

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 20858

(13) С1

(46) 2017.02.28

(51) МПК

A 61F 2/08 (2006.01)

A 61L 27/34 (2006.01)

(54)

СПОСОБ ПОДГОТОВКИ СЕТЧАТОГО ЭНДОПРОТЕЗА ДЛЯ ГЕРНИОПЛАСТИКИ

(21) Номер заявки: а 20131552

(22) 2013.12.20

(43) 2015.08.30

(71) Заявители: Государственное учреждение "Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека"; Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Берещенко Валентин Владимирович; Петренев Даниил Рудольфович; Лызиков Анатолий Николаевич; Надыров Эльдар Аркадьевич (ВУ)

(73) Патентообладатели: Государственное учреждение "Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека"; Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет" (ВУ)

(56) US 6287316 B1, 2001.
RU 2316290 C2, 2008.
RU 2143868 C1, 2000.

(57)

Способ подготовки сетчатого эндопротеза для герниопластики, заключающийся в том, что на поверхность сетчатого эндопротеза наносят 5-15 %-ный раствор поликапролактона в хлороформе в количестве 0,2 мл/см² и экспонируют в течение 5-10 мин до полного высыхания с образованием слоя поликапролактона толщиной от 400 нм до 5 мкм, затем эндопротез выдерживают в 96 %-ном водном растворе этанола в течение 5-30 мин и подвергают низкотемпературной стерилизации.

Изобретение относится к медицине, конкретно к общей хирургии, и может быть использовано для аутопластики грыжевых ворот при средних, больших и гигантских вентральных грыжах.

Известно, что изменение состояние соединительнотканых образований брюшной стенки пациента играет значительную роль в образовании грыжи, особенно в образовании их рецидивов. Стимулирование репаративных процессов в ране способствует формированию прочного соединительнотканного рубца, надежно укрепляющего зону герниопластики.

Одной из причин возникновения грыж и их рецидивов является врожденная или приобретенная неполноценность соединительнотканых образований передней брюшной стенки и в организме в целом. Это связано с недифференцированной дисплазией соединительной ткани, характеризующейся дефектами основного вещества соединительной ткани и волокнистых структур, приводящих к нарушению формообразования органов и систем [1, 2]. У пациентов с грыжами существует дисбаланс в отношении коллагена первого и третьего типа [4, 5]. Изменения в структуре соединительной ткани приводят к снижению прочности мышечно-апоневротического каркаса передней брюшной стенки, что снижает

ВУ 20858 С1 2017.02.28

ее сопротивляемость к повышению внутрибрюшного давления и способствует грыжеобразованию. Таким образом, несмотря на значительные успехи в развитии герниологии за последние годы, некоторые задачи остаются еще до конца не решенными. Разработка и внедрение в хирургическую практику наиболее оптимальных методов лечения грыж определяют актуальность данной проблемы и ее большое социальное значение. На основании вышеизложенного представляется перспективным использование для имплантации эндопротезов с нанесением на их поверхность покрытий, обладающих высокими адгезивными свойствами для клеточных элементов и созданием *in vitro* пулом аутофибробластов пациента с целью восполнения естественных компонентов соединительной ткани и местного восстановления соотношения коллагенов I и III типов.

Известны способы нанесения на поверхность нитей протеза различных биосовместимых полимеров или за счет включения в состав эндопротеза нитей из биосовместимых полимеров, что в некоторой степени улучшает адгезию клеток к эндопротезу, но не снимает проблему эффективного закрепления клеток на его поверхности при культивировании *in vitro*. Закрепление клеток на поверхности эндопротеза можно значительно улучшить за счет внесения в его состав слоев коллагена или желатина животного происхождения [3]. Однако при этом значительно снижается биологическая безопасность применения эндопротеза, т.к. аллогенные продукты животного происхождения могут вызывать иммунизацию организма, содержать пирогены и возбудителей заболеваний. Также его потребительские характеристики вследствие снижения срока годности изделия, времени гарантированного сохранения стерильности и в отдельных случаях увеличения трудоемкости подготовки эндопротеза перед трансплантацией. Формирование же пленки из био-разлагаемого полимера в просветах ячеек эндопротеза позволяет решить проблему закрепления клеток без изменения технических характеристик эндопротеза и биобезопасности.

Известен сетчатый эндопротез для восстановительной хирургии, состоящий из синтетических волокон на основе полипропилена или полиэфира, отличающийся тем, что волокна покрыты биорезорбируемым биополимером поли-3-гидроксибутиратом молекулярной массы от 300 до 1500 кДа с массой покрытия от 1 до 10 мг/см² эндопротеза [6]. Однако известный эндопротез позволяет улучшить биосовместимость, тромборезистентность и обладает противоспаечными свойствами, но с его помощью невозможно контролировать и восполнять имеющиеся у конкретного пациента дефициты факторов регенерации, которые часто приводят к рецидиву заболевания.

