточных технологий для изучения цитотоксичности лекарственных веществ и медицинских изделий. Тест подразумевает использование реагента MTS, представляющего собой 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфопенил)-2Н-тетразолиум; дополнительно используется феназина метосульфат (PMS), играющий роль электрон-связывающего реагента. В ходе эксперимента клетки инкубировались с ПТФЭ и дакроном в течение 24 часов при 37°C с содержанием 5% CO₂. Культивированные в стандартной ростовой среде HUVEC выступили в роли контроля. MTS в присутствии PMS восстанавливался митохондриальными дегидрогеназами эндотелиальных клеток в формазан, имеющий синее окрашивание. Супернатант культур клеток фотокolorиметрически при помощи анализатора Stat Fax 3200 (microplate reader) Awareness technology Inc. Palm City FL (США).

Результаты. Наименьшие средние значения отмечались в группе дакрона – 0,21 (0,20-0,22) единиц оптической плотности, наибольшие отмечены в группе контроля – 0,36 (0,35-0,38); показатели в группе ПТФЭ составили 0,35 (0,33-0,36). При сравнении исследуемых групп статистически значимые различия были обнаружены между группой контроля и дакрона ($p<0,001$), контроля и ПТФЭ ($p=0,037$), дакрона и ПТФЭ ($p<0,001$). Инкубация с дакроном привела к угнетению метаболической активности клеток на 41,7% по сравнению с группой контроля ($p<0,001$). Метаболическая активность клеток, подверженных воздействию ПТФЭ, была близкой к группе контроля, т.е. соответствовала оптимальным условиям культивирования эндотелиальных клеток *in vitro*.

Вывод. В сравнении с полиэтилентерефталатом (дакроном) политетрафторэтилен (ПТФЭ) наименее выраженно угнетал метаболическую активность эндотелиоцитов *in vitro*.

Ключевые слова: цитотоксичность; ПТФЭ; дакрон; HUVEC; *in vitro*.

COMPARISON OF CYTOTOXICITY OF VASCULAR PROSTHESES *IN VITRO*

R.E. Kalinin, I.A. Suchkov, N.D. Mzhavanadze, N.V. Korotkova, A.A. Nikiforov,
I.Yu. Surov, P.Yu. Ivanova, A.D. Bozhenova, E.A. Strelnikova

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

Aim. To study and compare cytotoxicity of the main types of synthetic prostheses used in arterial reconstructive surgery, including polytetrafluoroethylene (PTFE) and polyethylene-



terephthalate (Dacron).

Materials and Methods. On the culture of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) of the 3rd passage, MTS test was conducted that is used in laboratory examinations with attraction of cellular technologies to study cytotoxicity of medical drugs and medical products. The test implies use of MTS reagent that is 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium; additionally phenazine methosulfate (PMS) was used that plays the role of electron-binding reagent. In the experiment, cells were incubated with PTFE and Dacron within 24 hours at 37°C with 5% CO₂. For control, HUVEC cultured in the standard growth medium, were used. In the presence of PMS, MTS was reduced by mitochondrial dehydrogenases of endothelial cells to formazan staining blue. Supernatant of cell cultures was evaluated by photocolometric method on Stat Fax 3200 analyzer (microplate reader) of Awareness technology Inc. Palm City Fl. (USA).

Results. The lowest mean values were noted in Dacron group – 0.21 (0.20-0.22) optical density units, the highest values were noted in the control group – 0.36 (0.35-0.38); parameters in PTFE group were 0.35 (0.33-0.36). In comparison of the groups statistically significant differences were found between the control group and Dacron group ($p < 0.001$), control and PTFE group ($p = 0.037$), Dacron and PTFE ($p < 0.001$). Incubation with Dacron led to suppression of metabolic activity of cells by 41.7% as compared to the control group ($p < 0.001$). Metabolic activity of cells exposed to PTFE, approached that of the control group, that is, it corresponded to the optimal conditions of culturing of endothelial cells *in vitro*.

Conclusion. In comparison with polyethylene-terephthalate (Dacron), polytetrafluoroethylene (PTFE) showed the least suppression of metabolic activity of endothelial cells *in vitro*.

Keywords: cytotoxicity; PTFE; Dacron; HUVEC, *in vitro*.

В открытой реконструктивной хирургии периферических артерий оптимальным способом реваскуляризации является использование аутологических материалов, в частности, большой подкожной вены. Редко, в сложных клинических ситуациях, применяются свежеприготовленные или криопрезервированные аллогенные венозные либо артериальные протезы, использование которых может ассоциироваться с реакциями иммуносенсибилизации и неконтролируемыми процессами дегенерации. В случаях, когда аутологичный материал не доступен, применяются сосудистые протезы, преимущественно из политетрафторэтилена (ПТФЭ) и полиэтилентерефталата (дакрон).

Сосудистые кондуиты из ПТФЭ стали использоваться в клинической практике с 1976 г. [1]. Протезы из дакрона применяются в сердечно-сосудистой хирургии уже более 70 лет. В настоящее время большинство дакроновых протезов покрываются коллагеном или желатином, либо импрегнируются серебром; помимо этого, для

снижения тромбогенности, протезы покрываются гепарином [2].

