

DOI: 10.52727/2078-256X-2025-21-2-180-203

Роль полисахаридных полимеров в регуляции ангиогенеза и атерогенного воспаления в сосудистой стенке. Обзор литературы. Часть 2

И.Н. Большаков, Д.В. Шиндякин, А.К. Кириченко, В.А. Бахшян, С.В. Архипкин

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
Министерства здравоохранения Российской Федерации»*

Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

Аннотация

Цель исследования. Определить терапевтические возможности локальной активации ангиогенеза и деградации атерогенного воспаления при реконструкции слоев артериальной стенки в условиях широкой имплантации полисахаридных полимеров в пара-адвентициальную зону. Концепция аналитического обзора строится на гипотезе улучшения баланса между провоспалительными и атеропротекторными цитокиновыми факторами роста при использовании биополимеров. **Материал и методы.** Анализ литературы указывает на активное прямое вмешательство в реконструкцию адвентициального слоя артериальной стенки с использованием гидрогелей полисахаридного ряда с высоким сродством к холестерину, создаются условия для формирования дополнительного внеклеточного матрикса за пределами интимальной и средней зон магистральной артерии и реверсирования холестериновой массы из интимальной зоны в околоадвентициальное пространство. Создание продуктивного воспаления в зоне адвентиции с помощью биополимеров может быть одним из эффективных способов деградации ранних мягких атерогенных бляшек. Публикации указывают на возможность извлечения мягких атерогенных бляшек из интимального пространства магистральных артерий путем широкой имплантации в фасциальный футляр сосудов полисахаридных гидрогелей с образованием внеклеточного матрикса второго уровня. Анализ литературных источников согласно концепции проводился с использованием баз данных, индексируемых WoS, Scopus, PubMed, DOAJ, Embase, Ei Compendex преимущественно за последние 10 лет. **Результаты.** Литературный обзор позволяет составить современное представление о молекулярных процессах, протекающих в стенке сосуда при развитии атерогенного воспаления в эксперименте на животных, получавших холестериновую диету, указать признаки реконструкции сосудистой стенки при экзогенной имплантации биополимеров. **Заключение.** В сосудистой стенке существует сопряжение цитокиновых факторов роста с природными или синтетическими биоматериалами. Имобилизованные факторы будут доступны для клеток, которые вступают в контакт с матрицей, обеспечивая высоколокализованный сигнал для контроля судьбы клеток. Инъекционные каркасы являются многообещающим подходом для стимулирования ангиогенеза. Клеточная миграция из интимы и меди может быть активирована благодаря электростатическому градиенту в присутствии сульфатированного полимера и приводить к образованию аффинных комплексов с холестерином. Высокая аффинность полисахаридных полимеров к холестерину и ЛПНП, активная васкуляризация дополнительного экстраклеточного матрикса провоцируют градиент трансляции холестерина в сторону гидрогелевой «рубашки». Эффект оттока холестерина может обеспечить новый терапевтический подход к патологии магистральных сосудов.

Ключевые слова: ангиогенез, атерогенез, факторы роста, биополимеры, адвентиция, экстраклеточный матрикс.

Конфликт интересов. Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта № 16-44-240506 Российского фонда фундаментальных исследований, гранта № 2022030908453 Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технологической деятельности, гранта Красноярского краевого инновационно-технологического бизнес-инкубатора, инвестиции компании «Альфа-Хим» (г. Красноярск), компании «Биоимплант» (г. Красноярск) (соглашение № 01/11/П от

11.01.2018) и Центра лабораторных технологий АВС (соглашение № 642-19 от 17.09.2019).

Вклад авторов. Большаков И.Н. — концепция и дизайн исследования, анализ состояния исследований в области ангиогенеза, атерогенеза и биополимеров, написание текста, анализ и интерпретация данных, окончательное одобрение варианта обзора; Шиндякин Д.В. — анализ мировой литературы, дизайн исследования, подготовка рисунков схем, критический пересмотр текста; Кириченко А.К. — анализ, критический пересмотр и описание морфологического материала, метрические измерения, интерпретация данных; Бахшян В.А. — сбор литературных источников информации, их анализ, профессиональный перевод на английский язык; Архипкин С.В. — сбор литературных источников информации, их анализ, компьютерный дизайн обзорной статьи, написание отдельных разделов обзора.

Благодарности. Авторы благодарят Хоржевского Владимира Алексеевича, руководителя патолого-анатомического отдела Красноярского клинического онкологического центра им. А.И. Крыжановского, за консультации по забору экспериментального морфологического материала, изготовление гистологических срезов тканей, за консультации по анализу морфологических структур.

Заявление институционального наблюдательного совета. Морфологический материал от экспериментальных животных с холестериновой диетой был получен в 2017 году, протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» (код протокола № 6, дата одобрения 02/2017).

Автор для переписки: Большаков И.Н., e-mail: bol.bol@mail.ru

Для цитирования: Большаков И.Н., Шиндякин Д.В., Кириченко А.К., Бахшян В.А., Архипкин С.В. Роль полисахаридных полимеров в регуляции ангиогенеза и атерогенного воспаления в сосудистой стенке. Обзор литературы. Часть 2. *Атеросклероз*, 2025; 21 (2): 180–203. doi: 10.52727/2078-256X2025-21-2-180-203

The role of polysaccharide polymers in the regulation of angiogenesis and atherogenic inflammation in the vascular wall. Literature review. Part 2

I.N. Bolshakov, D.V. Shindyakin, A.K. Kirichenko, V.A. Bahshyan, S.V. Arkhipkin

*Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F.Voino-Yasenetsky
of Ministry of Health of Russian Federation
1, Partizana Zheleznyaka st., Krasnoyarsk, 660022, Russia*

Abstract

The aim of the study. To determine the therapeutic possibilities of local activation of angiogenesis and degradation of atherogenic inflammation during reconstruction of arterial wall layers under conditions of wide implantation of polysaccharide polymers in the para-adventitial zone. The concept of the analytical review is based on the hypothesis of improving the balance between pro-inflammatory and atheroprotective cytokine growth factors when using biopolymers. **Materials and methods.** The analysis of the literature indicates an active direct intervention in the reconstruction of the adventitial layer of the arterial wall using polysaccharide hydrogels with a high affinity for cholesterol, conditions are created for the formation of an additional extracellular matrix outside the intimal and middle zones of the main artery and the reversal of the cholesterol mass from the intimal zone to the para-adventitial space. The creation of productive inflammation in the adventitial zone using biopolymers can be one of the effective ways to degrade early soft atherogenic plaques. Publications indicate the possibility of extracting soft atherogenic plaques from the intimal space of major arteries by wide implantation of polysaccharide hydrogels into the fascial sheath of vessels with the formation of a second-level extracellular matrix. The analysis of literary sources according to the concept was carried out using databases indexed by WoS, Scopus, PubMed, DOAJ, Embase, Ei Compendex mainly for the last 10 years. **Results.** The literature review allows us to form a modern understanding of the molecular processes occurring in the vessel wall during the development of atherogenic inflammation in an experiment on animals receiving a cholesterol diet, to indicate signs of vascular wall reconstruction with exogenous implantation of biopolymers. **Conclusions.** In the vascular wall, there is a conjugation of cytokine growth factors with natural or synthetic biomaterials. Immobilized factors will be available to cells that come into contact with the matrix, providing a highly localized signal to control cell fate. Injectable scaffolds are a promising approach for stimulating angiogenesis. Cell migration from the

intima and media can be activated by an electrostatic gradient in the presence of a sulfated polymer and lead to the formation of affinity complexes with cholesterol. The high affinity of polysaccharide polymers for cholesterol and LDL, active vascularization of the additional extracellular matrix provoke a gradient of cholesterol translation towards the hydrogel "shirt". The effect of cholesterol outflow can provide a new therapeutic approach to the pathology of the main vessels.

Keywords: angiogenesis, atherogenesis, growth factors, biopolymers, adventitia, extracellular matrix

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest

Funding. The work was supported by grant No. 16-44-240506 from the Russian Foundation for Basic Research, grant No. 2022030908453 from the Krasnoyarsk Regional Fund for Support of Scientific and Scientific and Technical Activities, grant from the Krasnoyarsk Regional Innovative and Technological Business Incubator, and investments from AlfaChem company (Krasnoyarsk), Bioimplant company (Krasnoyarsk) (agreement No. 01/11/P from 11.01.2018), and Center for Laboratory Technologies ABC (agreement No. 642-19 from 17.09.2019).

Contribution of the authors. Bolshakov I.N. – study concept and design, analysis of the state of research in the field of angiogenesis, atherogenesis and biopolymers, writing the text, data analysis and interpretation, final approval of the review version; Shindyakin D.V. – analysis of world literature, study design, preparation of diagrams, critical revision of the text; Kirichenko A.K. – analysis, critical revision and description of the morphological material, metric measurements, data interpretation; Bakhshchyan V.A. – collection of literary sources of information, their analysis, professional translation in English; Arkhipkin S.V. – collection of literary sources of information, their analysis, computer design of the review article, writing individual sections of the review.

Acknowledgments. The authors thank Vladimir Alekseevich Khorzhevskii, head of the pathological anatomy department of the Krasnoyarsk Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovsky, for consultations on collecting experimental morphological material, preparing histological tissue sections, and for consultations on the morphological structures analysis.

Statement of the institutional review board. Morphological material from experimental animals with a cholesterol diet was obtained in 2017, the study protocol was approved by the ethics committee of the Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky (protocol code No. 6, approval date 02/2017).

Correspondence: Bolshakov I.N., e-mail: bol.bol@mail.ru

Citation: Bolshakov I.N., Shindyakin D.V., Kirichenko A.K., Bahshyan V.A., Arkhipkin S.V. The role of polysaccharide polymers in the regulation of angiogenesis and atherogenic inflammation in the vascular wall. Literature review. Part 2. *Atherosclerosis*, 2025; 21 (2): 180–203. doi: 10.52727/2078-256X-2024-21-2-180-203

Введение

Получение и использование современных технологий систем доставки регуляторных протеинов в сосудистую стенку при атерогенном воспалении указывает на возможность извлечения холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и ее окисленной фракции (ОкЛПНП) из мягких атерогенных бляшек. Процесс дехолестеринизации слоев артерии, несмотря на состоянии гиперлипидемии, затрагивает как свободно транслирующие липидные фракции в интима и меди, так и деструктивные макрофаги и гладкомышечные клетки, наполненные ОкЛПНП. Процесс всегда двухсторонний: прогрессирование бляшкообразования и разрушение бляшки [1]. Дехолестеринизация стенки магистрального сосуда и удаление тканевого детрита сопровождаются локальной деградацией мягких бляшек в интима и ремоделированием стенки, трансляцией атерогенных

липидов и клеток в позицию адвентиции при активном участии макрофагов [2]. Такое дренирование приводит к реконструкции интимы и меди, близкой к нормальному строению, восстанавливает параметры перфузии крови в определенном секторе сосуда [3]. При этом контроль регуляторных пептидов класса цитокинов является весьма важной целью исследования. Такой контроль в определенном секторе сосудистой стенки позволит анализировать ангиогенный эффект и возможность разобщения механизмов атерогенеза и ангиогенеза. Использование для этой цели полисахаридных полимеров, аффинных к холестерину ЛПНП, в качестве несущей матрицы для факторов роста и стационарных белков экстраклеточного матрикса (ЭКМ), а также пустых матриц как самостоятельных систем с уникальными биологическими свойствами, формирует будущие возможности терапии заболеваний периферических артерий на ранних стадиях развития. При накоплении липи-

дов в артериальной стенке макрофаги играют не только роль в прогрессировании атеросклеротического поражения, но и в регрессии воспаления. Эти гетерогенные фагоциты способны выполнять универсальные функции в норме и воспалительном процессе. Нацеливание на макрофаги часто выделяется как терапевтический подход при атерогенезе. В связи с этим стратегии терапевтического вмешательства при атеросклерозе могут быть направлены на попытки уменьшить локальную пролиферацию провоспалительных подгрупп макрофагов и улучшить разрешение воспаления [4].

Современные исследования регуляции атерогенного воспаления направлены на получение и испытание в эксперименте на животных моделях искусственных матриц, близких по своим свойствам к природному ЭКМ, содержащих коктейль атеропротекторных факторов роста, а также выращенные готовые сосудистые сети. Очередные задачи состоят в создании технологий доставки ангиогенных матриц к широкому сектору сосудов любой локализации с временной программой деградации бляшек и сохранения высокой активности включенных в матрицу терапевтических средств или протеинов [5]. Возможность подведения гидрогелевых матриц непосредственно к наружному слою магистральных артериальных и венозных сосудов, включая периваскулярную жировую ткань и адвентицию, открывает возможности управления процессом атерогенного воспаления [6]. Анализ литературных источников согласно концепции проводился с использованием баз данных в открытом доступе, индексируемых WoS, Scopus, PubMed, Medline, DOAJ, Embase, Ei Compendex преимущественно за последние 10 лет с расширением поиска по рекомендуемым цитируемым последним публикациям с использованием следующих ключевых слов: атеросклероз, атерогенное воспаление, полисахаридные биополимеры, ангиогенез, сосудистая стенка, атерогенные и атеропротекторные факторы роста, экстраклеточный матрикс.

Роль факторов роста в регуляции атерогенного воспаления при использовании природных полисахаридов

Блокирование трансляции по различным причинам, например, дренирующей функции макрофагов в ЭКМ всегда является предвестником воспаления [7]. Дифференцировка моноцитов в провоспалительные макрофаги M1 с заменой резидентных макрофагов сопровождается секрецией высоких уровней провоспалительных цитокинов IL-6, TNF α и IL-1 β . Макрофаги M1

дренируют некротические осколки клеток посредством фагоцитоза. Это влечет за собой разрушение ЕСМ гидролитическими ферментами, например, с помощью MMP. Длительная активация макрофагов приводит к непрерывной секреции факторов роста, провоспалительных цитокинов и MMP. Поляризация макрофагов до фенотипа M2 означает секрецию высоких уровней противовоспалительного цитокина IL-10 и фактора роста TGF β . Трансляция макрофагов M2 вызывают дифференциацию фибробластов в миофибробласты, секретирующие компоненты ЕСМ. Этот процесс восстанавливает разрушенные компоненты ЕСМ. Как только приостанавливается инфильтрация M2 макрофагов в сторону атерогенного воспаления, процесс сменяется массовой гибелью резидентных макрофагов с быстрой заменой популяцией инфильтрирующих макрофагов провоспалительного фенотипа M1 и развитием острой воспалительной реакции [8]. Исходя из этого постулата, изменение пути трансляции «пенистых» клеток и холестерина в стенке сосуда может быть достигнуто путем искусственного размещения полисахаридных ингредиентов наноразмеров в периваскулярном пространстве и формирования градиента длительного дренирования метаболитов воспалительной реакции. В зоне так называемого вторичного ЭКМ может быть создан не только дренаж интерстициальной жидкости с помощью периваскулярного лимфатического русла, но и обратный перенос холестерина из бляшек в печень, а также перемещение клеток, содержащих холестерин и ОхЛПНП из внутренних слоев сосуда в сторону адвентиции. Таким образом, появляется научный интерес к раскрытию значения зоны адвентиции в регуляции холестеринного обмена в стенке сосуда.

