

Материалы и технологии изготовления перспективных сердечно-сосудистых имплантов

Лактионов П.П.^{1, 2*}, Степанова А.О.^{1, 2}, Назаркина Ж.К.¹, Челобанов Б.П.¹, Кузьмин И.Е.¹, Мурашев И.С.², Осипова О.С.², Гостев А.А.², Карпенко А.А.², Черноносова В.С.^{1, 2}

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, Россия

* lakt@niboch.nsc.ru

Ключевые слова: атеросклероз; реканализация артерий; материалы для сердечно-сосудистой хирургии; электроспиннинг; полиуретаны

Мотивация и цель: Распространенность, прогрессирующее течение атеросклероза и сопутствующего сахарного диабета в последние десятилетия приводят к росту окклюзионных поражений коронарных и периферических артерий малого диаметра (до 6 мм). Их распространенность в общей популяции составляет от 3 до 10 % и возрастает до 20 % у людей старше 70 лет [1]. Заболевания периферических артерий оказывают существенное влияние на качество жизни больных и при прогрессировании являются основной причиной их инвалидизации и смертности. В связи с этим разработка новых материалов для сердечно-сосудистой хирургии (ССХ), которые позволили бы повысить эффективность хирургических процедур является актуальной задачей.

Наилучшим материалом для протезирования сосудов являются аутовены, проходимость которых в кратковременной и длительной перспективе превосходит таковую у синтетических протезов сосудов (ПС) и у эндоваскулярных технологий реканализации артерий [2]. Однако пригодные для хирургии аутовенозные трансплантаты доступны не более, чем у 20 % больных, а децеллюляризованные ксеногенные ПС, синтетические ПС, изготовленные из экспандированного политетрафторэтилена (эПТФЭ) или полиэтилентерефталата недостаточно эффективны, поскольку склонны к формированию аневризм, обширной неоинтимы, и имеют высокую частоту рестенозов и тромбозов [3]. Для того чтобы обеспечить долговременную состоятельность ПС, материалы, используемые для изготовления ПС и иных изделий для ССХ должны обладать достаточной механической прочностью, близкой к аналогу эластичностью/податливостью, биостабильностью, то есть способностью длительное время сохранять прочность после имплантации (рис. 1).

Кроме того, ПС должны выдерживать долговременную периодическую нагрузку без деформации и остаточного удлинения (аневризмы). Подходы, которые используются для повышения гемосовместимости, в кратковременной и долговременной перспективе, а также биосовместимости, необходимым требованием которой является способность поддерживать формирование однослойного непрерывного и не активированного эндотелия, минимизировать воспаление, гиперплазию рубцовой ткани (неоинтима, парапротезная капсула), представлены на рис. 2.