В ранних исследованиях было показано, что дакроновые графты могут иметь удовлетворительную проходимость в срок 16 месяцев при использовании коротких участков размером 3,5 мм x 4 см при создании аорто-коронарных шунтов [3]. При этом сосудистые протезы из ПТФЭ в качестве аорто-коронарных шунтов показали лишь 14%-ую проходимость в сроки 45 месяцев [4]. Тем не менее, синтетические графты малого диаметра в настоящее время практически не применяются ввиду высоких рисков развития осложнений.

При этом, в реконструктивной хирургии аорты и магистральных артерий конечностей искусственные протезы получили широкое распространение. Ряд авторов сообщают о том, что дакроновые протезы проявляют не меньший профиль безопасности и надежности, чем ПТФЭ: согласно данным исследований, структурные недостатки отмечаются не более чем в 0,2%

случаев в отдаленном после реконструкции периоде [5]. Однако, по сравнению с дакроном, ПТФЭ представляет собой менее пористый материал, ввиду чего отмечается меньшая проницаемость этого материала для крови; несмотря на химическую инертность материала, белки и клеточные элементы крови могут осаждаться и на ПТФЭ [6]. Согласно ряду клинических исследований, проходимость протезов из ПТФЭ и дакрона является сравнимой [7].

Ранние осложнения реконструктивных вмешательств зачастую могут быть объяснены неудовлетворительной биосовместимостью протеза и нативного сосуда. Искусственные графты имеют тенденцию к отсутствию эндотелизации в участках вне зон анастомозов; на неэндотелизированных участках протезов в итоге откладываются белки плазмы, преимущественно, фибриноген, и тромбоциты, образуя так называемую «псевдонеointиму», толщина которой, как правило, достигает 1 мм, что, в итоге, располагает протез к развитию тромбоза, а также повышенным рискам инфекции при бактериемии [8]. К более поздним тяжелым осложнениям следует отнести развитие гиперплазии интимы, особенно, в зоне дистальных анастомозов, которая развивается вследствие различных молекулярных механизмов, клеточных взаимодействий и физических факторов как результата имплантации искусственного протеза [9]. Большое количество экспериментальных и клинических исследований *in vitro* и *in vivo* посвящено изучению молекулярно-генетических аспектов патогенеза и возможных путей профилактики развития непосредственно самого периферического атеросклероза, так и осложнений реконструктивной хирургии, включая гиперплазию интимы, тромбоз, ишемию-реперфузию [10-13].

В физиологических условиях эндотелий имеет атеромогенную поверхность, на которой экспрессируются сульфаты хондроитина и гепарина; противосвертывающие свойства интимы также обеспечиваются продукцией простагландина I₂, оксида азота (II) и АДФ-азы [14].

Невозможность искусственного сосудистого протеза полностью воссоздать атеромогенные свойства нативного сосуда в целом предопределяет судьбу искусственных материалов в артериальной позиции в хирургии периферических артерий. Порозность материала сосудистых протезов, комплайенс между имплантированным графтом и нативным сосудом, особенности кровотока в зонах анастомоза играют важную роль в развитии осложнений.

Улучшение эндотелизации и гемосовместимости сосудистых протезов, а также модификация их поверхности в целом призваны предотвратить отложение различных белков плазмы крови и повысить отдаленную проходимость искусственных графтов. Подобное изменение внутреннего просвета графтов возможно путем нанесения различных соединений, например, гидрофильного полиэтиленгликоля, цвиттерионных полимеров, гепарина и прочих. Однако избыточная гидрофильность препятствует адгезии эндотелиальных клеток и формированию оптимальной внутренней выстилки протезов. Поэтому многие исследования направлены на улучшение функциональной эндотелизации протезов путем молекулярно-генетических методик [15,16].

In vitro изучение влияния искусственных материалов, применяемых в сосудистой хирургии, на клетки сосудистой стенки может дать дополнительное понимание механизмов взаимодействия клеточных элементов нативного сосуда, а также крови, и сосудистого протеза. Исследуются особенности адгезии клеток HUVEC на материал ПТФЭ, например, после модификации последнего низкотемпературной плазмой, особенности биосовместимости различных материалов, например, фиброина шелка и полиуретановых мембран при культивировании с клетками HUVEC, проводится *in vitro* оценка цитотоксичности искусственных материалов при различных видах воздействия [17-19].

Оценка цитотоксичности *in vitro* в целом широко применяется в доклинических исследованиях для изучения влияния раз-

личных лекарственных веществ и медицинских изделий на культуры клеток. Одними из наиболее востребованных в рутинной лабораторной практике являются МТТ и МТС тесты.

МТТ-тест основан на способности митохондриальных дегидрогеназ живых и метаболически активных клеток превращать водорастворимый 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид (МТТ) в формазан, обладающий различной степенью окрашивания. При добавлении диметилсульфоксида (ДМСО) к формазану последний растворяется, что позволяет измерить оптическую плотность полученного раствора и, таким образом,

оценить метаболическую активность исследуемых клеток и соответственно цитотоксичность исследуемого вещества или медицинского изделия.