Малые размеры хитозана способны трансмембранно быстро проникать в интимальную зону и связывать гидрофобные группы свободного кристаллического холестерина из разрушенных «пенистых» клеток, инкапсулируя его в ядро из наночастиц [9]. Такие комплексы становятся водорастворимыми и приобретают способность к трансляции за пределы клеток интимальной зоны сосуда и его среднего слоя [10]. Наряду с указанным механизмом дехолестеринизации имеет место активное освобождение резидуальных клеток от холестерина с формированием обратных трансмембранных потоков холестерина под эндотелиальной оболочкой в составе ядра хитозановой наносистемы. При этом отмечено снижение обратного транспорта холестерина в плазму, печень и фекалии. В то же время внутриклеточная доставка холестерина в макрофаги с помощью хитозановых наночастиц

с участием микроРНК улучшалась по результатам оценки степени оттока холестерина в апополипротеин А1 (ApoA1) [11].

Предполагается, что извлечение из стенки сосуда холестерина должно изменить характер взаимодействия молекулярных маркеров в зоне атеросклеротического поражения сосуда. Дренирующий эффект биополимера снижает воспалительную реакцию и объясняет морфологическую сохранность тканей в зоне дислокации гелевой конструкции, несмотря на непосредственную близость от системного деструктивного процесса [12]. Эта идея нуждается в подтверждении и детальном анализе динамики проатерогенных и антиатерогенных маркеров в экспериментальных животных моделях.

Наличие стационарных белков в ЭКМ и их активное взаимодействие с факторами роста (ФР) при трансляции к клеточной мембране сформировало в исследованиях стратегии изоляции ФР с целью защиты их активности и более эффективного презентирования, значительного снижения дозы ангиогенного белка, необходимого для биологических эффектов [13]. В условиях *in vitro* убедительно показано, адсорбция VEGF на полимерную основу глобулярной формы белка ЭКМ не происходит, а следовательно, нет активной презентации комплекса клеточной мембраны [14].

Использование трехмерных сред в качестве системы доставки и презентации факторов роста клеткам — белков ЭКМ и несущей конструкции в виде полимера — является перспективным направлением. Каркасы, связанные с факторами роста, обычно индуцируют более стабильные сосудистые сети. Высококачественными исследованиями установлено, что многокомпонентная система доставки ангиогенного фактора роста, например, VEGF, состоящая из фибронектина с адсорбированным VEGF и полимера полиэтиленакрилата, способна не только в условиях *in vitro*, но и *in vivo* создавать феномен стимулирования клеток на самом высоком уровне в результате презентации фактора роста в непосредственной близости от сайтов связывания интегринов [14].

Низкая эффективность конечных результатов стимуляции ангиогенеза в клинических условиях, возможно, связана с отсутствием прецизионного пути введения водорастворимой нейтральной или слабощелочной системы переноса. В качестве системы переноса в экспериментальных моделях предлагаются полимерные матрицы [15]. Необходимо предложить альтернативные пространственно-временные стратегии доставки фактора роста в зону ишемии. Наряду с весьма положительными результата-

ми анализа механизмов действия и активации ангиогенеза на экспериментальных животных моделях ишемии недостаточная эффективность использования факторов роста у пациентов в клинике определяет проблемы и ставит задачи их решения. В решение первоочередных задач должна входить модификация системы доставки регуляторных белков через ЭКМ для специфической презентации клеточной поверхности. Наиболее реальным решением могут стать получение и модификация природных биоматериалов с высокой совместимостью с ЭКМ и ФР, которые можно использовать как в комплексе со стационарными белками ЭКМ, так и самостоятельно.

Хитозановые олигосахариды уже при концентрации 5,0 мг/мл способны снижать внутриклеточное накопление липидов на 80 % [16]. Эти результаты подтверждают значительный потенциал олигосахаридов хитозана, что привлекает к исследованиям механизмов ингибирования образования пенистых клеток макрофагов — ключевому этапу формирования атерогенного воспаления. Гидролизированные продукты хитозана, включая олигосахариды [17, 18] и N-ацетилированные олигосахариды, демонстрируют повышенную растворимость в воде по причине более короткой длины цепи, более низкой вязкости и потенциально более высоких скоростей абсорбции [19]. Такие малые молекулы способны защищать предварительно в течение 24 часов обработанные клетки от апоптоза, индуцированного окислительного стресса с помощью H_2O_2 . Кроме того, олигосахариды снижают экспрессию мРНК IL-1 β , IL-6, TNF- α и MCP-1 в стимулированных H_2O_2 клетках [20].

Доставка целевых молекул в составе гидрогелевой матрицы в зону ишемии должна быстро охватывать большой бассейн артериального русла и контактировать с клетками и аффинными структурами в периваскулярной жировой ткани, адвентициальной, средней и интимальной зонах сосудистой стенки. Для детального анализа механизмов действия имплантатов различного происхождения важно использовать животные модели, в которых процесс ишемии развивается постепенно и длительно с постановкой необходимых контрольных серий экспериментов. Использование полимерной системы доставки активных факторов (например, статинов), снижающих уровень холестерина и ЛПНП, показывает высокую атеропротекторную эффективность. На модели прогрессирующих атеросклеротических поражений у LDLr-/- мышей предварительная интернализация макрофагами микрокапсул хитозановых наночастиц через механизм пиноцитоза ослабляла поглощение ЛПНП клетками и

прогрессирование атеросклеротических поражений. Макрофаги демонстрировали сниженную экспрессию IL-1 β , моноцитарного хемоаттрактантного протеина (MCP-1) без влияния на проницаемость сосудов и признаков гемолиза, на индукцию взаимодействия лейкоцитов и эндотелия. Защитный эффект подтверждался уменьшением размеров атеросклеротических поражений со сниженным содержанием липидов в дуге аорты [21].

Проблемы активации ангиогенеза

В экспериментальных и клинических работах по терапевтическому ангиогенезу используется стратегия эндогенной модуляции как эндоангиогенных факторов роста (FGF-1,2 и VEGF165) и их генов (*VEGF165*, *VEGF121*, *VEGF189* и *FGF-5*), так и введение рекомбинантных экзогенных препаратов. Их эффект изучался у пациентов с сосудистой ишемией нижних конечностей, на моделях ишемии задних конечности у мелких и средних грызунов и моделях острой и хронической ишемии миокарда у собак и мини-свиней [22–25]. Практически во всех случаях введение фактора роста или его гена стимулировало развитие коллатералей и новых капилляров без их регрессии после прекращения введения факторов роста. Имеют первостепенное значение эффективность экзогенной загрузки или эндогенной опсонизации ФР, их биоактивность и биодоступность. Физическая форма собственно системы доставки в случае реконструкции сосудистой системы на большой площади должна представлять собой раствор или жидкий гель, способный легко заполнять зону ЭКМ. Например, введение сшивающих гидрогелей (желатин, функционализированный пептидом, полученным из внеклеточного эпитопа кадгерина) в зону ишемии конечности у мышей (перевязка бедренной артерии) способствует ангиогенезу путем привлечения гладкомышечных клеток к структурам сосудов. Такая доставка в течение двух недель была достаточной для восстановления перфузии конечностей, в то время как в контроле у мышей, получавших только желатиновые гидрогели, наблюдались обширный некроз и аутоампутация в течение 7 дней [26]. Если предстоит реконструкция тканей, входящих в обширную зону кровоснабжения, где предел диффузии превышает 200 мкм, то задача создания функциональной сети кровеносных сосудов становится необходимой. При этом исследователи концентрируют свое внимание на получении жидких интеллектуальных гидрогелей с включением в них факторов роста с различной функ-

цией [27], а также наполнении биodeградируемой конструкции с предварительно сформированной сосудистой сетью. Создание таких инъекционных васкуляризованных гидрогелей с улучшенной адаптацией к зоне поражения, достигающих глубоких тканей с минимальной инвазивностью и действующих как носители для ФР и клеток, представляют собой значительный шаг вперед в сфере развития регенеративной медицины. Интеллектуальные гидрогели напоминают природный ЭКМ, их введение облегчает сборку и тубулогенез клеток сосудов [28]. Это особенно важно для крупных тканевых конструкций, где одной диффузии недостаточно. Главная проблема, ограничивающая использование ФР для активации ангиогенеза, состоит в отсутствии условий пролонгированной и стабильно активной элюции белковых молекул в зоне воспаления. Протеолитическая деградация ФР существенно сокращает период их полураспада. Высокие требования к дозировке, нестабильность белка, более высокие затраты и нежелательные побочные эффекты стимулируют исследования на получение множества альтернативных малых молекул как природного, так и синтетического происхождения в качестве альтернативы факторам роста для применения в регенерации тканей. Малые молекулы – это простые биохимические компоненты, которые представляют собой жизнеспособную альтернативу сложным биологическим факторам, способные вызывать реакции посредством сигнальных каскадов. [29, 30]. Быстрая диффузия водорастворимого фактора роста из микросфер или наночастиц может быть преодолена путем включения промежуточной системы переноса в трехмерные жидкие или условно твердые гидрогелевые матрицы. Например, использование инъекционного микрогеля, полученного путем полимеризации полиэтиленгликоля, сшитого пептидом, деградируемым протеазой, обеспечивает дозированное высвобождение белков. Скорость высвобождения белков, ковалентно связанных внутри сети микрогеля, регулировалась путем изменения соотношения устойчивых и не устойчивых к протеолиту сшивающих веществ. При этом высвобождаемые белки (например, VEGF) сохраняли полную биологическую активность в течение двух недель после инъекции, способствовали усилению васкуляризации по сравнению с пустыми микрогелями или болюсной инъекцией VEGF. В другой конструкции при использовании гидрогеля из фибриновых нановолокон, наполненного микросферами поли-(DL-молочной -*co*-гликолевой кислоты (PLGA) с модельным лекарственным средством в виде Конго красного, было доказано,

что композитный гидрогель сохранял по сравнению с контролем мягкие свойства матрицы, а также дозированное высвобождение лекарственного средства. Культивирование мезенхимальных стволовых клеток пуповины человека (HUMSCS) на таком композитном гидрогеле указывало на хорошую биосовместимость матрицы и клеток. Активность VEGF также длительно сохранялась в фосфатно-солевом растворе при его высвобождении [31–33]. При этом привлекательным является простая технология смешивания ФР с полимером перед процессом гелеобразования. Несмотря на низкую стабильность при быстрой инактивации ферментами в физиологических условиях и неконтролируемую элюцию ФР в системе доставки после прямой иммобилизации путем физического синтеза на синтетические полимеры, альбумин, полисахариды, липиды, мезопористые наночастицы на основе кремнезема и другие носители, следует обратить внимание на тщательный выбор основы полимера для системы переноса [34, 35]. Ковалентная иммобилизация ФР при контакте с тканями [36] будет означать деградацию комплекса со скоростью, соответствующей скорости ферментативного или гидролитического расщепления химической связи. При этом ФР могут потерять свою биологическую активность из-за стерических затруднений связывания в результате закрытия активных центров при реакции иммобилизации [37]. Таким образом, дозированное и длительное представление факторов роста клеткам требует включения белков в надежную систему доставки в виде интеллектуальных полимерных матриц с известной характеристикой деградации [15, 38]. При этом включение матриц в реконструируемые ткани означает дополнение к ЭКМ. Каждый ФР имеет различную степень аффинности к природному или синтетическому носителю, что создает управляемость скоростью высвобождения [39, 40]. Например, полисахаридная подложка, состоящая из альгинат-сульфата с включенными в нее VEGF, PDGF-BB и TGF- β 1, способна последовательно высвобождать и доставлять эти ФР согласно константам равновесного связывания факторов с матриксом через гепариноподобный спейсер, аналогично тому, как реализуется их связывание с гепарином. В контрольной серии в альгинатных подложках, лишенных альгинат-сульфата, высвобождение адсорбированных белков происходит мгновенно. Такая интеллектуальная матрица после подкожной имплантации крысам в течение трех месяцев создавала плотность и процент зрелых кровеносных сосудов в 3 раза выше, чем в каркасах, в которых была предусмотрена простая физическая адсорбция

ФР. Известно, что полусинтетический сульфатированный хитозан легко взаимодействует с противовоспалительными макрофагами и увеличивает секрецию эндогенных факторов роста, например, эндотелия сосудов (VEGF) и, таким образом, индуцирует ангиогенез через свой рецептор при ишемии (VEGF-VEGFR2) [41]. Это заключение указывает на то, что, сульфатированная группа играет важную роль в управлении терапевтическим ангиогенезом, этот высокоактивный биоматериал может быть использован для лечения ишемической болезни. При включении в сульфатированную матрицу многих факторов роста, в том числе основного фактора роста фибробластов (bFGF) система переноса с помощью полимера и последующая васкуляризация в каркасах была выше, чем в нессульфатированных образцах матрицы [42]. Применение такого каркаса может быть расширено до комбинированной доставки дополнительных гепаринсвязывающих ангиогенных факторов. Такие гепаринсвязывающие белки, как факторы роста и хемокины: фактор роста, полученный из тромбоцитов (PDGF-BB), основной фактор роста фибробластов (bFGF, basic fibroblast growth factor), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF, vascular endothelial growth factor), кислый фактор роста фибробластов (aFGF, acidic fibroblast growth factor), интерлейкин-6 (IL-6, interleukin-6), тромбопоэтин (TPO, thrombopoietin), фактор, полученный из стромальных клеток-1 (SDF-1, stromal cell-derived factor), фактор роста гепатоцитов (HGF, hepatocyte growth factor), эпидермальный фактор роста (EGF, epidermal growth factor), инсулиноподобный фактор роста (IGF, insulin-like growth factor), показали специфическое связывание с сульфатированным альгинатом и сульфатированной гиалуроновой кислотой (ГК). Сульфатирование уроновых кислот в нессульфатированных полисахаридах обеспечивает специфическое и сильное связывание гепаринсвязывающих белков. Специфическое связывание с гепарином и сульфатированными комплексами стабилизирует и защищает факторы роста от денатурации и протеолитической деградации. Известно, что продолжительная доставка, например, bFGF в связанном виде с альгинатно-сульфатным каркасом усиливала его ангиогенную активность по сравнению с контролем, когда доставка осуществлялась в неспецифически адсорбированном виде [43, 44].

В таких условиях эксперимента низкие дозы фактора роста могут быть очень эффективными. Решение этой проблемы будет являться основной целью получения высокой активности локального ангиогенеза. Такой подход может

решить и проблему токсичности ФР или их ингибиторов при условии применения высоких доз белка [45].