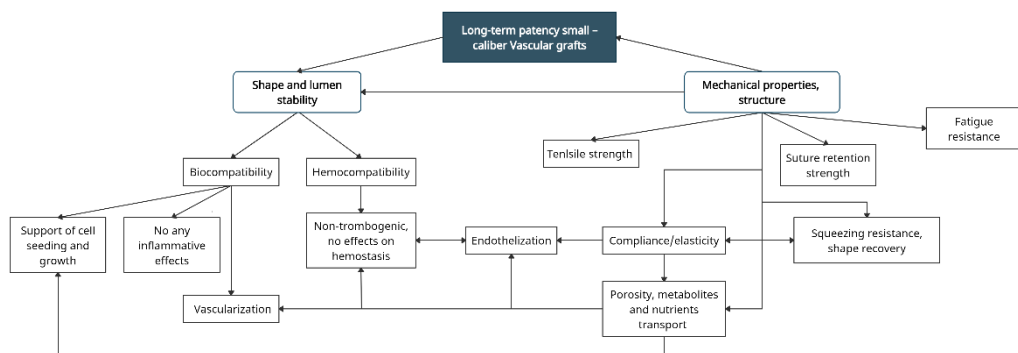


Рис. 1. Факторы, влияющие на долговременную состоятельность ПС

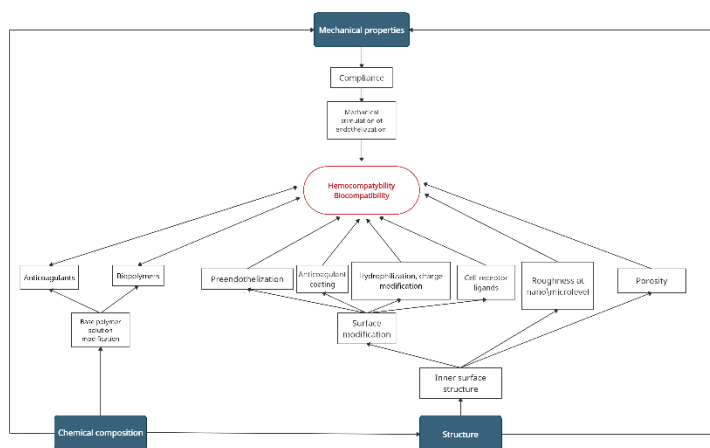


Рис. 2. Факторы и подходы повышения гемо- и биосовместимости ПС

Методы и алгоритмы: Для того чтобы изготовить такие изделия были использованы разные подходы, основанные как на использовании изделий из аллогенных (аутологических) клеток, так и на изготовлении изделий из синтетических биodeградируемых, биостабильных (полигидроксиалконаты, полидиоксаноны, полигидроксисебокаты и т. д., более стабильных полимеров типа поликапролактона, еще более стабильных полиуретанов (ПУ), полисиликаты и гетерополимеры на их основе [4] или природных полимеров, их смесей, а также комбинаций клеточных технологий с заселяемыми полимерными конструкциями (рис. 3). Кроме технологии получения экспандированного ПТФЭ (эПТФЭ), который широко используется для изготовления изделий для ССХ, описано использование таких технологий как разделение фаз, вакуумная сушка, полимеризация гидрогелей, электроспиннинг (ЭС), разные варианты модификации поверхности изделий.

Мы исследовали ПС, изготовленные методом ЭС из белок-наполненных ПУ и стенты с лекарственно-наполненным покрытием, нанесенным методом ЭС в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Для покрытий стентов были использованы скэффолды на основе поликапролактона, с введенным в состав волокна паклитакселем или сиролимусом. ПС были изготовлены из полиэфирного (простой эфир) алифатического ПУ Tecoflex 80A, полиэфирного (простой эфир) ароматического ПУ Pellethane 2363-80A, полиэфирного (сложный эфир)

алифатического ПУ Tescothane TT-1074A, поликарбонатного алифатического ПУ Carbothane PC-3575A.

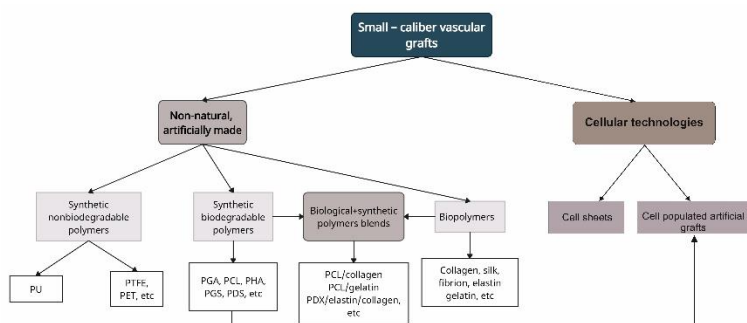


Рис. 3. Биологические, синтетические и комбинированные ПС

Результаты: На медицинском рынке уже представлены ПС, предназначенные для доступа при гемодиализе и изготовленные ЭС из полиуретанов от таких компаний как Nicast Ltd. (Израиль, протез AVflo™), Bard Inc. (США, протез VECTRA®) и Dialybrid S.r.l., (Италия, протез Silkothane®), а также изготовленные аналогичным образом стенты с покрытиями PK Papyrus, (BIOTRONIK SE & Co. KG, Германия). Компания Numacyte Inc. (США) предложила изготавливать ПС на основе аутологичных клеток (изначально ГМК, потом ИПС) культивируемых на биodeградируемом матриксе в биореакторе [5]. В настоящее время такие ПС находятся на последней стадии клинических испытаний, хотя и не демонстрируют выдающихся показателей (проходимость 58 % через 5 лет).