Похожая методика изучения цитотоксичности использует реагент МТС, представляющий собой 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфопенил)-2Н-тетразолиум в присутствии феназина метосульфата (PMS), который играет роль электрон-связывающего реагента. МТС аналогично МТТ восстанавливается клетками до продукта формазана; степень окрашивания клеточного супернатанта может быть измерена фотокolorометрически (рис. 1) [20].

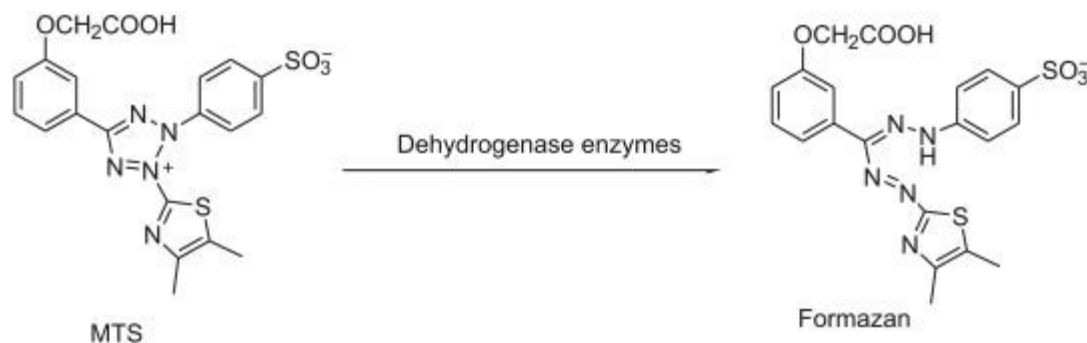


Рис. 1. Схема восстановления МТС до формазана под воздействием дегидрогеназ

Наиболее популярным объектом для *in vitro* изучения различных сосудистых заболеваний и патологических состояний являются эндотелиальные клетки пупочной вены человека – клетки HUVEC (англ. – *human umbilical vein endothelial cells*). Клетки HUVEC имеют ряд преимуществ: это удобство выделения, относительно низкая себестоимость, легкое культивирование в лабораторных условиях. HUVEC были впервые изолированы и культивированы *in vitro* в 1973 г. Е. Jaffe и коллегами [21]. Клеточная линия HUVEC наиболее часто используется в *in vitro* исследованиях в сфере сосудистой биологии. HUVEC используются для изучения как физиологических процессов, протекающих в эндотелии, так и моделирования различных патологических процессов, проведения фармакологических исследований, изучения эффектов медицинских изделий.

При проведении фундаментальных исследований эндотелиальные клетки

пуповины человека часто являются моделью выбора для биомедицинской промышленности и доклинических экспериментов.

Таким образом, *цель* данного исследования – изучить и сравнить цитотоксичность ключевых видов синтетических протезов, используемых в артериальной реконструктивной хирургии, включая политетрафторэтилен (ПТФЭ) и полиэтилентерефталат (дакрон).

Материалы и методы

В ходе эксперимента использовались культуры первичных эндотелиальных клеток пупочной вены человека HUVEC 3 пассажа. Изоляция и культивирование клеток проводились в Лаборатории клеточных технологий Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России согласно стандартным общепринятым протоколам. В качестве тестируемых объектов использованы ПТФЭ и полиэтилентерефталат (дакрон) размером 4x4

мм, все идентичной массой 25 мг. Расчетные размер и масса материалов были выбраны с учетом оптимального покрытия площади поверхности мембранных вставок и результатов предварительных экспериментальных исследований; в качестве контроля использовалось добавление в лунку планшета аналогичного остальным лункам количества ростовой эндотелиальной среды ECGM (Cell Applications Sigma/Aldrich, каталожный номер 211-500). Эксперимент выполнялся трижды с разными первичными линиями HUVEC для исключения погрешностей в измерении.

В ходе каждого эксперимента в ряды

лунок 12-луночного планшета (Corning, каталожный номер 3512) засеивались первичные HUVEC (3-й пассаж). Срок роста клеток в 12-луночном планшете до внесения тестируемых объектов составил 48 ч при 37°C в термостате с содержанием 5% CO₂ (CO₂ инкубатор WS-180CS, World Science, Корея). По достижении 80%-й конфлюэнтности в мембранные вставки для 12-луночного планшета (Corning, 6,5 мм, область роста 0,33 см², поры 0,4 мкм, каталожный номер 3413) вносились тестируемые объекты массой 25 мг и инкубировались 24 ч при 37°C с содержанием 5% CO₂ (табл. 1).