Эффекты эндотелизации полисахаридных матриц при атеросклерозе

В исследовательских лабораториях идет поиск природных материалов и их комбинаций, гибридных материалов, которые способны вызывать самосборку сосудов. Эти строительные полимерные материалы сами по себе обладают ангиогенными свойствами, поскольку содержат специфические лиганды, реализующие трехмерные условия для межклеточной коммуникации, миграции клеток и различные ФР для демонстрации высокой скорости восстановления. Гидрогелевая сетка каркаса на всей пористой поверхности нуждается в устойчивом и пролонгированном заполнении эндотелиальной клеточной массой. Индуцирование ангиогенеза не только на наружной поверхности имплантата, но и во внутреннем поровом пространстве имеет ключевое значение. Включение ангиогенных ФР с эндотелиальными клетками в жидкие матрицы может индуцировать прорастание или самосборку эндотелия для создания стабильных и перфузируемых сосудистых сетей с открытым просветом [46, 47]. При подобных переносах очень важна временная последовательность введения в среду регенерации коктейля факторов роста.

Известна идея применения непрямого управления множественным высвобождением факторов роста с хорошим конечным результатом. Например, индукция фактора гипоксии 1-альфа (HIF-1a) стимулирует высвобождение VEGF, bFGF и Ang-1, что приводит к улучшению образования кровеносных сосудов [48].

При использовании природных каркасов, включающих два и больше факторов роста, важно учитывать не только возможные взаимодействия между факторами, факторами и матрицей, но и порядок включения белков в матрицу, поскольку можно ожидать получение противоположных по значению результатов [49, 50]. Достоверно установлено, что полисахаридные каркасы, которые содержат три и более фактора роста, способны последовательно их освобождать в ECM и более точно имитировать ангиогенез как *in vitro*, так и *in vivo* [49, 51]. Если известно, что VEGF и PDGF являются мощными ангиогенными факторами с относительно разными ролями [52] и включаются в ангиогенез соответственно на ранних и поздних этапах формирования сосудистой сети, то при получении системы переноса с этими фак-

торами необходимо учесть пространственно-временные профили их высвобождения. Факторы, которые ответственные за стабилизацию уже сформированных ранних сосудов, должны быть включены и активированы на поздней стадии ангиогенеза [52]. Если в ECM происходит ранняя активация PDGF при высокой экспрессии VEGF, то фактор роста эндотелия сосудов может ингибировать передачу сигналов PDGF, где VEGFR-2 образует комплексы с PDGFR- β , тем самым нарушая его роль в привлечении перитцитов и стабилизации новых сосудов [53].

Выяснение уровней тех или иных регуляторных молекул в стенке крупного сосуда будет указывать на направленность действия имплантата и опосредованно на состояние перфузии тканей. В условиях воспаления и присутствия эффекта гипоксии факторы неогенеза: VEGF, ФР фибробластов (FGF, fibroblast growth factor), ФР гепатоцитов (HGF, hepatic growth factor), ангиогенин, ангиопоэтины и неспецифические стимуляторы роста сосудов: инсулиноподобный ФР (IGF-1, insulin-like growth factor), трансформирующий ФР (TGF, transforming growth factor), фактор некроза опухоли (TNF, tumor necrosis factor), оксид азота (NO, nitric oxide), интерлейкин-8 (IL-8, interleukin-8), семейство металлопротеиназ (MMPs, metalloproteinase family), становятся триггерами для эндотелиальных клеток, обладающих рецепторами к ФР. Например, культивирование и накопление эндотелиоцитов пупочной вены человека (HUVEC) на нанопленках фибронектина-желатина в условиях экспрессии коктейля ангиогенных ФР выявило с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа в тканях плотную и однородную трубчатую структуру в виде сети с просветами, похожую на кровеносные капилляры *in vivo*. Условием триггерной реакции для эндотелиальных клеток, кроме экспрессии ФР, является наличие трехмерной среды [54].

В случае инкапсуляции в состав гидрогелевой матрицы VEGF и FGF-2, содержащей микросферы PDGF, исследователи получают на стадии начального рекрутирования и пролиферации кровеносных сосудов раннее высвобождение VEGF и FGF-2 с различными кинетическими скоростями и замедленную элюцию в среду PDGF. Такая последовательность высвобождения факторов роста из матриц обеспечивала рекрутирование пристеночных и гладкомышечных клеток, запускаемого с помощью PDGF [50]. Синергетическое действие VEGF, FGF-2 и PDGF подтверждается увеличением расстояния миграции HUVEC по сравнению со свободными каркасами, способностью к инвазии и образованию трубочек. Такая же закономерность на-

блюдается и в условиях *in vivo* при использовании хориоаллантаической мембраны цыпленка. Доставка VEGF, FGF-2 и PDGF вместе с полисахаридными матрицами приводила к резкому увеличению числа зрелых кровеносных сосудов в утолщенной мезодерме. Цитокиновый анализ в ЕСМ при участии такого коктейля факторов роста показывает, что уровень противовоспалительных протеинов в макрофагах (IL-10) растет, а экспрессия провоспалительных протеинов (IL-12, фактор транскрипции NF- κ B) снижается или вовсе блокируется. На этот факт следует обратить внимание, поскольку присутствие полисахаридного гидрогеля в составе ЕСМ при активном участии нескольких ангиогенных факторов роста эндогенного или экзогенного происхождения может локально подавлять силу атерогенного воспаления на фоне гиперлипидемии [55]. Комбинированное включение факторов роста в сульфатированные каркасные носители и создание условий их дозированного выделения в среду приводит к формированию высокой плотности новых капилляров [56–58]. Такая комбинация факторов роста оправдана еще и по причине не только синергетического механизма действия на образование сосудистой сети, но и проявления различных эффектов в ангиогенезе, направленных на один конечный результат. Например, включение в систему переноса VEGF и FGF-2 направлено не только на дифференцировку эндотелиальных клеток (VEGF), но и на увеличение общей выживаемости клеток (FGF) [59], несмотря на то, что оба фактора роста обеспечивали плотность микрососудов и в разной степени скорость пролиферации эндотелиоцитов и опсонизацию перицитами [60, 61]. Одновременное включение в систему переноса VEGF и ANG-1 направлено не только на индукцию сосудистой проницаемости и разрушение сосудистой мембраны [62, 63], но и на стабилизацию кровеносных сосудов и прекращение утечки плазмы крови (ANG-1) [64]. Два фактора роста в итоге восстанавливают кровотоки в зонах ишемии [65]. Совместное использование в системе переноса PDGF и FGF-2 приводит также к синергетическому эффекту и к скоординированной миграции, пролиферации эндотелиальных клеток и неоваскуляризации [66]. При этом разные подтипы PDGF способны согласованно координировать хемотаксис и пролиферацию клеток. Однако высокий уровень PDGF характерен при избыточной пролиферации клеток, что может указывать на прогрессирование атерогенного воспаления. Успешное сочетание VEGF и PDGF было продемонстрировано в работе [67], где было получено двойное высвобождение VEGF и PDGF-BB с увеличе-

нием плотности и зрелости сосудов по сравнению с использованием каждого GF по отдельности. При этом сочетании высокая или низкая концентрация VEGF не влияла на конечный результат; коэкспрессия обоих факторов в каждой клетке с помощью одного вектора приводила к реваскуляризации, эффективному росту коллатеральных артерий, увеличению кровотока и уменьшению повреждения тканей. Такой результат указывает на стабильный и нормальный ангиогенез [68]. Таким образом, создание баланса стимуляции между несколькими факторами роста приводит к согласованной функции нескольких систем, участвующих в активном ангиогенезе, например стимуляции клеток сосудистого эндотелия и рекрутировании перицитов муральной системы. Установлено, что активация перицитов сопровождается отслоением и миграцией этих клеток, что наблюдается при ангиогенезе или регенерации тканей, когда перициты мигрируют для стабилизации развивающейся сосудистой сети.

Одновременная доставка с помощью полимерной матрицы VEGF, PDGF и FGF-2 увеличивает *in vitro* ангиогенезную дифференцировку эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) и ускоряет формирование новых сосудистых сетей в хориоаллантаической мембране [68, 69]. Такой согласованный эффект подтверждался улучшением кровообращения у различных животных в моделях ишемии разной локализации [70].

Важно отметить, что маркерный анализ при атерогенном воспалении сравним, например, с характеристикой хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), поскольку также указывает на включение экспрессии большинства белков, характерных для системного воспаления (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , семейство MMP, С-реактивный белок (CRP, C-reactive protein), NO, CD31, селектины, VEGF, эндотелин-1 и др.) [71].

Непосредственный контакт со стенкой сосудов поликатионной или полианионной гидрогелевой конструкции на основе сульфатированной формы хитозана, аскорбата хитозана, хлоргидрата хитозана, натриевой соли альгиновой кислоты [6, 72] приводит к пролиферации сосудистого эндотелия. Этот эндотелий окружает полимерную матрицу и стимулирует боковое почкование стенки сосуда. Такие конструкции в фасциальных сосудистых футлярах создают эффект терапевтического ангиогенеза [3].

В полимерной стратегии ангиогенеза в настоящее время исследователи предпочитают использовать сложные гибридные гидрогели [73, 74], состоящие из нескольких природных, син-

тетических или полусинтетических полимеров, нескольких ФР и видов клеток. Задачи ангиогенеза заключаются, прежде всего, в локальной доставке конструкции в зону ишемии и пролонгированной элюции ФР, иммобилизованного на поверхности носителя, или из глубокого слоя полимерной сетки [75]. Искусственное размещение в широкой зоне атеросклеротического поражения сосудов системы доставки аффинных к холестерину и ЛПНП ингредиентов способно повлиять не только на интимальный и средний слой окружающих сосудов с нормализацией клеточной и межклеточной структуры, но и вызвать активный ангиогенез. При этом совершенно не исключается стратегия формирования сосудистых структур путем прямого введения в предварительно подготовленные по известным технологиям полые каналы гидрогелевой матрицы клеток, ФР или их комбинации. Очень важно включать в анализ события в адвентициальной и параадвентициальной зонах, заинтересованных в прямых контактах с системой доставки аффинных к липидам ингредиентов [76].

Было предположено, что имплантация полисахаридного гидрогеля по фасциальным каналам вдоль артериальных стволов приведет к широкому контактированию матрицы с элементами создаваемого второго дополнительно ЭКМ, расположенного как в адвентиции, так и в периваскулярной жировой ткани, другими словами, ЭКМ-2. Активная аффинная опсонизация гидрогеля ФР в адвентициально/параадвентициальном ЭКМ-2 и одновременная деградация водорастворимого и гидрофильного матрикса с замедленной элюцией ФР в окружающую среду приведут к формированию адвентициальной и параадвентициальной сосудистой сети. Таким образом, в силу своей эндогенной природы ВКМ можно рассматривать как резервуар для разработки новых, более эффективных методов воздействия на ангиогенез и атерогенный процесс [77, 78]. В связи с этим на основе использованного экзогенного гидрогеля можно ожидать его ремоделирование, по составу имитирующего живой ЭКМ. Расчет ведется на активное обтекание гидрогелем сосудов различного калибра при имплантации конструкции в фасциальные футляры сосудов и, таким образом, моделирование сосудистого дерева согласно природному лекалу [72]. Такой подход рассчитан на полную эндотелизацию вновь образующихся *vasa-vasorum*, вырастающих из адвентициального слоя.

Установлено, что медленное и контролируемое высвобождение факторов роста из каркасов, например PDGF, является важным условием

высокого ангиогенного результата. Сополимер (поли(лактид-со-гликолевая кислота, PLGA) является биоразлагаемым материалом с превосходной биосовместимостью, который позволяет технически изготовить микро/наночастицы или 3D каркасы для биомедицинских приложений. Применение этого полимера в качестве нагруженного гидрогеля в модели критической ишемии нижних конечностей у мышей показало высокий уровень роста проангиогенных факторов, снижение степени поражения тканей. При этом не менее важным результатом является длительное сохранение биологической активности ФР. Устойчивая кинетика высвобождения PDGF-BB из микро/наночастиц стимулировала локализованную неоваскуляризацию на модели подкожной инъекции системы переноса мышам BALB/c с последующей прижизненной микроскопией в течение двух недель. В области локализации микрочастиц с ФР обнаруживаются полноценные функциональные новообразованные сосуды, превышающие ангиогенную реакцию в 6 раз по сравнению с контролем [79].

Смешивание противоположно заряженных полиэлектролитов, например, получение коацервата, состоящего из гепарина и биоразлагаемого поликатиона, защищает ФР от протеолиза и усиливает их биологическую активность. Включение в коацерват нескольких ФР, например VEGF и HGF, поддерживает их высвобождение в течение трех недель с сохранением биологической активности. За этот период пролиферация эндотелиальных клеток формирует сосудистые трубочки в условиях *in vitro*. Более того, сложные коацерваты оказывают потенцирующее действие на ангиогенез, чем использование каждого ФР в отдельности, демонстрируется перенос включенных ФР в ЭКМ [80, 81]. При этом физический синтез сополимера может обеспечивать естественную скорость деградации этой системы переноса, которую можно контролировать. Жидкие гидрогели перспективны в форме простых инъекций с целью переноса ФР или белков ЭКМ к клеткам-мишеням для индукции сигнальных путей активации [82].

Элементы ЭКМ, введенные в гидрогель, способны рекрутировать больше эндотелиальных клеток, улучшать локальное состояние мышц ишемизированной конечности и увеличивать перфузию тканей в течение достаточно продолжительного времени [83]. Положительный эффект клеток ЭКМ указывает на важность каждого элемента в системе ангиогенеза в зоне сосудистой стенки [84]. Чем дольше осуществляется элюция из системы доставки фактора роста, тем выше плотность вновь образованных капилляров.

Тем не менее, несмотря на успехи в области тканевой инженерии, многочисленные исследования в условиях *in vitro* обычно не достигают надлежащей трансляционной эффективности системы переноса. Многообещающие результаты ангиогенного эффекта при использовании фактора роста, например VEGF, в экспериментальных условиях [85], контролируемые клинические испытания с использованием различных переносчиков и факторов роста при стандартной технологии доставки гликопротеина в ишемизированные ткани у пациентов [86] не показали пролонгированной ожидаемой положительной динамики ангиогенеза при внутривенной или интракоронарной инфузии препарата [87, 88]. Введение VEGF в безопасной дозе не вызывало достаточного ангиогенеза для коррекции ишемии сердца или скелетных мышц [89]. Такой же нейтральный результат был получен и при использовании FGF165 и FGF2 [90, 91]. Эти природные механизмы компенсации ишемии при серьезных нарушениях кровообращения все-таки не могут обеспечить высокий уровень ангиогенеза [92, 93]. При этом важно отметить, что несмотря на активное формирование сосудистой сети в зоне доставки гидрогелевой конструкции, бассейн поражения, как правило, значительно превышает площадь присутствия матрицы с факторами роста. Расстояние между отдельными сосудистыми сетями превышает возможности их контакта между собой [94]. При контакте с живыми тканями микрососуды могут прорасти из сосудистой сети хозяина и проникать в искусственные каркасы посредством естественного процесса ангиогенеза. Однако такая неоваскуляризация недостаточна для покрытия всей площади имплантированных конструкций, она осуществляется длительно, в течение нескольких дней или недель, что вызывает необратимые изменения в клетках, проникающих в матрицу [95]. Искусственная организация сосудистой стенки в настоящее время не соответствует размерам сосудистой трубки: большие диаметры сосудов, соответствующие артериям или артериолам, не отвечают необходимым требованиям к высоким гемодинамическим нагрузкам при перфузии ткани. В сосудах большого диаметра наличие однослойного эндотелия и отсутствие среднего слоя при высоком давлении и усиленной перфузии крови будут нарушать архитектуру и функцию созданной сети. Образцом конструкции пока остаются самособирающиеся сосудистые сети с более точным копированием нативной структуры. Поэтому трансляция микрососудистой сети внутри инженерных тканевых конструкций требует организованного ангиогенеза.