Для изготовления лекарственно-наполненных покрытий стентов были подобраны составы растворов для ЭС, обеспечивающие хорошую гемо- и биосовместимость скэффолдов и условия упаковки лекарств в скэффолды с длительной, двухфазной доставкой препаратов. В экспериментах *in vivo* было показано, что стенты с лекарственным покрытием обладают очевидным преимуществом перед непокрытыми стентами [6, 7].

Был отработан состав внутреннего слоя ПС, который демонстрировал хорошую гемо- и биосовместимость (эти показатели не сильно отличались между разными типами ПУ). Показано, что наименее стабильный Tescoflex 80A в составе ПС практически не деградирует спустя 6 мес после имплантации в брюшную аорту крыс. Исследуемые ПС на основе ПУ значительно превосходят ПС из эПТФЭ по толщине неоинтимы, индукции воспаления и удобству установки. Исследовано влияние стерилизации на стабильность ПУ и подобраны оптимальные условия стерилизации изделий, а также разработано оборудование и технология для мелкосерийного изготовления ПС диаметром от 2 до 7 мм и длиной до 60 см [8–13].

Выводы: Литературные данные и результаты наших исследований свидетельствуют о высокой эффективности ПС и покрытий стентов, изготовленных ЭС из белок-наполненных полимеров. Полученные данные позволяют рекомендовать стенты с лекарственно-наполненным покрытием и ПС из белок-наполненного ПУ для доклинических и клинических испытаний.

Финансирование: Исследование поддержано финансированием ИХБФМ СО РАН по ГЗ № 121031300042-1 и частично из средств НМИЦ им. Е.Н. Мешалкина, ГЗ 121032300337-5.

Materials and technologies for manufacturing of the next generation cardiovascular implants

Laktionov P.P.^{1, 2*}, Stepanova A.O.^{1, 2}, Nazarkina Zh.K.¹, Chelobanov B.P.¹, Kuzmin I.E.¹, Murashev I.S.², Osipova O.S.², Gostev A.A.², Karpenko A.A.², Chernonosova V.S.^{1, 2}

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² National Medical Research Center named after Academician E.N. Meshalkina, Novosibirsk, Russia

* lakt@niboch.nsc.ru

Key words: atherosclerosis; recanalization of arteries; materials for cardiovascular surgery; electrospinning; polyurethanes

Motivation and Aim: The prevalence and progressive course of atherosclerosis and concomitant diabetes mellitus in recent decades have led to an increase in occlusive lesions of coronary and peripheral small diameter arteries (up to 6 mm). Their prevalence ranges from 3 to 10 %, and increases to 20 % in people over 70 years [1]. Peripheral arterial diseases have a significant impact on the quality of life and the main cause of patient's disability and mortality. In this regard, the development of new materials for cardiovascular surgery (CVS), which would improve the efficiency of surgical procedures, is an urgent task.

The best material for vascular prosthetics are patient's own veins, the patency of which in the short and long term is superior to that of synthetic vascular grafts (VG) and endovascular technologies for arterial recanalization [2]. However, autovenous grafts suitable for surgery are available in no more than 20 % of patients. Decellularized xenogeneic VG, synthetic VG made from expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) or polyethylene terephthalate are not effective enough, since they are prone to the formation of aneurysms, extensive neointima, and have a high incidence of restenosis and thrombosis [3]. In order to ensure the long-term patency of VG, the materials used for manufacture of VG and other devices for the CVS must have sufficient mechanical strength, elasticity/compliance close to the analogue, biostability, i.e. the ability to maintain strength for a long time after implantation (Fig. 1).

In addition, VG must withstand long-term pulsing load without deformation and residual elongation (aneurysm). Approaches that are used to increase hemocompatibility, in the short and long term, as well as biocompatibility, the necessary requirement of which is the ability to maintain the formation of a single-layer continuous and non-activated endothelium, minimize inflammation, hyperplasia of scar tissue (neointima, paraprosthesis capsule), are presented in Fig. 2.