Таблица 1

Дизайн эксперимента

Время	Контроль	Дакрон	ПТФЭ
0 ч	HUVEC 0.1 x 10 ⁶	HUVEC 0.1 x 10 ⁶	HUVEC 0.1 x 10 ⁶
48 ч	ECGM	25мг дакрона	25мг ПТФЭ
72 ч	MTS/PMS	MTS/PMS	MTS/PMS
73,5 ч	Перенесение содержимого лунок в 96-луночный планшет для измерения оптической плотности		

По истечению 24 ч мембранные вставки изымались из планшетов и проводилась экспозиция с реагентами MTS/PMS (Abcam, каталожный номер ab223881) в течение 1,5 часов при 37°C с содержанием 5% CO₂. По прошествии указанного времени полученные растворы (клеточный супернатант) с разной степенью окраски переносятся

в 96-луночные планшеты (Corning, каталожный номер 3599) для оценки оптической плотности на анализаторе (Stat Fax 3200 (microplate reader), Awareness technology Inc. Palm City Fl., США) при 490 нм (референсное значение – 640 нм); бралось не менее 5 проб из каждой лунки для исключения погрешности измерения (рис. 2).



Рис. 2. 96-луночный планшет с клеточным супернатантом после инкубации с MTS/PMS перед измерением оптической плотности

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета программного обеспечения Statistica 10.0 (Stat Soft Inc., США).

Результаты и их обсуждение

Наименьшие средние значения оптической плотности в супернатанте отмечались в группе дакрона – 0,21 (0,2-0,22) единиц опти-

ческой плотности (ЕОП), наибольшие отмечены в группе контроля – 0,36 (0,35-0,38) ЕОП; показатели в группе ПТФЭ составили 0,35 (0,33-0,36) ЕОП. При сравнении исследуемых групп статистически значимые различия были обнаружены между группой контроля и дакрона ($p < 0,001$), контроля и ПТФЭ ($p = 0,037$), дакрона и ПТФЭ ($p < 0,001$, рис. 3).

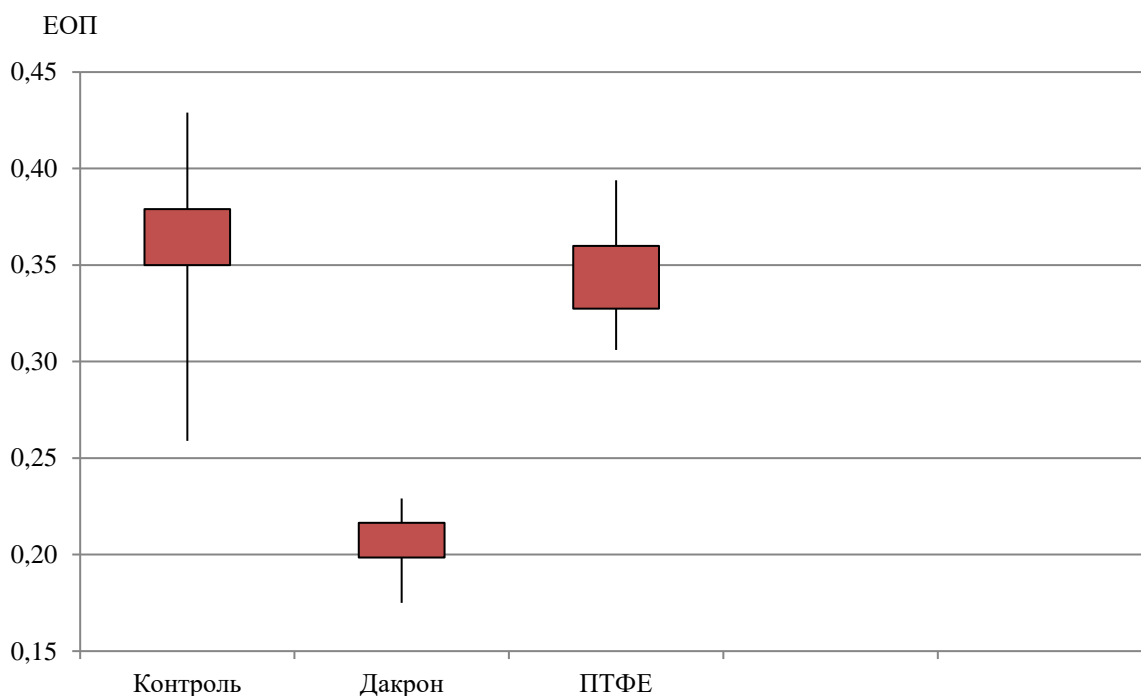


Рис. 3. Сравнение значений оптической плотности в исследуемых группах эксперимента по цитотоксичности

Примечание: все сравнения между группами статически значимы ($p < 0,05$)

Анализ цитотоксичности подразумевает исследование возможности какого-либо материала оказывать влияние на жизнеспособность клеток, например, метаболическую активность, целостность клеточных мембран, клеточный рост. *In vitro* изучение цитотоксичности и/или жизнеспособности клеток имеет ряд преимуществ, таких как быстрота выполнения исследований, относительно невысокая стоимость, а также возможность использования человеческих клеток без рисков для здоровья пациентов; кроме того, *in vitro* использование клеточных линий, полученных от человека, может давать более точные данные, чем некоторые эксперименты на животных *in vivo*.

Существует большое количество методик, используемых для оценки цитотоксичности: 1) методики, исключающие использование каких-либо красителей / видов окрашивания; 2) колориметрические методы; 3) флуориметрические методы; 4) люминометрические методики. Использованный в рамках текущей работы MTS-тест, наряду с методиками MTT, XTT, WST-1, WST-8, LDH, SRB и NRU, относится к колориметрическим методикам [22].