Важно обратить внимание на то, что ЕСМ является центральным звеном в регулировании доступности и активности факторов роста *in vivo*, в котором факторы роста обнаруживаются прочно связанными с ЕСМ [96] и высвобождаются путем протеолитической деградации вблизи спаек матрикса. По сути, ЕСМ можно рассматривать как депо ФР в результате секвестрации молекул, зону регуляции локальной концентрации и зону стабильной защиты их исходной активности. Отсутствие эффективной системы доставки или введение водорастворимой формы фактора роста без предварительной связи с системой доставки отменяет эффект презентации комплекса. Связь между клетками в сосудистой оболочке через факторы роста и их клеточные рецепторы без системы доставки становится неуправляемой [97, 98]. В связи с этим, точный контроль над передачей сигналов этих факторов в локальной области может потенциально позволить контролировать регенерацию тканей и будет указывать на процессы стимуляции или ингибирования атерогенеза, ангиогенеза. Поскольку поддержание локальной концентрации, например, VEGF имеет решающее значение для ангиогенной эффективности, поэтому главной задачей становится определение баланса между уровнями проангиогенных (или проатерогенных) молекул и молекул, тормозящих ангиогенез (или атерогенез) в сосудистой стенке у животных, получающих и не получающих холестериную диету.

Попытки создания функциональных периваскуляризованных каркасов со сложной структурой и высокой совместимостью материалов, вероятно, приведет к созданию васкуляризованных конструкций, пригодных для клинического применения. Видимо, использование в исследовании полимеров полисахаридной природы, несмотря на ряд их устранимых недостатков, получит приоритетное значение, поскольку во многом соответствуют строению и реакции нормальной ткани при действии внутреннего и внешнего стимулов. То обстоятельство, что ряд полисахаридов, особенно с сульфатированными доменами, обладает собственной уникальной способностью самостоятельно без дополнительной нагрузки регулировать ангиогенез и опсонизировать ФР при имплантации в ЭКМ *in vivo* без предварительной их инкапсуляции в условиях *in vitro*, приобретает весьма важное значение, если учитывать короткий период полураспада регуляторных белков [42]. Недавно опубликованная работа, посвященная реконструкции крупных артерий нижних конечностей при экспериментальном атеросклерозе, предлагает малоинвазивную технологию локальной

доставки гидрогеля на всем протяжении пораженного сосуда задней конечности животного (крыса, кролик) [3]. Эффект дехолестеринизации стенки магистрального сосуда и деградация мягких бляшек на большом протяжении после внутрифасциальной периваскулярной имплантации позволяет планировать исследования по расшифровке механизмов обратного развития локального атерогенного поражения [3]. Сочетание в адвентициальном слое, а также присутствие в гидрогелевой матрице транслированных кровотоком предшественников эндотелиальных клеток и массы фибробластов приобретает весьма важное значение для тканевой инженерии сосудов.

Авторы предлагают гипотетическую схему регуляции ангиогенных и проатерогенных ФР в стенке артериального сосуда при коррекции атерогенного воспаления с помощью имплантации амфотерного сульфатированного хитозана в фасциальный футляр магистральных сосудов задней конечности у кролика в период холестериновой диеты (рисунок) [3].

Ишемия ткани, в которой развивается весь каскад молекулярных нарушений, соответствует хроническому течению заболевания. В связи с этим множественные опубликованные модели острой ишемии тканей задних конечностей на мелких лабораторных животных не в полной мере отвечают задачам стимуляции ангиогенеза и пониманию механизмов развития ишемии. Наиболее адекватными животными моделями следует признать те, в которых происходит постепенное закрытие просвета сосудов с формированием процесса воспаления. К одной из ярких моделей хронического воспаления следует отнести экспериментальный атеросклероз, который успешно реализуется на лабораторных крысах и, особенно, на кроликах. Модель холестерина Н.Н. Аничкова соавт. [99], разработанная на кроликах в 1913 г., является ярким примером получения специфического хронического воспалительного процесса, реализующегося в течение нескольких месяцев благодаря специальной холестериновой диете. Несмотря на наличие в лабораториях выведенных популяций мышей и кроликов с наследственной гиперхолестеринемией или мышей с отсутствием протеина переноса ЛПНП (ApoE^{-/-}), указанная модель востребована и имеет широкое распространение.

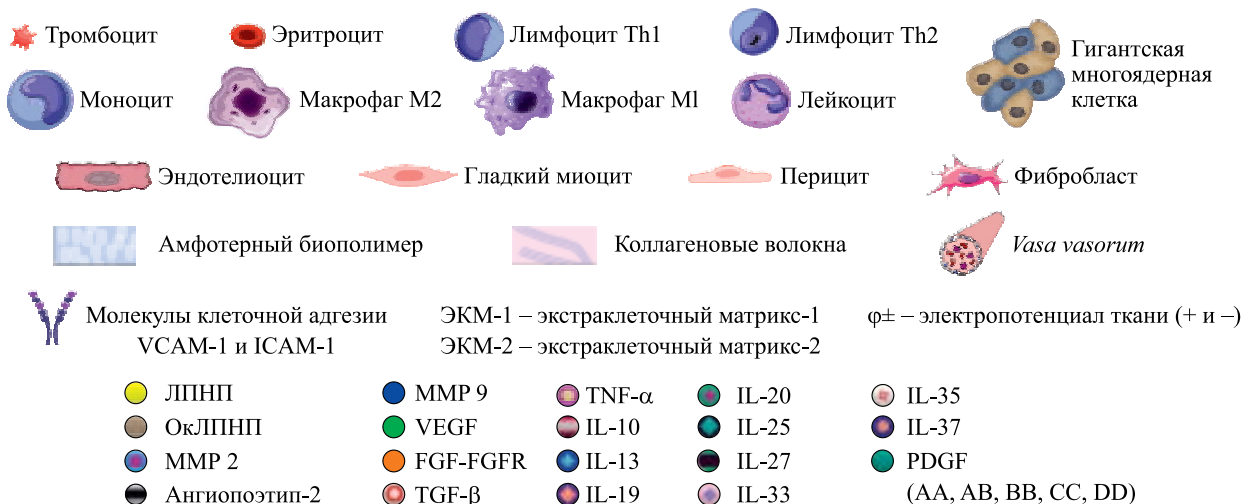
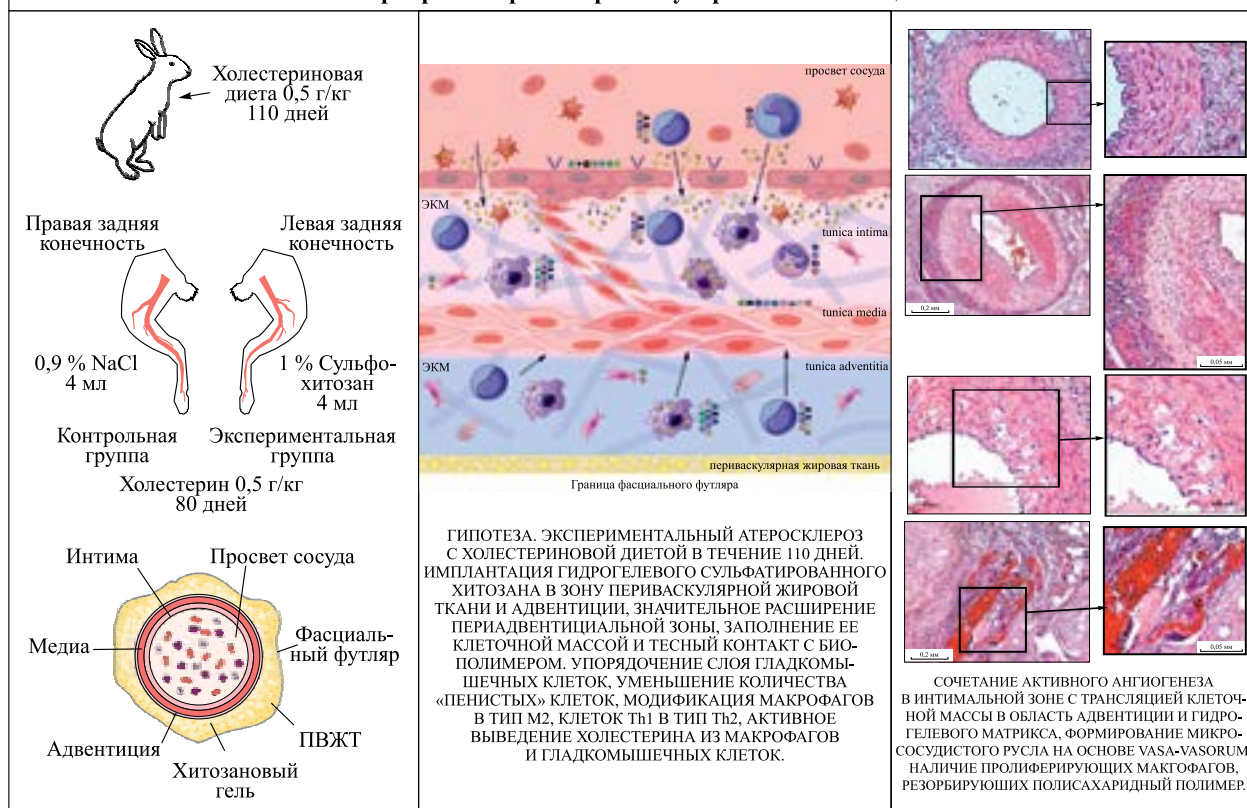
Таким образом, улучшение баланса между провоспалительными и противовоспалительными факторами может способствовать обратному развитию локального атерогенеза. Активное прямое вмешательство в реконструкцию адвентициального слоя и периваскулярной жировой

ткани артериальной стенки с помощью аффинных к холестерину полисахаридных гидрогелей, содержащих коктейль ФР, создает условия для формирования дополнительного экстраклеточного матрикса и реверса холестериновой массы из интимальной зоны. Создание с помощью гидрогеля в обширной зоне адвентиции на большом протяжении артерии концентрационных и электростатических градиентов может быть одним из эффективных способов деградация ранних мягких атерогенных бляшек и локального восстановления нарушенной структуры стенки сосуда. Рост научного интереса к ранее недостаточно изучаемой адвентициальной оболочке и периваскулярной жировой ткани указывает на ее важную роль в ангионекрозе и атерогенезе.

Заключение

В подтверждение концепции атеропротекторных механизмов действия полисахаридных полимеров при их параваскулярной имплантации в модели экспериментального атеросклероза были разработаны различные методы получения сопряженных с природными или синтетическими биоматериалами и химическими веществами ФР. Предполагается, что эти иммобилизованные факторы могут быть доступны для клеток, которые вступают в контакт с матрицей, обеспечивая высоколокализованный сигнал для контроля функции клеток. Поскольку многие модели критической ишемии нижних конечностей соответствовали острому нарушению кровообращения и производились на мелких животных (мышь и крыса), то задачи ангиогенеза заключались, прежде всего, в локальной доставке конструкции в зону ишемии и пролонгированной элюции фактора роста, иммобилизованного на поверхности носителя, или из глубокого слоя полимерной сетки [75, 100]. В исследовательских лабораториях идет поиск природных материалов и их комбинаций, гибридных материалов, которые способны вызывать самосборку сосудов. Эти строительные полимерные материалы сами по себе обладают ангиогенными свойствами, поскольку содержат специфические лиганды, реализующие трехмерные условия для межклеточной коммуникации, миграции клеток и различные факторы роста для демонстрации высокой скорости восстановления. Ранняя сосудистая эндотелизация вокруг имплантата является первичной перспективной задачей и будет означать ориентированный спрутинг предшественников или специализированных клеток, а также сигнальных молекул межклеточного взаимодействия. Современные разработки гидрогелей в качестве инъекцион-

Атеропротекторная периваскулярная имплантация



Медиаторы пораженной атерогенным воспалением сосудистой стенки, влияние биополимера (сульфо-хитозана) на уровень активности

Суперэкспрессия (↑↑)	Высокий уровень экспрессии (↑)	Переменяющийся уровень экспрессии (↓↑)	Низкий уровень экспрессии (↓)
VEGF ↑↑	MMP 1, 2, 3, 9 ↑	Оксид азота ↓↑	Тромбин-PAR ↓
FGF-FGFR ↑↑	Ангиогенин ↑		
PDGF ↑↑	Ангиопоэтин 2 (Ang-2) ↑		
TNF-α ↑↑	HGF ↑		
	IGF-1 ↑		
	TGF β ↑		
	M-CSF ↑		
	VCAM-1 ↑		
	ICAM-1 ↑		
	IL-10 ↑		
	IL-13 ↑		
	IL-19 ↑		
	IL-20 ↑		
	IL-25 ↑		
	IL-27 ↑		
	IL-33 ↑		
	IL-35 ↑		
	IL-37 ↑		
			Сверхнизкий уровень экспрессии (↓↓)
			ЛПНП ↓↓
			ОкЛПНП ↓↓
			INF-γ ↓↓

ных каркасов для системы доставки факторов роста демонстрируют хорошую перспективу стимуляции ангиогенеза. Такие матрицы менее инвазивны, легко принимают конфигурацию в зоне имплантации [101]. К этому следует добавить, что эндотелиальные клетки способны образовывать сосудистые сети часто без предварительного добавления специфических сигналов или факторов роста, а только в результате имплантации свободной матрицы. Такая спонтанная организация эндотелиальных клеток приводит к созреванию и стабилизации сосудистых структур и определяется ростом числа сосудов с просветом [102]. Сосудистые сети формируются как в ЕСМ [103], так и в теле имплантируемой матрицы [104, 105]. Большое количество жизнеспособных клеток интегрируется в каркас, прорастает в бессосудистые участки каркаса и васкуляризирует их. Определенные типы эндотелиальных клеток с высокой пролиферацией, присутствующие, прежде всего, в адвентициальном слое (циркулирующие эндотелиальные клетки-предшественники (EPCs), эндотелиальные колониеобразующие клетки (ECFC)), могут играть решающую роль в ревазуляризации новой территории [106]. Более ранние исследования показали, что такая задача может быть решена путем локальной конъюгации и последующей продолжительной доставки ангиогенных факторов роста с поверхности пор конструкции [107]. Включение ангиогенных факторов роста с эндотелиальными клетками в жидкие матрицы может индуцировать прорастание или самосборку эндотелия для создания стабильных и перфузируемых сосудистых сетей с открытым просветом [46, 47, 108, 109]. Таким образом, начальный старт эндотелизации важен с позиций роста дополнительных сосудов в зоне имплантации, изменения активности сигнальных молекул, приводящих к улучшению кровообращения в тканях. Такая направленность действия важна при развитии хронической ишемии нижних конечностей.