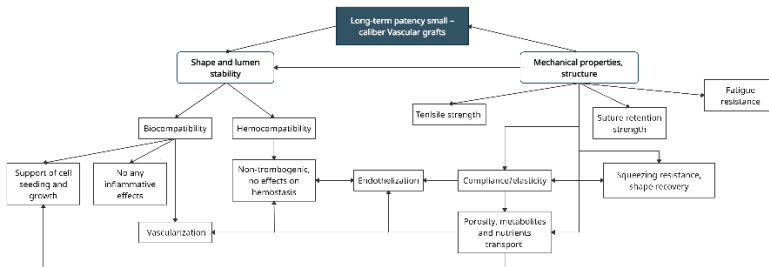


Fig. 1. Factors influencing the long-term viability of the VG

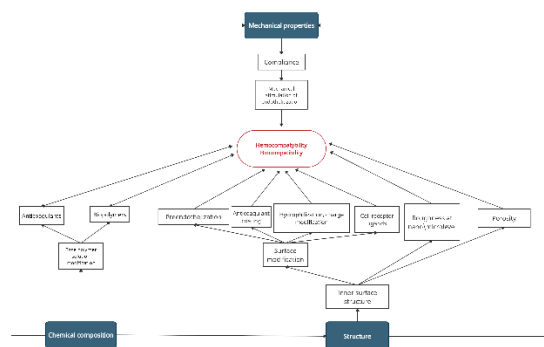


Fig. 2. Factors and approaches to increase hemo- and biocompatibility of VG

Methods and Algorithms: In order to produce such products, different approaches were used, based both on the use of products from allogeneic (autologous) cells, and on the manufacture of products from synthetic biodegradable, biostable (polyhydroxyalconates, polydioxanones, polyhydroxysebacates, etc., more stable polymers such as polycaprolactone, even more stable PU, polysilicates and heteropolymers based on them) [4] or natural polymers, their mixtures, as well as combinations of cellular technologies and synthetic scaffolds (Fig. 3). In addition to the technology for producing expanded PTFE (ePTFE), which is widely used for the manufacture of products for dry drying, the use of technologies such as phase separation, vacuum drying, polymerization of hydrogels, electrospinning (ES), and various options for modifying the surface of products is described.

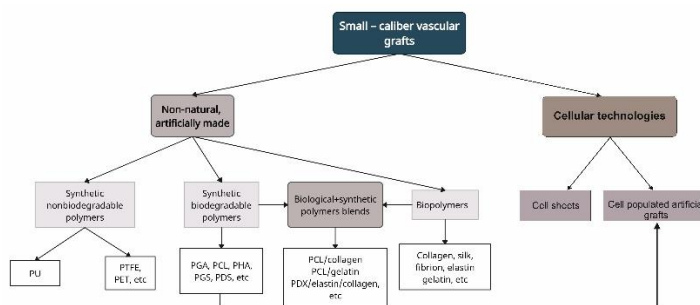


Fig. 3. Biological, synthetic and combined VG

We studied VGs manufactured by the ES method from protein-filled PUs and drug-loaded stents coated by the ES *in vitro* and *in vivo*. For stent coatings, scaffolds based on polycaprolactone were used, with paclitaxel or sirolimus incorporated into the fibers. The VGs were made from polyester (ether) aliphatic PU Tecoflex 80A, polyester (ether) aromatic PU Pellethane 2363-80A, polyester (ester) aliphatic PU Tecothane TT-1074A, polycarbonate aliphatic PU Carbothane PC-3575A.

Results: The medical market already offers VG intended for hemodialysis access and produced by ES from polyurethanes from Nicast Ltd. (Israel, AVflo™ prosthesis), Bard Inc. (USA, VECTRA® prosthesis) and Diallybrid S.r.l. (Italy, Silkothane® prosthesis), as well as similarly manufactured covered stents PK Papirus (BIOTRONIK SE & Co. KG, Germany). Humacyte Inc. (USA) proposed producing VG based on autologous cells

(initially SMCs, then iPS) cultured on a biodegradable scaffold in a bioreactor [5]. Currently, such VG are at the last stage of clinical trial, although they do not demonstrate outstanding performance (patency rate 58 % after 5 years).