MTS-тест представляет собой быструю, чувствительную и специфичную методику изучения цитотоксичности *in vitro*. Ограничением метода может служить влияние на результаты времени инкубации и

типа клеток. Однако, результаты исследований показывают, что выбор оптимального времени воздействия MTS дает надежные результаты экспериментов [22].

MTS-тест может применяться для изучения цитотоксичности материалов, используемых в различных сферах медицины как при оценке прямого контакта с клетками, так и непрямого, например, с использованием мембранных систем [23]. Изучение цитотоксичности играет и важную роль в сердечно-сосудистой хирургии. Так, ведутся работы по изучению клапанных протезов на основе полиэтилена LLDPE, ПТФЭ, дакрона, бычьего и свиного перикарда, покрытых гиалуроновой кислотой, в рамках которых активно применялись методики оценки цитотоксичности (LDH-методика) [24].

В ходе проведенного авторами статьи эксперимента было показано, что наиболее высокую цитотоксичность в отношении клеток HUVEC показал дакрон: исследование оптической плотности супернатанта, полученного от клеток, инкубированных с данным материалом, продемонстрировало минимальные показатели, что соответствует угнетению метаболической активности клеток на 41,7% по сравнению с группой контроля. Метаболическая активность клеток, подверженных воздействию ПТФЭ, была близкой к группе контроля (снижение оптической плотности не более, чем 2,8%), т.е. соответствовала оптимальным условиям функционирования эндотелиальных клеток *in vitro*.

Оценка цитотоксичности позволяет изучить реакцию клеток на воздействие различных материалов. Проведенная в рамках данного исследования работа по

изучению цитотоксичности ключевых материалов, используемых в сосудистой хирургии, с применением MTS-теста на первичных человеческих эндотелиальных клетках пуповинной вены, представляющей собой удобный и доступный материал для *in vitro* исследований, показала, что возможна относительно простая и доступная лабораторная оценка влияния искусственных протезов на ключевые элементы сосудистой стенки. Данная методика воспроизводима, о чем свидетельствуют результаты повторных экспериментов.

Использованный в рамках данной работы подход может позволить рутинно изучать влияние различных условий внеклеточной среды, покрытий протезов, воздействия химических агентов, на метаболическую активность клеток, что может способствовать расширению знаний о процессах гемосовместимости, эндотелизации сосудистых протезов и гиперплазии интимы в условиях *in vitro*.

Выводы

1. Полиэтилентерефталат (дакрон) обладает цитотоксическим действием на первичные эндотелиальные клетки пупочной вены человека *in vitro*, существенно угнетая метаболическую активность клеток.

2. В сравнении с полиэтилентерефталатом (дакроном) политетрафторэтилен обладает минимальным повреждающим воздействием на эндотелиоциты *in vitro*.

3. MTS-тест может быть использован для рутинного лабораторного изучения влияния материалов, используемых при реконструктивных артериальных вмешательствах, на клетки сосудистой стенки *in vitro*.

Литература

1. Campbell C.D., Brooks D.H., Webster M.W., et al. The use of expanded microporous polytetrafluoroethylene for limb salvage: a preliminary report // *Surgery*. 1976. Vol. 79, №5. P. 485-491.
2. Eiberg J.P., Røder O., Stahl-Madsen M., et al. Fluoropolymer-coated Dacron Versus PTFE Grafts for Femorofemoral Crossover Bypass: Randomised Trial // *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2006. Vol. 32, №4. P. 431-438. doi:10.1016/j.ejvs.2006.04.018
3. Sauvage L.R., Schloemer R., Wood S.J., et al. Successful Interposition Synthetic Graft Between Aorta and Right Coronary Artery. Angiographic Follow-Up to Sixteen Months // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1976. Vol. 72, №3. P. 418-421.
4. Chard R.B., Johnson D.C., Nunn G.R., et al. Aorta-Coronary Bypass Grafting with Polytetrafluoroethylene Conduits. Early and Late Outcome in Eight Patients // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1987. Vol. 94, №1. P. 132-134.