Известно, что включение факторов роста в искусственные гидрогели существенно повышает функциональную сохранность белков и сохраняет высокую ангиогенную активность [110]. Известно, что пористые гепаринизированные хитозановые или коллаген-хитозановые матрицы, содержащие факторы роста, показали высокий уровень ангиогенеза по сравнению с контрольными сериями экспериментальных животных. Например, устранение раневых кожных дефектов и благоприятное развитие популяции дермальных фибробластов в ране происходили на фоне устойчивой доставки рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека (rhGM-CSF) и

высокой экспрессии VEGF и TGF- β 1. Эти находки подтверждали формирование прогрессирующего ангиогенеза [111, 112]. Таким образом, создание системы, состоящей из природных каркасов, различных источников клеток, факторов роста, цитокинов и механических раздражителей, направлено на решение задач сосудистой тканевой инженерии.

Использование коллаген-хитозанового нановолокнистого каркаса создает благоприятные условия для адгезии, трансляции и пролиферации эндотелиальных клеток магистральной артерии, сохраняет их сосудистый фенотип [113]. Установлено, что гепаринизированные линейные полисахариды с множеством боковых цепей способны ковалентно связывать различные лиганды, включая факторы роста, цитокины и защищать белковые молекулы от протеолиза [114].

Миграция клеток и их факторов роста в муральной зоне обеспечивается семейством протеаз и матриксных металлопротеиназ, расщепляющих системы доставки и отдающих в среду депонированные факторы роста. Кроме отдачи активных молекул на своем пути через ЕСМ линейные полимеры могут представлять факторы роста своим рецепторам, используя сульфгидрильную группу как кофактор. Существует предположение, что при постепенной деградации, например, сульфатированного хитозана, имплантированного в ткани сосудистой системы, матрица, опсонизированная факторами роста, будет выделять в среду растворимые ФР, например, изоформы FGF и VEGF, которые могут быть высвобождены из линейного полисахарида путем ферментного гидролиза.

В работе [115] продемонстрирована роль включения сульфатированного полисахарида в пористый полиэтиленгликолевый гидрогель. Показано, что имплантация в ткани комплекса хитозан-гепарин-полиэтиленгликоль приводит к усилению эффективности доставки молекул-векторов в клетки, существенно повышает уровень ангиогенных факторов в этой конструкции. Анализ показывает хорошее наполнение полученной системы переноса такого фактора, как VEGF. Если ставится прямая задача наполнить гидрогелевую матрицу сосудистым эндотелием, то исследователи используют конструкцию, содержащую микроканалы. Например, формирование микроканалов с активной поверхностью на основе высоко деацетилированного хитозана создает ложе для эндотелизации каркаса. Если нагрузить такие микроканалы ангиогенным фактором роста, то происходит активная адгезия сосудистого эндотелия. Высокая степень

деацетилирования хитозановой матрицы играет важную роль в степени эндотелизации.

В случае активного ангиогенеза ФР могут связываться с поверхностями каркасов, подавая проангиогенные сигналы окружающей ткани. Инъекционные каркасы являются многообещающим подходом для стимулирования ангиогенеза, так как они менее инвазивны, чем имплантация твердых конструкций, и могут повторять рельеф при заполнении полостей [116]. ФР могут быть активными в связанном состоянии или активироваться в результате отщепления от матрицы. Специфичное для участка матрицы привязывание ФР и других биологических молекул позволяет контролировать множество функций ФР и их доставку. Существует две основные стратегии прямого представления ФР на внешних матрицах: а) физическая адсорбция за счет связывания белков водородной связью; б) ковалентная иммобилизация ФР или молекул, имитирующих ФР, в матрицу (ковалентный подход). Независимо от того, какая методика используется для иммобилизации ФР, создание каркасов также придает клеткам способность привлекать функциональные протеины в тесный межклеточный контакт. Увеличение активации рецепторов ФР, таких как VEGF-A, BDGF или FGF-2, внеклеточного матрикса связывают с включением интегринов в цепочку взаимодействия. Использование в системе доставки гепарина или гепариноподобных структур является хорошей идеей для решения вопросов создания эффективной системы переноса факторов роста и их устойчивого высвобождения в зоне ишемии. Химическая или физическая модификация поверхности субстратов ЭКМ с помощью гепарина используется для связывания ФР посредством их сродства к привитому гепарину. Системы доставки ФР на основе гепарина демонстрируют способность обеспечивать устойчивое высвобождение протеинов. Клеточная миграция, детерминированная через сигнальный путь системой интегрин-рецептор ФР, может быть активирована благодаря электростатическому градиенту в присутствии сульфатированного биополимера. Высокая аффинная адсорбция ФР в ЭКМ, например к имплантированной сульфатированной форме хитозана, обеспечивает связь протеинов с ЭКМ, а следовательно, стимулирует беспрепятственную диффузию к поверхности эндотелиальных клеток и клеток муральной зоны. При условии, что адсорбированный на носителе ФР, например VEGF, будет активно презентирован эндотелиальным клеткам при низком уровне сигнала трансмембранных белков Notch, процесс регионарного ангиогенеза ожидается высоким. Роль промежуточных

структур, выполняющих функции опсонизации ФР на поверхности системы переноса могут играть как сульфгидрильные группы собственно полимера, так и олигопептиды, фибронектин, коллаген, эластин или семейство гликозаминогликанов. Такая сложная многокомпонентная система доставки ФР способна существенно увеличивать выживаемость эндотелиальных клеток и восстанавливать локальную перфузию крови в ишемизированной ткани. Система доставки используется для создания депо клеток-предшественников сосудов *in vivo* с расчетом их повторного выхода для заселения поврежденной ткани. На модели ишемизированной мускулатуры задних конечностей мыши демонстрируется поддержание жизнеспособности и внешней миграции эндотелиальных клеток-предшественников, их приживление и увеличение плотности кровеносных сосудов по сравнению с прямой инъекцией клеток. Такая активная ангиогенная реакция спасала ишемизированные конечности мышей, предотвращая некроз пальцев ног и потерю стопы. Контроль перфузии периферической крови указывал на полное восстановление. Таким образом, способ доставки ФР во многом определяет конечный исход ишемии [117].

Предполагается, что полианионная растворимая форма сульфатированного хитозана при имплантации в паравазальный фасциальный футляр магистрального сосуда будет нетоксична для адсорбирующихся в ЭКМ ФР. Важным условием является сохранение активности белков в системе доставки. Хитозановая сульфатированная платформа с рН около 7 или слабощелочной может модифицировать структуру транспортной системы, иммобилизовать ФР, увеличивать срок их деградации и высвобождения в ЭКМ по сравнению со многими катионными полимерами. Предполагается, что, введение в паравазальное пространство хитозанового гидрогеля с сульфгидрильными группами приводит к образованию аффинных комплексов с холестерином и ОклППП как стабильных и монодисперсных платформ гелеобразования, которые включают в свой состав ФР. Скорость деградации транспортной системы, вероятно, будет зависеть от концентрации полисахаридного полимера. Предположено, что изменение концентрации полисахаридов в тканях (например, имплантация сульфатированного хитозана в периваскулярную зону магистрального сосуда) меняет динамику высвобождения ФР из клеток сосудистого эндотелия, гладкомышечных клеток, других клеток ЭКМ, регенеративный профиль лимфоцитов, макрофагов. Кроме того, имплантация определенного объема полимера в футляр магистрального сосуда создает меха-

ническое напряжение ткани. Этот экзогенный фактор стимулирует выработку или высвобождение ФР в ЭКМ и образование межклеточных контактов с активацией через рецепторы и интегрины сигнальных путей. Реакция клеток проявляется в виде дифференцировки, пролиферации и миграции. Высокая аффинность полисахаридных полимеров к холестерину и ЛПНП, активная васкуляризация ЭКМ-2 провоцируют градиент трансляции холестерина в сторону гидрогелевой «рубашки», дренируя клетки и липиды из интимальной зоны ЭКМ-1 в зону ЭКМ-2. Кроме того, короткие цепочки продуктов гидролиза полисахаридного имплантата наполняют не только ЭКМ-2, но и диффундируют обратно в ЭКМ-1, связываясь с клеточной поверхностью полиморфно-ядерных лейкоцитов и макрофагов. Предполагается, что такая доставка холестерина из интимы может сочетаться не только с трансляцией «пенистых» клеток, но и внеклеточных ОклПНП, реверсированных самими пенистыми клетками за пределы мембраны с помощью кассетных транспортеров ABCA1 и ABCG1. Отток холестерина играет важную роль в антиатерогенезе, управление этим процессом может обеспечить новый терапевтический подход к патологии магистральных сосудов. Например, частичная или полная блокада в макрофагах, нагруженных ЛПНП, с помощью специфических антител IL-8, известного своим негативным регуляторным воздействием на отток холестерина из клеток, приводит к значительному усилению оттока холестерина из макрофагов [118]. Есть предположение, что активация эффероцитоза с помощью полисахаридных матриц, снижающая массу апоптотических клеток, может предотвращать вторичный некроз и воспаление, уменьшать рост некротических ядер [119]. Их деградация и активное дренирование в позицию полимера, имеющего электростатический заряд, направлены на восстановление целостности и функции тканей во время воспаления. Переключение функции провоспалительных макрофагов на регенеративный пул клеток с помощью специфических липидов открывает перспективу управления атерогенным процессом, особенно на ранней стадии развития. Получение массы макрофагов невоспалительной природы в стенке артериального сосуда является весьма интересным проектом [120]. Такой процесс заканчивается локальной дехолестеринизацией и перестройкой муральной зоны сосудистой стенки. Эти процессы в стенке магистрального сосуда изменяют его морфологию и функцию в сторону улучшения перфузионных характеристик. Подведение гелевой матрицы к зоне ишемии и дислокации атерогенных бляшек

как самостоятельной структуры для контакта со стационарными белками ЭКМ, эндогенными эндотелиальными клетками и клетками муральной зоны для активации ангиогенеза, рассматривается как эффективная схема терапии [121]. Непосредственный контакт гидрогелевого имплантата с периваскулярной жировой тканью (PVAT) и адвентицией, составляющих слой без четких границ, требует анализа ответной реакции в условиях атерогенного воспаления, а именно, выявления механизмов антиатерогенного действия маркеров адвентиции и PVAT крупных артериальных сосудов. При этом важно учитывать, что экзогенная клеточная масса или собственно ФР, введенные в состав гидрогеля более 90 % элиминируются уже в течение 24 часов после трансплантации и через 4 недели составляет только 1 %. В связи с этим обстоятельством важной задачей является запуск эндогенных механизмов противовоспалительной терапии. Эта задача может решаться, исходя из современных представлений о PVAT и адвентиции при формировании атеросклероза. Современные исследования показывают, что адвентициальная оболочка ответственна за регуляцию сосудистой структуры, функции, реакции на атерогенное воспаление [122]. Адвентициальная оболочка представляет собой активный динамический слой, который помимо прочих функций выполняет метаболическую, регуляторную и защитную роль, что имеет решающее значение для артериального гомеостаза и атеросклероза [123, 124] через механизм «снаружи-внутри» [125]. Ее удаление приводит к дегенерации всей средней оболочки и разрушению интимы [126]. Интерес к адвентиции фокусируется на анализе механизмов реализации структур этого слоя сосуда при развитии атеросклероза [127]. В настоящем представлении утолщение адвентиции указывает на соответствие механизму атерогенеза, при котором воспаление на ранней стадии процесса заболевания первично инициируется в адвентициальной оболочке и прогрессирует внутрь по направлению к интиме [128].

Триггерным механизмом активных исследований роли адвентиции в прогрессировании атеросклероза нижних конечностей являются неудовлетворительные результаты лечения рестеноза артерий, подвергнутых хирургической баллонной дилатации. Попытки введения человеку гормональных препаратов, способных проникать в интиму и медию, а далее в адвентициальное пространство с целью уменьшить воспалительную реакцию на ангиопластику, показали редкую эффективность. Введение с помощью чрескожного микроинфузионного катетера с иглой длиной 0,9 мм и диаметром 140 мкм

могло охватить только около 9 см сосудистого сегмента. Несмотря на малоинвазивность манипуляции и отсутствие послеоперационных осложнений в виде тромбоза, экстравазации или перфорации магистрального сосуда в течение 6 месяцев после операции, происходит повторная окклюзия обработанных сегментов [129].

Современные исследования показывают, что адвентициальная оболочка ответственна за регуляцию сосудистой структуры, функции, реакции на атерогенное воспаление [130]. На основе открытых механизмов участия адвентиции в воспалительном процессе ставятся задачи прицельного терапевтического воздействия на адвентицию, а именно, на *vasa vasorum*, а следовательно, на выполнение прецизионных исследований этих структур при лечении атеросклероза. Морфологическая и цитокиновая характеристика *vasa vasorum* в адвентиции дает четкое представление о состоянии сосудистого эндотелия основной артериальной магистрали, содержит признаки прогрессирования атерогенного воспаления. Клеточный и молекулярный профиль адвентиции может служить мишенью для разработки терапевтических технологий с целью коррекции атеросклероза.

Основанием научного направления служит то обстоятельство, при котором атеросклероз обычно поражает сегменты стенки сосуда, снабжаемые *vasa vasorum*. В ходе исследований важны вопросы роли адвентициальных ФР в регуляции среднего и интимального слоя основного магистрального сосуда, а также выяснение отличий фенотипа и функций макрофагов и гладкомышечных клеток адвентициального слоя от макрофагов и гладкомышечных клеток основной муральной зоны.

Прямое взаимодействие пустых гидрогелевых матриц или нагруженных фармацевтическими средствами с периваскулярной жировой тканью (PVAT) и массой адипоцитов требует анализа экспрессии, трансляции и реализации функций адипокинов. Такая ткань способна регулировать развитие атеросклероза сосудов посредством механизма «снаружи–внутри» при условии нарушения ее функции по причине изменений физических и химических характеристик внешней среды [131, 132]. По современным представлениям жировая ткань не является простым энергетическим хранилищем. Жировые ткани становятся эндокринными и иммунологически активными участниками воспалительных реакций, динамически регулируются, вовлекаются в метаболические осложнения, опосредованные ожирением, влияют на функции врожденных и адаптивных иммунных клеток [133]. При развитии атеросклероза PVAT становится

дисфункциональной, теряет термогенную способность и секретирует провоспалительные адипокины, вызывающие дисфункцию эндотелия и инфильтрацию воспалительных клеток. Повреждающие сосудистый эндотелий факторы PVAT, такие как лептин, резистин, хемерин, висфатин, адипсин, апелин и его рецептор, протеин, связывающий жирные кислоты (FABP4, fatty acid binding protein), липокалин-2 (LCN-2), ретинол-связывающий протеин-4 (RBP4, retinol binding protein-4) поступают в кровообращение, прежде всего, в зоне адвентиции.