To produce drug-loaded stent coatings, compositions of solutions for ES were selected to ensure good hemo- and biocompatibility of scaffolds and conditions for packaging drugs into scaffolds in order to ensure long-term, two-phase delivery of drugs. *In vivo* experiments have shown that drug-eluting stents have a clear advantage over bare stents [6, 7].

The composition of the inner layer of VGs was developed, which demonstrated good hemo- and biocompatibility (these indicators did not differ much between types of PU), it was shown that the least stable Tecoflex 80A practically does not degrade 6 months after VG implantation into the abdominal aorta of rats, all PU-based VG options are significantly superior to ePTFE VG in terms of neointimal thickness, inflammation induction, and ease of installation. The effect of sterilization on the stability of PU was studied and optimal conditions for VG sterilization were selected. Equipment and technology were developed for small-scale production of PU with a diameter of 2 to 7 mm and a length of up to 60 cm [8–13].

Conclusion: Published data and our own research data demonstrate the high efficiency of VG and stent coatings made by ES from protein-enriched polymers. The data obtained allow us to recommend drug-eluting stents and VG made from protein-enriched PU for preclinical and clinical trials.

Funding: The study was supported by funding from ICHBFM SB RAN 121031300042-1 and partially from the funds of the NM Research Center named after E.N. Meshalkin 121032300337-5.

Список литературы/References

- 1 Nehler M.R. et al. Epidemiology of peripheral arterial disease and critical limb ischemia in an insured national population. *J Vasc Surg.* 2014;60:686-695
- 2 Farber A. et.al. Surgery or endovascular therapy for chronic limb-threatening ischemia. *N Engl J Med.* 2022;387(25):2305-2316
- 3 Carrabba M., Madeddu P. Current strategies for the manufacture of small size tissue engineering vascular grafts. *Front Bioeng Biotechnol.* 2018;6:41. doi 10.3389/fbioe.2018.00041
- 4 Osipova O. et al. Potential of biodegradable synthetic polymers for use in small-diameter vessel engineering. *Macromol Res.* 2022;30:425-437
- 5 Kristofik N.J. et al. Improving *in vivo* outcomes of decellularized vascular grafts via incorporation of a novel extracellular matrix. *Biomaterials.* 2017;141:63-73
- 6 Kuznetsov K.A. et al. Vascular stents coated with electrospun drug-eluting material: functioning in rabbit iliac artery. *Polymers.* 2020;12(8):1741
- 7 Nazarkina Zh.K. et al. Sirolimus-eluting electrospun-produced matrices as coatings for vascular stents: dependence of drug release on matrix structure and composition of the external environment. *Materials.* 2020;13(12):2692
- 8 Chernonosova V.S. et al. Mechanical properties and biological behavior of 3D matrices produced by electrospinning from protein-enriched polyurethane. *Biomed Res Int.* 2018;2018:1380606
- 9 Chernonosova V.S. et al. Study of hemocompatibility and endothelial cell interaction of Tecoflex-based electrospun vascular grafts. *Intern J Polym Materials.* 2018;68(1-3):34-43. doi 10.1080/00914037.2018.1525721
- 10 Gostev A.A. et al. Electrospun polyurethane-based vascular grafts: physicochemical properties and functioning *in vivo*. *Biomed Mater.* 2019;15:015010
- 11 Gostev A.A. et al. *In vivo* stability of polyurethane-based electrospun vascular grafts in terms of chemistry and mechanics. *Polymers.* 2020;12:845
- 12 Chernonosova V.S. et al. Assessment of electrospun pellethane-based scaffolds for vascular tissue engineering. *Materials.* 2021;14(13):3678
- 13 Kuzmin I.E. et al. Method for manufacturing of small diameter vascular grafts. Russian patent № 2805590, date of priority 20.04.2023