5. Van Damme H., Deprez M., Creemers E., et al. Intrinsic Structural Failure of Polyester (Dacron) Vascular Grafts. A General Review // *Acta Chirurgica Belgica*. 2005. Vol. 105, №3. P. 249-255. doi:10.1080/00015458.2005.11679712
6. Greisler H.P., editor. *New Biologic and Synthetic Vascular Prostheses*. Austin: R.G. Landes Co; 1991.
7. Abbott W.M., Green R.M., Matsumoto T., et al. Prosthetic above-knee femoropopliteal bypass grafting: results of a multicenter randomized prospective trial. Above-Knee Femoropopliteal Study Group // *Journal of Vascular Surgery*. 1997. Vol. 25, №1. P. 19-28. doi:10.1016/S0741-5214(97)70317-3
8. Padera R.F., Schoen F.J. Cardiovascular medical devices. In: Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., et al., editors. *Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine*. 2nd ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2004. Pt. II, chr. 7.3. P. 470-493.
9. Byrom M.J., Ng M.K., Bannon P.G. Biomechanics and biocompatibility of the perfect conduit-can we build one? // *Annals of Cardiothoracic Surgery*. 2013. Vol. 2, №4. P. 435-443. doi:10.3978/j.issn.2225-319X.2013.05.04
10. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Короткова Н.В., и др. Изучение молекулярных механизмов эндотелиальной дисфункции *in vitro* // *Гены & Клетки*. 2019. Т. 14, №1. С. 22-32. doi:10.23888/201903003
11. Калинин Р.Е., Абаленихина Ю.В., Пшенников А.С., и др. Взаимосвязь окислительного карбоилирования белков и лизосомального протеолиза плазмы в условиях экспериментального моделирования ишемии и ишемии-реперфузии // *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2017. Т. 5, №3. С. 338-351. doi:10.23888/HMJ20173338-351
12. Сучков И.А., Пшенников А.С., Герасимов А.А., и др. Профилактика рестеноза в реконструктивной хирургии магистральных артерий // *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2013. №2. С. 12-19.
13. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., и др. Апоптоз в сосудистой патологии: настоящее и будущее // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2020. Т. 28, №1. С. 79-87. doi:10.23888/PAVLOVJ202028179-87
14. Marcus A.J., Broekman M.J., Drosopoulos J.H., et al. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39 // *The Journal of Clinical Investigation*. 1997. Vol. 99, №6. P. 1351-1360. doi:10.1172/JCI119294
15. Ren X., Feng Y., Guo J., et al. Surface Modification and Endothelialization of Biomaterials as Potential Scaffolds for Vascular Tissue Engineering Applications // *Chemical Society Reviews*. 2015. Vol. 44, №15. P. 5680-5742. doi:10.1039/c4cs00483c
16. Adipurnama I., Yang M.C., Ciach T., et al. Surface modification and endothelialization of polyurethane for vascular tissue engineering applications: a review // *Biomaterials Science*. 2016. Vol. 5, №1. P. 22-37. doi:10.1039/c6bm00618c
17. Vig K., Swain K., Mlambo T., et al. Adhesion of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) on PTFE Material Following Surface Modification by Low Temperature Plasma Treatment // *Physiology*. 2019. Vol. 33, №1. P. 603.3.
18. Zhou M., Wang W.C., Liao Y.G., et al. *In vitro* biocompatibility evaluation of silk-fibroin/polyurethane membrane with cultivation of HUVECs // *Frontiers of Materials Science*. 2014. Vol. 8. P. 63-71. doi:10.1007/s11706-014-0230-3
19. Штанский Д.В., Глушанкова Н.А., Кирюханцев-Корнеев Ф.В., и др. Сравнительное исследование структуры и цитотоксичности политетрафторэтилена после ионного травления и ионной имплантации // *Физика твердого тела*. 2011. Т. 53, №3. С. 593-597.
20. Байдамшина Д.Р., Тризна Е.Ю., Холявка М.Г., и др. Оценка генотоксичности и цитотоксичности препаратов иммобилизованного на матрице хитозана трипсина // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2016. №3. С. 53-57.
21. Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G., et al. Culture of Human Endothelial Cells Derived from Umbilical Veins. Identification by Morphologic and Immunologic Criteria // *The Journal of Clinical Investigation*. 1973. Vol. 52, №11. P. 2745-2756. doi:10.1172/JCI107470
22. Aslantürk Ö.S. *In Vitro* Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. In: *Genotoxicity – A Predictable Risk to Our Actual World*. 2018. Доступно по: <https://cdn.intechopen.com/pdfs/57717.pdf>. Ссылка активна на 21 мая 2020. doi:10.5772/intechopen.71923
23. Albulescu R., Popa A.-C., Enciu A.-M., et al. Comprehensive *In Vitro* Testing of Calcium Phosphate-Based Bioceramics with Orthopedic and Dentistry Applications // *Materials*. 2019. Vol. 12, №22. P. 3704. doi:10.3390/ma12223704
24. Emch O., Cavicchia J., Dasi P., et al. Hemocompatibility of Various Heart Valve Materials. In: *Society for Biomaterials. Annual Meeting and Exposition. Pioneering the Future of Biomaterials. Transactions of the 38th Annual Meeting*. 2014. Vol. XXXVI. Art. 28. Available at: <http://abstracts.biomaterials.org/data/papers/2014/0332-000967.pdf>. Accessed: 2020 May 21.