Наряду с экспрессией проатерогенных белков адипоцитами в PVAT и влиянием на слой *vasa vasorum* проявляются и защитные механизмы действия, которые заключаются в улучшении эндотелиальной функции, например, при секреции простаглицлина и адипонектина, в снижении силы воспалительной реакции при экспериментальном атеросклерозе [131]. Среди прочих методов регуляции атерогенного воспаления современные технологии направлены на подавление перекрестных воспалительных взаимодействий между макрофагами и адипоцитами, блокирование миграции макрофагов. Протеомный анализ PVAT показывает, что элементы PVAT способны регулировать сосудистую контракцию и выделять противовоспалительные адипокины, такие как релаксирующий фактор адипоцитов (ADRF, adipocyte relaxing factor), адипонектин, оментин, васпин, програнулин (PGRN), грелин, протеин-9 компонента C1q, связанный с TNF (CTRP9, C1q-tnf-related protein 9), ФР фибробластов 21 (FGF21, fibroblast growth factor 21), периваскулярный релаксирующий фактор (PVRF, perivascular relaxing factor). Таким образом, анализ проатерогенных и атеропротекторных адипокинов при развитии атеросклероза и использовании современных технологий доставки интеллектуальных полимерных конструкций к наружным слоям сосудистой стенки позволит получить новые знания в области развития и регуляции атеросклероза, а также подтвердить концепцию обратного развития локальной воспалительной реакции. Разработка технологии повышения стабильности инкапсулированных белков в системе доставки и их высвобождения в течение длительного времени потребует усилий исследователей, работающих в сфере нескольких дисциплин, включая химический синтез, экспериментальную тканевую инженерию, моделирование патологии, молекулярную биологию и медицину.

Особое внимание следует уделить модифицированным полисахаридным наноконструкциям, благодаря их низкой токсичности, управляемой биodeградируемости, высокой биосовместимости

мости, защите легко гидролизующихся белковых молекул в агрессивной среде. Кроме использования эффективной системы доставки следует изменить технологию локальной физической (хирургической) доставки веществ на большом протяжении пораженных магистральных сосудов. Если причина хронической ишемии нижних конечностей заключается в наличии активного атерогенного воспаления и препятствии перфузии крови атерогенными бляшками, очевидная перспектива заключается в разработке системы переноса, обладающей высокими аффинными свойствами к холестерину и липопротеинам низкой плотности, созданию, с одной стороны, высокой доступности к клеткам всех трех слоев артерии для регуляции ангиогенеза, с другой стороны, обеспечению обратной трансляции холестерина из жизнеспособных и разрушенных клеток в стенке сосуда.

Список литературы / References

- Andrés V., Pello O.M., Silvestre-Roig C. Macrophage proliferation and apoptosis in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2012; 23 (5): 429–438. doi: 10.1097/MOL.0b013e328357a379
- Shirai T., Hilhorst M., Harrison D.G., Goronzy J.J., Weyand C.M. Macrophages in vascular inflammation--From atherosclerosis to vasculitis. *Autoimmunity*, 2015; 48 (3): 139–151. doi: 10.3109/08916934.2015.1027815
- Bolshakov I.N., Gornostaev L.M., Fominykh O.I., Svetlakov A.V. Synthesis, chemical and biomedical aspects of the use of sulfated chitosan. *Polymers (Basel)*, 2022; 14 (16): 3431. doi: 10.3390/polym14163431
- Park I., Kassiteridi C., Monaco C. Functional diversity of macrophages in vascular biology and disease. *Vascul. Pharmacol.*, 2017; 99: 13–22. doi: 10.1016/j.vph.2017.10.005
- Zhang H., Tian Yi., Ren Ya., Wang Ya., Wang C., Hou L. Shear force and cholesterol affinity responsive drug delivery system for treating inflammation and abnormal lipid metabolism in atherosclerosis. *J. Control. Release*, 2025; 381: 113633. doi: 10.1016/j.jconrel.2025.113633
- Большаков И.Н., Шестакова Л.А., Котиков А.Р., Каптюк Г.И. Экспериментальный атеросклероз у крыс. Морфологическая реконструкция стенки магистральной артерии полисахаридными биополимерами. *Фундам. исслед.*, 2013; 10 (3): 557–563. [Bolshakov I.N., Shestakova L.A., Kotikov A.R., Kaptyuk G.I. Experimental atherosclerosis in rats. Morphological reconstruction of the main artery wall with the polysaccharide biopolymers. *Fundamental Research*, 2013; 10 (3): 557–563. (In Russ.)].
- O'Rourke S.A., Dunne A., Monaghan M.G.. The role of macrophages in the infarcted myocardium: orchestrators of ECM remodeling. *Front. Cardiovasc. Med.*, 2019; 6: 101. doi:10.3389/fcvm.2019.00101
- Heidt T., Courties G., Dutta P., Sager H.B., Sebas M., Iwamoto Y., Sun Yu., Da Silva N., Panizzi P., van der Laan A.M., Swirski F.K., Weissleder R., Nahrendorf M. Differential contribution of monocytes to heart macrophages in steady-state and after myocardial infarction. *Circ. Res.*, 2014; 115: 284–295. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.303567
- Imam S.S., Alshehri S., Altamimi M.A., Almalki R.K.H., Hussain A., Bukhari S.I., Mahdi W.A., Qamar W. Formulation of chitosan-coated apigenin bilosomes: *in vitro* characterization, antimicrobial and cytotoxicity assessment. *Polymers (Basel)*, 2022; 14 (5): 921. doi: 10.3390/polym14050921
- Nguyen M.A., Wyatt H., Susser L., Geoffrion M., Rasheed A., Duchez A.C., Cotte M.L., Afolayan E., Farah E., Kahiel Z., Côté M., Gadde S., Rayner K.J.. Delivery of microRNAs by chitosan nanoparticles to functionally alter macrophage cholesterol efflux *in vitro* and *in vivo*. *ACS Nano*, 2019; 13: 6491–6505. doi: 10.1021/acsnano.8b09679
- Sriamornsak P., Dass C.R. Chitosan nanoparticles in atherosclerosis – development to preclinical testing. *Pharmaceutics*, 2022; 14: 935. doi: 10.3390/pharmaceutics14050935
- Benettayeb A., Seihoub F.Z., Pal P., Ghos S.H., Usman M., Chia C.H., Usman M., Sillanpää M. Chitosan nanoparticles as potential nano-sorbent for removal of toxic environmental pollutants. *Nanomaterials (Basel)*, 2023; 13: 447. doi: 10.3390/nano13030447
- Rice J.J., Martino M.M., de Laporte L., Tortelli F., Briquez P.S., Hubbell J.A. Engineering the regenerative microenvironment with biomaterials. *Adv. Healthc. Mater.*, 2013; 2 (1): 57–71. doi: 10.1002/adhm.201200197
- Moulisová V., Gonzalez-García C., Cantini M., Rodrigo-Navarro A., Weaver J., Costell M., Sabater I., Serra R., Dalby M.J., García A.J., Salmeryn-Sánchez M. Engineered microenvironments for synergistic VEGF – Integrin signalling during vascularization. *Biomaterials*, 2017; 126: 61–74. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.02.024
- Mitragotri S., Lahann J. Physical approaches to biomaterial design. *Nat. Mater.*, 2009; 8: 15–23. doi: 10.1038/nmat2344
- Le M.P.T., Marasinghe C.K., Je Ja.-Yo. Chitosan oligosaccharides: A potential therapeutic agent for inhibiting foam cell formation in atherosclerosis. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2024; 282 (Pt 4): 137186. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.137186
- Shahbaz U. Chitin, characteristic, sources, and biomedical application. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2020; 21: 1433–1443. doi: 10.2174/1389201021666200605104939
- Wang W., Meng Q., Li Q., Liu J., Zhou M., Jin Z., Zhao K. Chitosan derivatives and their application in biomedicine. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020; 21 (487). doi: 10.3390/ijms21020487
- Yuan X., Zheng J., Jiao S., Cheng G., Feng C., Du Y., Liu H. A review on the preparation of chitosan oligosaccharides and application to human health, animal husbandry and agricultural production. *Carbohydr. Polym.*, 2019; 220: 60–70. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.05.050
- Li Qi., Shi W.R., Huang Yu.L. Comparison of the protective effects of chitosan oligosaccharides and chitin oligosaccharide on apoptosis, inflammation and

- oxidative stress. *Exp. Ther. Med.*, 2024; 28 (2): 310. doi: 10.3892/etm.2024.12600
21. Cavalcante M.F., Adorne M.D., Turato W.M., Kemmerer M., Uchiyama M.K., Asbahr A.C.C., Alves A.D.C.S., Farsky S.H.P., Drewes C., Spatti M.C., Kazuma S.M., Boss M., Guterres S.S., Araki K., Brüne B., Namgaladze D., Pohlmann A.R., Abdalla D.S.P. scFv-Anti-LDL(-)-metal-complex multi-wall functionalized-nanocapsules as a promising tool for the prevention of atherosclerosis progression. *Front. Med.*, 2021; 8: 652137. doi: 10.3389/fmed.2021.652137
22. Barc P., Plonek T., Baczynska D., Radwanska A., Witkiewicz Z., Halon A., Kupczynska-Markiewicz D., Strozcki L., Korta K., Skora J. A combination of VEGF165/HGF genes is more effective in blood vessels formation than ANGPT1/VEGF165 genes in an *in vivo* rat model. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2016; 9: 12737–12744.
23. Makarevich P.I., Boldyreva M.A., Gluhanyuk E.V., Efimenko A.Y., Dergilev K.V., Shevchenko E.K., Sharonov G.V., Gallinger J.O., Rodina P.A., Sarkisyan S.S., Hu Y.C., Parfyonova Y.V. Enhanced angiogenesis in ischemic skeletal muscle after transplantation of cell sheets from baculovirus-transduced adipose-derived stromal cells expressing VEGF165. *Stem. Cell. Res. Ther.*, 2015; 6: 204. doi: 10.1186/s13287-015-0199-6
24. Vemulapalli S., Patel M.R., Jones W.S. Limb ischemia: cardiovascular diagnosis and management from head to toe. *Curr. Cardiol. Rep.*, 2015; 17: 611. doi: 10.1007/s11886-015-0611-y
25. Cooke J.P., Losordo D.W. Modulating the vascular response to limb ischemia: angiogenic and cell therapies. *Circ. Res.*, 2015; 116: 1561–1578. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.303565
26. Curry C.W., Sturgeon S.M., O'Grady B.J., Yates A., Kjar A., Paige H., Mowery L.S., Katdare K.A., Patel R., Mlouk K., Stiefbold M.R., Vafaie-Partin S., Kawabata A., McKee R., Moore-Lotridge S., Hawkes A., Kusunose J., Gibson-Corley K.N., Schmeckpeper J., Schoenecker J.G., Caskey C.F., Lippmann E.S. Growth factor free, peptide-functionalized gelatin hydrogel promotes arteriogenesis and attenuates tissue damage in a murine model of critical limb ischemia. *Biomaterials*, 2023; 303: 122397. doi: 10.1016/j.biomaterials.2023.122397
27. King W.J., Krebsbach P.H. Growth factor delivery: how surface interactions modulate release *in vitro* and *in vivo*. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2012; 64 (12): 1239–1256. doi: 10.1016/j.addr.2012.03.004
28. Nicosia A., Salamone M., Costa S., Ragusa M.A., Ghersi G. Mimicking molecular pathways in the design of smart hydrogels for the design of vascularized engineered tissues. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023; 24 (15): 12314. doi: 10.3390/ijms241512314
29. Aravamudhan A., Ramos D.M., Nip J., Subramanian A., James R., Harmon M.D., Yu X., Kumar S.G. Osteoinductive small molecules: growth factor alternatives for bone tissue engineering. *Curr. Pharm. Des.*, 2013; 19 (19): 3420–3428. doi: 10.2174/1381612811319190008
30. Simyn-Yarza T., Formiga F.R., Tamayo E., Pelacho B., Prosper F., Blanco-Prieto M.J. Vascular endothelial growth factor-delivery systems for cardiac repair: an overview. *Theranostics*, 2012; 2 (6): 541–552. doi: 10.7150/thno.3682
31. Foster G.A., Headen D.M., González-García C., Salmerón-Sánchez M., Shirwan H., Garcia A.J. Protease-degradable microgels for protein delivery for vascularization. *Biomaterials*, 2017; 113: 170–175. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.044
32. Yao S., Yang Y., Wang X., Wang L. Fabrication and characterization of aligned fibrin nanofiber hydrogel loaded with PLGA microspheres. *Macromol. Res.*, 2017; 25: 528–533. doi: 10.1007/s13233-017-5121-x
33. Murphy W.L., Peters M.C., Kohn D.H., Mooney D.J. Sustained release of vascular endothelial growth factor from mineralized poly(lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, 2000; 21 (24): 2521–2527. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00120-4
34. Wang Z., Wang Z., Lu W.W., Zhen W., Yang D., Peng S. Novel biomaterial strategies for controlled growth factor delivery for biomedical applications. *NPG Asia Mater.*, 2017; 9: e435. doi: 10.1038/am.2017.171
35. Ehrbar M., Schoenmakers R., Christen E.H., Fussenegger M., Weber W. Drug-sensing hydrogels for the inducible release of biopharmaceuticals. *Nat. Mater.*, 2008; 7 (10): 800–804. doi: 10.1038/nmat2250
36. Masters K.S. Covalent growth factor immobilization strategies for tissue repair and regeneration. *Macromol. Biosci.*, 2011; 11 (9): 1149–1163. doi: 10.1002/mabi.201000505
37. Martino M.M., Briquez P.S., Maruyama K., Hubbell J.A. Extracellular matrix-inspired growth factor delivery systems for bone regeneration. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2015; 94: 41–52. doi: 10.1016/j.addr.2015.04.007
38. Naito Y., Shinoka T., Duncan D., Hibino N., Solomon D., Cleary M., Rathore A., Fein C., Church S., Breuer C. Vascular tissue engineering: towards the next generation vascular grafts. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2011; 63 (4-5): 312–323. doi: 10.1016/j.addr.2011.03.001
39. Freeman I., Cohen S. The influence of the sequential delivery of angiogenic factors from affinity-binding alginate scaffolds on vascularization. *Biomaterials*, 2009; 30 (11): 2122–2131. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.057
40. Freeman I., Kedem A., Cohen S. The effect of sulfation of alginate hydrogels on the specific binding and controlled release of heparin-binding proteins. *Biomaterials*, 2008; 29 (22): 3260–3268. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.04.025
41. Yu Yu., Dai K., Gao Z., Tang W., Shen T., Yuan Yu., Wang J., Liu C. Sulfated polysaccharide directs therapeutic angiogenesis via endogenous VEGF secretion of macrophages. *Sci. Adv.*, 2021; 7(7): eabd8217. doi: 10.1126/sciadv.abd8217
42. Martino M.M., Brkic S., Bovo E., Burger M., Schaefer D.J., Wolff T., Gürke L., Briquez P.S., Larsson H.M., Gianni-Barrera R., Hubbell J.A., Banfi A. Extracellular matrix and growth factor engineering for controlled angiogenesis in regenerative medicine. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2015; 3: 45. doi: 10.3389/fbioe.2015.00045
43. Li H., Shang Yu., Zeng J., Matsusaki M. Technology for the formation of engineered microvascular network