References

1. Campbell CD, Brooks DH, Webster MW, et al. The use of expanded microporous polytetrafluoroethylene for limb salvage: a preliminary report. *Surgery*. 1976;79(5):485-91.
2. Eiberg JP, Røder O, Stahl-Madsen M, et al. Fluoropolymer-coated Dacron Versus PTFE Grafts for Femorofemoral Crossover Bypass: Randomised Trial. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2006;32(4):431-8. doi:10.1016/j.ejvs.2006.04.018
3. Sauvage LR, Schloemer R, Wood SJ, et al. Successful

- Interposition Synthetic Graft Between Aorta and Right Coronary Artery. Angiographic Follow-Up to Sixteen Months. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1976;72(3):418-21.
4. Chard RB, Johnson DC, Nunn GR, et al. Aorta-Coronary Bypass Grafting with Polytetrafluoroethylene Conduits. Early and Late Outcome in Eight Patients. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1987;94(1):132-4.
 5. Van Damme H, Deprez M, Creemers E, et al. Intrinsic Structural Failure of Polyester (Dacron) Vascular Grafts. A General Review. *Acta Chirurgica Belgica*. 2005; 105(3):249-55. doi:10.1080/00015458.2005.11679712
 6. Greisler HP, editor. *New Biologic and Synthetic Vascular Prostheses*. Austin: R.G. Landes Co; 1991.
 7. Abbott WM, Green RM, Matsumoto T, et al. Prosthetic above-knee femoropopliteal bypass grafting: results of a multicenter randomized prospective trial. Above-Knee Femoropopliteal Study Group. *Journal of Vascular Surgery*. 1997;25(1):19-28. doi:10.1016/S0741-5214(97)70317-3
 8. Padera RF, Schoen FJ. Cardiovascular medical devices. In: *Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., et al., editors. Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine*. 2nd ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2004. Pt. II, chr. 7.3. P. 470-93.
 9. Byrom MJ, Ng MK, Bannon PG. Biomechanics and biocompatibility of the perfect conduit-can we build one? *Annals of Cardiothoracic Surgery*. 2013;2(4): 435-43. doi:10.3978/j.issn.2225-319X.2013.05.04
 10. Kalinin RE, Suchkov IA, Korotkova NV, et al. The research of the molecular mechanisms of endothelial dysfunction *in vitro*. *Genes & Cells*. 2019;14(1):22-32. (In Russ). doi:10.23868/201903003
 11. Kalinin RE, Abalenikhina YuV, Pshennikov AS, et al. Interrelation between oxidative carbonylation of proteins and lysosomal proteolysis of plasma in experimentally modelled ischemia and ischemia-reperfusion. *Nauka Molodykh (Eruditio Juvenium)*. 2017;5(3): 338-51. (In Russ). doi:10.23888/HMJ20173338-351
 12. Suchkov IA, Pshennikov AS, Gerasimov AA, et al. Prophylaxis of restenosis in reconstructive surgery of main arteries. *Nauka Molodykh (Eruditio Juvenium)*. 2013;(2):12-9. (In Russ).
 13. Kalinin RE, Suchkov IA, Klimentova EA, et al. Apoptosis in vascular pathology: present and future. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2020;28(1):79-87. (In Russ). doi:10.23888/PAVLOVJ202028179-87
 14. Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, et al. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. *The Journal of Clinical Investigation*. 1997;99(6):1351-60. doi:10.1172/JCI119294
 15. Ren X, Feng Y, Guo J, et al. Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chemical Society Reviews*. 2015;44(15):5680-742. doi:10.1039/c4cs00483c
 16. Adipurnama I, Yang MC, Ciach T, et al. Surface modification and endothelialization of polyurethane for vascular tissue engineering applications: a review. *Biomaterials Science*. 2016;5(1):22-37. doi:10.1039/c6bm00618c
 17. Vig K, Swain K, Mlambo T, et al. Adhesion of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) on PTFE material following surface modification by low temperature plasma treatment. *Physiology*. 2019;33(1):603.3.
 18. Zhou M, Wang WC, Liao YG, et al. *In vitro* biocompatibility evaluation of silk-fibroin/polyurethane membrane with cultivation of HUVECs. *Frontiers of Materials Science*. 2014;8:63-71. doi:10.1007/s11706-014-0230-3
 19. Shtanskiy DV, Glushankova NA, Kiryukhantsev-Korneyev FV, et al. Sravnitel'noye issledovaniye struktury i tsitotoksichnosti politetrafluoretilena posle ionnogo travleniya i ionnoy implantatsii. *Fizika Tverdogo Tela*. 2011;53(3):593-7. (In Russ).
 20. Baydamshina DR, Trizna EY, Holyavka MG, et al. Assessment of genotoxicity and cytotoxicity for preparations of the trypsin immobilized on chitozan matrix. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry, Biology, Pharmacy*. 2016;(3):53-7. (In Russ).
 21. Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG, et al. Culture of Human Endothelial Cells Derived from Umbilical Veins. Identification by Morphologic and Immunologic Criteria. *The Journal of Clinical Investigation*. 1973;52(11): 2745-56. doi:10.1172/JCI107470
 22. Aslantürk ÖS. *In Vitro* Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. In: *Genotoxicity – A Predictable Risk to Our Actual World*. 2018. Available at: <https://cdn.intechopen.com/pdfs/57717.pdf>. Accessed: 2020 May 21. doi:10.5772/intechopen.71923
 23. Albulescu R, Popa A-C, Enciu A-M, et al. Comprehensive *In Vitro* Testing of Calcium Phosphate-Based Bioceramics with Orthopedic and Dentistry Applications. *Materials*. 2019;12(22):3704. doi:10.3390/ma12223704
 24. Emch O, Cavicchia J, Dasi P, et al. Hemocompatibility of Various Heart Valve Materials. In: *Society for Biomaterials. Annual Meeting and Exposition. Pioneering the Future of Biomaterials. Transactions of the 38th Annual Meeting*. 2014. Vol. XXXVI. Art. 28. Available at: <http://abstracts.biomaterials.org/data/papers/2014/0332-000967.pdf>. Accessed: 2020 May 21.

Дополнительная информация [Additional Info]

Источник финансирования: ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России. [Financing of study. Ryazan State Medical University.]

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить в связи с публикацией данной статьи. [Conflict of interests. The authors declare no actual and potential conflict of interests which should be stated in connection with publication of the article.]

Участие авторов. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А. – концепция и дизайн исследования, редактирование, Мжаванадзе Н.Д., Короткова Н.В. – дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, редактирование, Суров И.Ю., Иванова П.Ю., Боженова А.Д., Стрельникова Е.А. – сбор и обработка материала. [Participation of authors. R.E. Kalinin, I.A. Suchkov, A.A. Nikiforov – concept and design of the study, editing, N.D. Mzhavanadze, N.V. Korotkova – design of the study, data acquisition and processing, statistical processing, copywriting, I.Yu. Surov, P.Yu. Ivanova, A.D. Bozhonova, E.A. Strelnikova – data acquisition and processing.]

Информация об авторах [Authors Info]

Калинин Роман Евгеньевич – д.м.н., профессор, зав. кафедрой сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Roman E. Kalinin – MD, PhD, Professor, Head of the Department of Cardiovascular, Endovascular, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

SPIN: 5009-2318, ORCID ID: 0000-0002-0817-9573, Researcher ID: M-1554-2016.

Сучков Игорь Александрович – д.м.н., профессор, профессор кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Igor A. Suchkov – MD, PhD, Professor, Professor of the Department of Cardiovascular, Endovascular, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

SPIN: 6473-8662, ORCID ID: 0000-0002-1292-5452, Researcher ID: M-1180-2016.

***Мжаванадзе Нина Джансугуевна** – к.м.н., доцент кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии; с.н.с. ЦНИЛ, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Nina D. Mzhavanadze – MD, PhD, Associate Professor of the Department of Cardiovascular, Endovascular, Operative Surgery and Topographic Anatomy; Senior Researcher at the Central Research Laboratory, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

SPIN: 7757-8854, ORCID ID: 0000-0001-5437-1112, Researcher ID: M-1732-2016. E-mail: nina_mzhavanadze@mail.ru

Короткова Наталья Васильевна – к.м.н., доцент кафедры биологической химии с курсом клинико-лабораторной диагностики факультета дополнительного постдипломного образования; с.н.с. ЦНИЛ, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Natalya V. Korotkova – MD, PhD, Associate Professor of the Department of Biochemical Chemistry with Clinical Laboratory Diagnostics Course of the Faculty of Additional Professional Education; Senior Researcher at the Central Research Laboratory, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

SPIN: 3651-3813, ORCID ID: 0000-0001-7974-2450, Researcher ID: I-8028-2018.

Никифоров Александр Алексеевич – к.м.н., доцент, зав. ЦНИЛ, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Aleksandr A. Nikiforov – MD, PhD, Associate Professor, Head of the Central Research Laboratory, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

SPIN: 8713-0596, ORCID ID: 0000-0002-7364-7687.

Суров Иван Юрьевич – студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Ivan Yu. Surov – Student of the General Medicine Faculty, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

SPIN: 1489-7481, ORCID ID: 0000-0002-0794-4544.

Иванова Полина Юрьевна – студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Polina Yu. Ivanova – Student of the General Medicine Faculty, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

ORCID ID: 0000-0001-6943-0277.

Боженова Анастасия Дмитриевна – студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Anastasiya D. Bozhonova – Student of the General Medicine Faculty, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

ORCID ID: 0000-0002-2790-0303.

Стрельникова Екатерина Андреевна – студент медико-профилактического факультета; лаборант ЦНИЛ, ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Россия. [Ekaterina A. Strelnikova – Student of the Preventive Health Faculty; Laboratory Assistant in the Central Research Laboratory, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia.]

ORCID ID: 0000-0002-3370-1095.

Цитировать: Калинин Р.Е., Сучков И.А., Мжаванадзе Н.Д., Короткова Н.В., Никифоров А.А., Суров И.Ю., Иванова П.Ю., Боженова А.Д., Стрельникова Е.А. Сравнение цитотоксичности синтетических сосудистых протезов *in vitro* // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2020. Т. 28, №2. С. 183-192. doi:10.23888/PAVLOVJ2020282183-192

To cite this article: Kalinin RE, Suchkov IA, Mzhavanadze ND, Korotkova NV, Nikiforov AA, Surov IYu, Ivanova PYu, Bozhonova AD, Strelnikova EA. Comparison of cytotoxicity of vascular prostheses *in vitro*. I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald. 2020;28(2):183-92. doi:10.23888/PAVLOVJ2020282183-192

Поступила/Received: 21.05.2020
Принята в печать/Accepted: 01.06.2020