- models and their biomedical applications. *Nano Converg.*, 2024; 11: 10. doi: 10.1186/s40580-024-00416-7
44. Zhang W., Choi J.K., He Xi. Engineering microvascularized 3D tissue using alginate-chitosan microcapsules. *J. Biomater. Tissue Eng.*, 2017; 7 (2): 170–173. doi: 10.1166/jbt.2017.1547
45. Sommer A., Rifkin D.B. Interaction of heparin with human basic fibroblast growth factor: protection of the angiogenic protein from proteolytic degradation by a glycosaminoglycan. *J. Cell. Physiol.*, 1989; 138: 215–220.
46. Janse van Rensburg A., Davies N.H., Oosthuysen A., Chokoza C., Zilla P., Bezuidenhout D. Improved vascularization of porous scaffolds through growth factor delivery from heparinized polyethylene glycol hydrogels. *Acta Biomater.*, 2017; 49: 89–100. doi: 10.1016/j.actbio.2016.11.036
47. Abdul Sisak M.A., Louis F., Matsusaki M. *In vitro* fabrication and application of engineered vascular hydrogels. *Polym. J.*, 2020; 52: 871–881. doi: 10.1038/s41428-020-0331-z
48. Zou D., Zhang Z., He J., Zhang K., Ye D., Han W., Zhou J., Wang Y., Li Q., Liu X., Zhang X., Wang S., Hu J., Zhu C., Zhang W., Zhou Y., Fu H., Huang Y., Jiang X. Blood vessel formation in the tissue-engineered bone with the constitutively active form of HIF-1 α mediated BMSCs. *Biomaterials*, 2012; 33 (7): 2097–2108. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.11.053
49. Sun G., Shen Y.I., Kusuma S., Fox-Talbot K., Steenbergen C.J., Gerecht S. Functional neovascularization of biodegradable dextran hydrogels with multiple angiogenic growth factors. *Biomaterials*, 2011; 32 (1): 95–106. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.08.091
50. Bai Y., Bai L., Zhou J., Chen H., Zhang L. Sequential delivery of VEGF, FGF-2 and PDGF from the polymeric system enhance HUVECs angiogenesis *in vitro* and CAM angiogenesis. *Cell Immunol.*, 2018; 323: 19–32. doi: 10.1016/j.cellimm.2017.10.008
51. Brudno Y., Ennett-Shepard A.B., Chen R.R., Aizenberg M., Mooney D.J. Enhancing microvascular formation and vessel maturation through temporal control over multiple pro-angiogenic and pro-maturation factors. *Biomaterials*, 2013; 34 (36): 9201–9209. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.08.007
52. Carmeliet P., Jain R.K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 2011; 473 (7347): 298–307. doi: 10.1038/nature10144
53. Greenberg J.I., Shields D.J., Barillas S.G., Acevedo L.M., Murphy E., Huang J., Schepke L., Stockmann C., Johnson R.S., Angle N., Cheres D.A. A role for VEGF as a negative regulator of pericyte function and vessel maturation. *Nature*, 2008; 456 (7223): 809–813. doi: 10.1038/nature07424
54. Nishiguchi A., Yoshida H., Matsusaki M., Akashi M. Rapid construction of three-dimensional multilayered tissues with endothelial tube networks by the cell-accumulation technique. *Adv. Mater.*, 2011; 23: 3506–3510. doi: 10.1002/adma.201101787
55. Zamiri P., Masli S., Streilein J.W., Taylor A.W. Pigment epithelial growth factor suppresses inflammation by modulating macrophage activation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2006; 47 (9): 3912–3918. doi: 10.1167/iops.05-1267
56. Hao X., Silva E.A., Mensson-Broberg A., Grinnemo K.H., Siddiqui A.J., Dellgren G., Wårdell E., Brodin L.A., Mooney D.J., Sylvén C. Angiogenic effects of sequential release of VEGF-A165 and PDGF-BB with alginate hydrogels after myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.*, 2007; 75 (1): 178–185. doi: 10.1016/j.cardiores.2007.03.028
57. Chen R.R., Silva E.A., Yuen W.W., Mooney D.J. Spatio-temporal VEGF and PDGF delivery patterns blood vessel formation and maturation. *Pharm. Res.*, 2007; 24 (2): 258–264. doi: 10.1007/s11095-006-9173-4
58. Nillesen S.T., Geutjes P.J., Wismans R., Schalkwijk J., Daamen W.F., van Kuppevelt T.H. Increased angiogenesis and blood vessel maturation in acellular collagen-heparin scaffolds containing both FGF2 and VEGF. *Biomaterials*, 2007; 28 (6): 1123–1131. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.10.029
59. Zieris A., Prokoph S., Levental K.R., Welzel P.B., Grimmer M., Freudenberg U., Werner C. FGF-2 and VEGF functionalization of starPEG-heparin hydrogels to modulate biomolecular and physical cues of angiogenesis. *Biomaterials*, 2010; 31 (31): 7985–7994. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.07.021
60. Hori Y., Ito K., Hamamichi S., Ozawa Y., Matsui J., Umeda I.O., Fujii H. Functional characterization of VEGF- and FGF-induced tumor blood vessel models in human cancer xenografts. *Anticancer. Res.*, 2017; 37 (12): 6629–6638. doi: 10.21873/anticancer.12120
61. Khan S., Villalobos M.A., Choron R.L., Chang S., Brown S.A., Carpenter J.P., Tulenko T.N., Zhang P. Fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor play a critical role in endothelialization from human adipose-derived stem cells. *J. Vasc. Surg.*, 2017; 65 (5): 1483–1492. doi: 10.1016/j.jvs.2016.04.034
62. Gavard J., Patel V., Gutkind J.S. Angiopoietin-1 prevents VEGF-induced endothelial permeability by sequestering Src through mDia. *Dev. Cell.*, 2008; 14 (1): 25–36. doi: 10.1016/j.devcel.2007.10.019
63. Ngok S.P., Geyer R., Liu M., Kourtidis A., Agrawal S., Wu C., Seerapu H.R., Lewis-Tuffin L.J., Moodie K.L., Huvelde D., Marx R., Baraban J.M., Storz P., Horowitz A., Anastasiadis P.Z. VEGF and Angiopoietin-1 exert opposing effects on cell junctions by regulating the Rho GEF Syx. *J. Cell. Biol.*, 2012; 199 (7): 1103–1115. doi: 10.1083/jcb.201207009
64. Hellberg C., Ostman A., Heldin C.H. PDGF and vessel maturation. *Recent Results Cancer Res.* 2010; 180: 103–114. doi: 10.1007/978-3-540-78281-0_7
65. Anisimov A., Tvorogov D., Alitalo A., Leppänen V.M., An Y., Han E.C., Orsenigo F., Gaál E.I., Holopainen T., Koh Y.J., Tammela T., Korpisalo P., Keskitalo S., Jeltsch M., Ylä-Herttuala S., Dejana E., Koh G.Y., Choi C., Saharinen P., Alitalo K. Vascular endothelial growth factor-angiopoietin chimera with improved properties for therapeutic angiogenesis. *Circulation*, 2013; 127 (4): 424–434. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.127472
66. Nissen L.J., Cao R., Hedlund E.M., Wang Z., Zhao X., Wetterskog D., Funa K., Bråkenhielm E., Cao Y. Angiogenic factors FGF2 and PDGF-BB synergistically promote murine tumor neovascularization and metastasis. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117 (10): 2766–2777. doi: 10.1172/JCI32479

67. Richardson T.P., Peters M.C., Ennett A.B., Mooney D.J. Polymeric system for dual growth factor delivery. *Nat. Biotechnol.*, 2001; 19 (11): 1029–1034. doi: 10.1038/nbt1101-1029
68. Banfi A., von Degenfeld G., Gianni-Barrera R., Reginato S., Merchant M.J., McDonald D.M., Blau H.M. Therapeutic angiogenesis due to balanced single-vector delivery of VEGF and PDGF-BB. *FASEB J.*, 2012; 26 (6): 2486–2497. doi: 10.1096/fj.11-197400
69. Kang D.H., Hughes J., Mazzali M., Schreiner G.F., Johnson R.J. Impaired angiogenesis in the remnant kidney model: II. Vascular endothelial growth factor administration reduces renal fibrosis and stabilizes renal function. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2001; 12 (7): 1448–1457. doi: 10.1681/ASN.V1271448
70. Kupatt C., Hinkel R., Pfosser A., El-Aouni C., Wuchrer A., Fritz A., Globisch F., Thormann M., Horstkotte J., Lebherz C., Thein E., Banfi A., Boekstegers P. Cotransfection of vascular endothelial growth factor-A and platelet-derived growth factor-B via recombinant adeno-associated virus resolves chronic ischemic malperfusion role of vessel maturation. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2010; 56 (5): 414–422. doi: 10.1016/j.jacc.2010.03.050
71. Мамаева М.Г., Демко И.В., Вериге Я.И., Крапошина А.Ю., Соловьева И.А., Хендогина В.Т. Маркеры системного воспаления и эндотелиальной дисфункции у больных хронической обструктивной болезнью легких. *Сиб. мед. обозрение*, 2014; (1): 12–19 [Mamaeva M.G., Demko I.V., Verigo Y.I., Kraposhina A.Yu., Solovieva I.A., Hendogina V.T. Markers of systemic inflammation and endothelial dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Siberian Medical Review*, 2014; (1): 12–19. (In Russ.)].
72. Кириченко А.К., Патлатая Н.Н., Шаркова А.Ф., Певнев А.А., Конторов К.В., Шаповалова О.В., Горбань М.Е., Большаков И.Н. Патоморфоз магистральных сосудов конечностей при экспериментальном атерогенном воспалении. Роль адвентициально-интимальных взаимоотношений (обзор). *Соврем. технол. в мед.*, 2017; 9 (3): 157–163. doi: 10.17691/stm2017.9.3.20 [Kirichenko A.K., Patlataya N.N., Sharkova A.F., Pevnev A.A., Kontorov K.V., Shapovalova O.V., Gorban M.E., Bolshakov I.N. Pathomorphism of limb major vessels in experimental atherogenic inflammation. The role of adventitial intimal relations. Review. *Modern Technologies in Medicine*, 2017; 9 (3): 157–163. (In Russ.)]. doi: 10.17691/stm2017.9.3.20
73. Hasan A., Khatlab A., Islam M.A., Hweij K.A., Zeitouny J., Waters R., Sayegh M., Hossain M.M., Paul A. Injectable hydrogels for cardiac tissue repair after myocardial infarction. *Adv. Sci. (Weinh.)*, 2015; 2 (11): 1500122. doi: 10.1002/advs.201500122
74. Vieira T., Carvalho Silva J., Botelho do Rego A.M., Borges J.P., Henriques C. Electrospun biodegradable chitosan based-poly(urethane urea) scaffolds for soft tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, 2019; 103: 109819. doi: 10.1016/j.msec.2019.109819
75. Zhao N., Yue Z., Cui J., Yao Y., Song X., Cui B., Qi X., Han Z., Han Z.C., Guo Z., He Z.X., Li Z. IGF-1C domain-modified hydrogel enhances therapeutic potential of mesenchymal stem cells for hindlimb ischemia. *Stem. Cell. Res. Ther.*, 2019; 10 (1): 129. doi: 10.1186/s13287-019-1230-0
76. Pagano P.J., Guterman D.D. The adventitia: the outs and ins of vascular disease. *Cardiovasc. Res.*, 2007; 75 (4): 636–639. doi: 10.1016/j.cardiores.2007.07.006
77. Blatchley M.R., Gerecht S. Acellular implantable and injectable hydrogels for vascular regeneration. *Biomed. Mater.*, 2015; 10 (3): 034001. doi: 10.1088/1748-6041/10/3/034001
78. Mongiat M., Andreuzzi E., Tarticchio G., Paulitti A. Extracellular matrix, a hard player in angiogenesis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016; 17 (11): 1822. doi: 10.3390/ijms17111822
79. Minardi S., Pandolfi L., Taraballi F., Wang X., De Rosa E., Mills Z.D., Liu X., Ferrari M., Tasciotti E. Enhancing vascularization through the controlled release of platelet-derived growth factor-BB. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017; 9 (17): 14566–14575. doi: 10.1021/acsami.6b13760
80. Awada H.K., Johnson N.R., Wang Y. Dual delivery of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor coacervate displays strong angiogenic effects. *Macromol. Biosci.*, 2014; 14 (5): 679–686. doi: 10.1002/mabi.201300486
81. Johnson N.R., Wang Y. Coacervate delivery systems for proteins and small molecule drugs. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2014; 11(12): 1829–1832. doi: 10.1517/17425247.2014.941355
82. Liu M., Zeng X., Ma C., Yi H., Ali Z., Mou X., Li S., Deng Y., He N. Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone Res.*, 2017; 5: 17014. doi: 10.1038/boneres.2017.14
83. DeQuach J.A., Lin J.E., Cam C., Hu D., Salvatore M.A., Sheikh F., Christman K.L. Injectable skeletal muscle matrix hydrogel promotes neovascularization and muscle cell infiltration in a hindlimb ischemia model. *Eur. Cell Mater.*, 2012; 23: 400–412. doi: 10.22203/ecm.v023a31
84. Rao N., Agmon G., Tierney M.T., Ungerleider J.L., Braden R.L., Sacco A., Christman K.L. Engineering an injectable muscle-specific microenvironment for improved cell delivery using a nanofibrous extracellular matrix hydrogel. *ACS Nano*, 2017; 11 (4): 3851–3859. doi: 10.1021/acsnano.7b00093
85. Takeshita S., Zheng L.P., Brogi E., Kearney M., Pu L.Q., Bunting S., Ferrara N., Symes J.F., Isner J.M. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J. Clin. Invest.*, 1994; 93 (2): 662–670. doi: 10.1172/JCI117018
86. Freedman S.B., Isner J.M. Therapeutic angiogenesis for coronary artery disease. *Ann. Intern. Med.*, 2002; 136 (1): 54–71. doi: 10.7326/0003-4819-136-1-200201010-00011
87. Gupta R., Tongers J., Losordo D.W. Human studies of angiogenic gene therapy. *Circ. Res.*, 2009; 105 (8): 724–736. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.200386
88. Simons M., Annex B.H., Laham R.J., Kleiman N., Henry T., Dauerman H., Udelson J.E., Gervino E.V., Pike M., Whitehouse M.J., Moon T., Chronos N.A. Pharmacological treatment of coronary artery disease

- with recombinant fibroblast growth factor-2: double-blind, randomized, controlled clinical trial. *Circulation*, 2002; 105 (7): 788–793. doi: 10.1161/hc0802.104407
89. Karvinen H., Ylä-Herttua S. New aspects in vascular gene therapy. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2010; 10 (2): 208–211. doi: 10.1016/j.coph.2010.01.004
90. Simons M., Ware J.A. Therapeutic angiogenesis in cardiovascular disease. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2003; 2 (11): 863–871. doi: 10.1038/nrd1226
91. Henry T.D., Annex B.H., McKendall G.R., Azrin M.A., Lopez J.J., Giordano F.J., Shah P.K., Willerson J.T., Benza R.L., Berman D.S., Gibson C.M., Bajamonde A., Rundle A.C., Fine J., McCluskey E.R. VIVA Investigators. The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in ischemia for vascular angiogenesis. *Circulation*, 2003; 107 (10): 1359–1365. doi: 10.1161/01.cir.0000061911.47710.8a
92. Annex B.H. Therapeutic angiogenesis for critical limb ischaemia. *Nat. Rev. Cardiol.*, 2013; 10 (7): 387–396. doi: 10.1038/nrcardio.2013.70.
93. Bowling F.L., Rashid S.T., Boulton A.J. Preventing and treating foot complications associated with diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2015; 11 (10): 606–616. doi: 10.1038/nrendo.2015.130
94. Rouwkema J., Khademhosseini A. Vascularization and angiogenesis in tissue engineering: beyond creating static networks. *Trends. Biotechnol.*, 2016; 34 (9): 733–745. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.03.002
95. Butt O.I., Carruth R., Kutala V.K., Kuppusamy P., Moldovan N.I. Stimulation of peri-implant vascularization with bone marrow-derived progenitor cells: monitoring by *in vivo* EPR oximetry. *Tissue Eng.*, 2007; 13 (8): 2053–2061. doi: 10.1089/ten.2006.0225
96. Park J.E., Keller G.A., Ferrara N. The vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms: differential deposition into the subepithelial extracellular matrix and bioactivity of extracellular matrix-bound VEGF. *Mol. Biol. Cell.*, 1993; 4 (12): 1317–1326. doi: 10.1091/mbc.4.12.1317
97. Atanasova M., Whitty A. Understanding cytokine and growth factor receptor activation mechanisms. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2012; 47 (6): 502–530. doi: 10.3109/10409238.2012.729561
98. Rozario T., DeSimone D.W. The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view. *Dev. Biol.*, 2010; 341 (1): 126–140. doi: 10.1016/j.ydbio.2009.10.026
99. Finking G., Hanke H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885–1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. *Atherosclerosis*, 1997; 135 (1): 1–7. doi: 10.1016/s0021-9150(97)00161-5
100. Lee S., Valmikinathan C.M., Byun J., Kim S., Lee G., Mokarram N., Pai S.B., Um E., Bellamkonda R.V., Yoon Y.S. Enhanced therapeutic neovascularization by CD31-expressing cells and embryonic stem cell-derived endothelial cells engineered with chitosan hydrogel containing VEGF-releasing microtubes. *Biomaterials*, 2015; 63: 158–167. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.06.009
101. Singh S., Wu B.M., Dunn J.C. The enhancement of VEGF-mediated angiogenesis by polycaprolactone scaffolds with surface cross-linked heparin. *Biomaterials*, 2011; 32 (8): 2059–2069. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.11.038
102. Levenberg S., Rouwkema J., Macdonald M., Garfein E.S., Kohane D.S., Darland D.C., Marini R., van Blitterswijk C.A., Mulligan R.C., D'Amore P.A., Langer R. Engineering vascularized skeletal muscle tissue. *Nat. Biotechnol.*, 2005; 23 (7): 879–884. doi: 10.1038/nbt1109
103. Chen Y.C., Lin R.Z., Qi H., Yang Y., Bae H., Melero-Martin J.M., Khademhosseini A. Functional human vascular network generated in photocrosslinkable gelatin methacrylate hydrogels. *Adv. Funct. Mater.*, 2012; 22 (10): 2027–2039. doi: 10.1002/adfm.201101662
104. Santos M.I., Fuchs S., Gomes M.E., Unger R.E., Reis R.L., Kirkpatrick C.J. Response of micro- and macrovascular endothelial cells to starch-based fiber meshes for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2007; 28 (2): 240–248. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.08.006
105. Unger R.E., Dohle E., Kirkpatrick C.J. Improving vascularization of engineered bone through the generation of pro-angiogenic effects in co-culture systems. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2015; 94: 116–125. doi: 10.1016/j.addr.2015.03.012
106. Banno K., Yoder M.C. Tissue regeneration using endothelial colony-forming cells: promising cells for vascular repair. *Pediatr. Res.*, 2018; 83 (1-2): 283–290. doi: 10.1038/pr.2017.231
107. Perets A., Baruch Y., Weisbuch F., Shoshany G., Neufeld G., Cohen S. Enhancing the vascularization of three-dimensional porous alginate scaffolds by incorporating controlled release basic fibroblast growth factor microspheres. *J. Biomed. Mater. Res. A.*, 2003; 65 (4): 489–497. doi: 10.1002/jbm.a.10542
108. Newman A.C., Nakatsu M.N., Chou W., Gershon P.D., Hughes C.C. The requirement for fibroblasts in angiogenesis: fibroblast-derived matrix proteins are essential for endothelial cell lumen formation. *Mol. Biol. Cell.*, 2011; 22 (20): 3791–3800. doi: 10.1091/mbc.E11-05-0393
109. Berthod F., Symes J., Tremblay N., Medin J.A., Auger F.A. Spontaneous fibroblast-derived pericyte recruitment in a human tissue-engineered angiogenesis model *in vitro*. *J. Cell. Physiol.*, 2012; 227 (5): 2130–2137. doi: 10.1002/jcp.22943
110. Fischbach C., Mooney D.J. Polymers for pro- and anti-angiogenic therapy. *Biomaterials*, 2007; 28 (12): 2069–2076. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.12.029
111. Deepa R., Paul W., Anilkumar T.V., Sharma C.P. Differential healing of full thickness rabbit skin wound by fibroblast loaded chitosan sponge. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 2013; 3: 261–272. doi: 10.1166/jbt.2013.1094
112. Sun H., Wang X., Hu X., Yu W., You C., Hu H., Han C. Promotion of angiogenesis by sustained release of rhGM-CSF from heparinized collagen/chitosan scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, 2012; 100 (3): 788–798. doi: 10.1002/jbm.b.32512
113. Wang P.W., Liu J.L., Zhang T. *In vitro* biocompatibility of electrospun chitosan/collagen scaffold. *J. Nanomaterials*, 2013; 2013: 958172. doi: 10.1155/2013/958172
114. Sarrazin S., Lamanna W.C., Esko J.D. Heparan sulfate proteoglycans. *Cold Spring. Harb. Perspect.*

- Biol.*, 2011; 3 (7): a004952. doi: 10.1101/cshperspect.a004952
115. Thomas A.M., Gomez A.J., Palma J.L., Yap W.T., Shea L.D. Heparin-chitosan nanoparticle functionalization of porous poly(ethylene glycol) hydrogels for localized lentivirus delivery of angiogenic factors. *Biomaterials*, 2014; 35 (30): 8687–8693. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.06.027
 116. Mima Y., Fukumoto S., Koyama H., Okada M., Tanaka S., Shoji T., Emoto M., Furuzono T., Nishizawa Y., Inaba M. Enhancement of cell-based therapeutic angiogenesis using a novel type of injectable scaffolds of hydroxyapatite-polymer nanocomposite microspheres. *PLoS One*, 2012; 7 (4): e35199. doi: 10.1371/journal.pone.0035199
 117. Silva E.A., Kim E.S., Kong H.J., Mooney D.J. Material-based deployment enhances efficacy of endothelial progenitor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105 (38): 14347–14352. doi: 10.1073/pnas.0803873105
 118. Chen Y., Wang Z., Zhou L. Interleukin 8 inhibition enhanced cholesterol efflux in acetylated low-density lipoprotein-stimulated THP-1 macrophages. *J. Investig. Med.*, 2014; 62 (3): 615–620. doi: 10.2310/JIM.0000000000000049
 119. Doran A.C., Yurdagul A. Jr., Tabas I. Efferocytosis in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 2020; 20 (4): 254–267. doi: 10.1038/s41577-019-0240-6
 120. Gerlach B.D., Ampomah P.B., Yurdagul A. Jr., Liu C., Loring M.C., Wang X., Kasikara C., Kong N., Shi J., Tao W., Tabas I. Efferocytosis induces macrophage proliferation to help resolve tissue injury. *Cell Metab.*, 2021; 33 (12): 2445–2463. doi: 10.1016/j.cmet.2021.10.015
 121. Jahani M., Rezazadeh D., Mohammadi P., Abdolmaleki A., Norooznezhad A., Mansouri K. Regenerative medicine and angiogenesis; challenges and opportunities. *Adv. Pharm. Bull.*, 2020; 10: 490–501. doi: 10.34172/apb.2020.061
 122. Tang W., Liu Z., Si Y. Tunica arterial adventitia: a new exploration in intimal hyperplasia. *J. Vasc. Med. Surg.*, 2013; 1: 108. doi: 10.4172/2329-6925.1000108
 123. Ogeng'o J., Ominde B.S., Ongeti K., Olabu B., Obimbo M., Mwachaka P. Reappraisal of the structure of arterial Tunica adventitia and its involvement in atherosclerosis. *Anat. J. Africa*, 2020; 6: 824–833. doi: 10.4314/aja.v6i1.150685
 124. Ogeng'o J.A., Maseghe P., Ongeti K., Obimbo M., Olabu B. Tunica adventitia of the aorta in an active vascular compartment. *Anat. J. Afr.*, 2015; 4: 617–623.
 125. Mulligan-Kehoe M.J., Simons M. Vasa vasorum in normal and diseased arteries. *Circulation*, 2014; 129: 2557–2566. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007189
 126. Fugundes A., Pereira A.H., Correa K., de Oliveira M.T., Rodriguez R. Effects of removal of the adventitia of the descending aorta and structural alterations in the tunica media in pigs. *Rev. Col. Bras. Circ.*, 2012; 39: 133–138.
 127. Skilton M.R., Bousset L., Benard S., Douek P.C., Moulin P., Serusclat A. Carotid intima – media and adventitial thickening: comparison of new and established ultrasound and magnetic resonance imaging techniques. *Atherosclerosis*, 2011; 215: 405–410. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.12.036
 128. Stenmark K., Yeager M., El Kasmi K.C., Nozik-Grayck E., Gerasimovskaya E.V., Li M. The adventitia: essential regulator of vascular structure and function. *Ann. Rev. Physiol.*, 2013; 75: 23–47. doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183802
 129. Owens C.D., Gasper W.J., Walk J.P., Alley H.F., Conte M.S., Grenon S.M. Safety and feasibility of adjunctive dexamethasone infusion into the adventitia of the femoropopliteal artery following endovascular revascularization. *J. Vasc. Surg.*, 2014; 59: 1016–1024. doi: 10.1016/j.jvs.2013.10.051
 130. Torsney E., Hu Y., Xu Qi. Adventitial progenitor cells contribute to arteriosclerosis. *Trends Cardiovasc. Med.*, 2005; 15: 64–68. doi: 10.1016/j.tcm.2005.02.003
 131. Chang L., Villacorta L., Li R., Hamblin M., Xu W., Dou C., Zhang J., Wu J., Zeng R., Chen Y.E. Loss of perivascular adipose tissue on peroxisome proliferator-activated receptor- γ deletion in smooth muscle cells impairs intravascular thermoregulation and enhances atherosclerosis. *Circulation*, 2012; 126: 1067–1078. doi: 10.1161/circulationaha.112.104489
 132. Fitzgibbons T.P., Czech M.P. Epicardial and perivascular adipose tissues and their influence on cardiovascular disease: basic mechanisms and clinical associations. *J. Am. Heart Assoc.*, 2014; 3: e000582. doi: 10.1161/jaha.113.000582
 133. Huh J.Y., Park Y.J., Ham M., Kim J.B. Crosstalk between adipocytes and immune cells in adipose tissue inflammation and metabolic dysregulation in obesity. *Mol. Cells*, 2014; 37:365–371. doi: 10.14348/molcells.2014.0074

Сведения об авторах:

Игорь Николаевич Большаков, д-р мед. наук, проф. кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, Красноярск, Россия, ORCID: 0000-0002-1221-6373, e-mail: bol.bol@mail.ru

Дмитрий Васильевич Шиндякин, студент педиатрического факультета, Красноярск, Россия, e-mail: shindyakin.d@gmail.com

Андрей Константинович Кириченко, д-р мед. наук, проф. кафедры патологической анатомии, Красноярск, Россия, ORCID: 0000-0001-5416-7904, e-mail: 0000-0001-5416-7904

Валентина Артуровна Бахшян, студент лечебного факультета, Красноярск, Россия, e-mail: v.bahshyan@mail.ru

Сергей Викторович Архипкин, старший преподаватель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, Красноярск, Россия, ORCID: 0000-0002-5839-1732, e-mail: sergey1510@ya.ru

Information about the authors:

Igor N. Bolshakov, doctor of medical sciences, professor of the operative surgery and topographic anatomy department, Krasnoyarsk, Russia, ORCID: 0000-0002-1221-6373, e-mail: bol.bol@mail.ru

Dmitry V. Shindyakin, student of the pediatric faculty, Krasnoyarsk, Russia, e-mail: shindyakin.d@gmail.com

Andrey K. Kirichenko, doctor of medical sciences, professor of the pathological anatomy department, Krasnoyarsk, Russia, ORCID: 0000-0001-5416-7904, e-mail: krasak.07@mail.ru

Valentina A. Bahshyan, student of the faculty of medicine, Krasnoyarsk, Russia, e-mail: bahshyan@mail.ru

Sergey V. Arkhipkin, senior lecturer of operative surgery and topographic anatomy department, Krasnoyarsk, Russia, ORCID: 0000-0002-5839-1732, e-mail: sergey1510@ya.ru

Статья поступила 03.03.2025

После доработки 28.05.2025

Принята к печати 21.06.2025

Received 03.03.2025

Revision received 28.05.2025

Accepted 21.06.2025