Известен аллотрансплантат для пластики грыжевых ворот, состоящий из биосовместимой полимерной мелкоячеистой сетки, отличающийся тем, что сетка заключена между двумя слоями губки из восстановленного ателопептидного коллагена с антибактериальными свойствами, с толщиной слоев 1-3 мм и периодом резорбции в тканях менее 30 суток [7]. Однако известный аллотрансплантат не обладает способностью возмещать дефицит факторов, участвующих в образовании и ремоделировании физиологического соотношения коллагенов I и II типов у конкретного пациента. Из доступных источников не выявлено информации о культивировании и степени адгезии клеточных элементов на поверхностях известных трансплантатов, что имеет важное значение в лечении грыж у пациентов с дисплазией соединительной ткани.

В результате патентно-информационного поиска не выявлено наиболее близких технических решений, направленных на подготовку самого сетчатого эндопротеза для выполнения герниопластики.

Задачей изобретения является разработка способа подготовки сетчатого эндопротеза, позволяющего предупредить рецидивные процессы у пациента с дисплазией соединительной ткани, снизить местные инфекционные осложнения и предотвратить реакцию отторжения трансплантата после герниопластики.

Задача решается за счет того, что способ подготовки сетчатого эндопротеза для герниопластики заключается в том, что на поверхность сетчатого эндопротеза наносят

5-15 %-ный раствор поликапролактона в хлороформе в количестве 0,2 мл/см, и экспонируют в течение 5-10 мин до полного высыхания с образованием слоя поликапролактона толщиной от 400 нм до 5 мкм, затем эндопротез выдерживают в 96 %-ном водном растворе этанола в течение 5-30 мин и подвергают низкотемпературной стерилизации.

Таким образом, в подготовку сетчатого эндопротеза, представляющего собой биосовместимую полимерную мелкоячеистую сетку, входит нанесение на ее поверхность слоя эфирного полимера, например поликапролактона, в растворе хлороформа из расчета 0,2 мл/см². Затем экспонируют эндопротез с нанесенным на него полимерным покрытием до полного его высыхания в течение 5-10 мин с визуальным контролем до легкого помутнения нанесенного слоя полимера, в результате чего на поверхности волокон и в просветах ячеек сетки формируется покрытие с толщиной слоя от 400 нм до 5 мкм. Промывают и выдерживают эндопротез в 96 %-ном водном растворе этанола в течение 5-30 мин для удаления из полимерного слоя спирторастворимых примесей и частичной регидратации покрытия эндопротеза. Завершают подготовку эндопротеза низкотемпературной стерилизацией, например окисью этилена или плазмой перекиси водорода.

Иными словами, способ обеспечивает формирование своеобразной адгезионной матрицы в просвете ячеек эндопротеза и на поверхности эндопротеза, позволяющей выращивать аутологичные клетки.

Преимущества заявляемого технического решения является увеличение адгезионных свойств эндопротеза, возможность закрепления клеточных элементов на поверхности эндопротеза до имплантации путем культивирования аутологичных клеток *in vitro*, полная биосовместимость и биоразлагаемость матрицы из эфирного полимера, например поликапролактона.

Перед планируемой имплантацией эндопротеза выкраивают необходимый размер импланта соответствующей дефекту и экспонируют его в стерильном изотоническом растворе до 12 ч для регидратации. Затем выполняют выращивание на эндопротезе аутологичных клеток, таких как фибробласты, мезенхимальные стволовые клетки, *in vitro* классическим способом. Через 12-16 дней после выращивания аутологичных клеток на матрице и контроле на стерильность в условиях операционной выполняют имплантацию подготовленного полипропиленового эндопротеза при выполнении герниопластики. Причем имплантацию можно выполнять, ограничивая полипропиленовый протез от органов брюшной полости при его имплантации *sub lay* или *in lay*.

Способ проиллюстрирован следующим примером: для изучения процессов клеточной адгезии *in vitro* использовали полипропиленовую хирургическую сетку "Эсфил" (производства Линтекс, Россия) диаметром нити 0,12 мм, толщиной сетки 0,5 мм, поверхностной плотностью 62 г/м², объемной пористостью 85 %. На поверхность сетчатого эндопротеза нанесли 10 %-ный раствор поликапролактона, в растворе хлороформа из расчета 0,2 мл/см² толщиной слоя от 400 нм до 5 мкм, экспонировали его до полного высыхания в течение 8 мин. Затем дегидратировали эндопротез в 96 %-ном растворе этанола в течение 26 мин. Вырезали диски из сетки диаметром 55 мм и стерилизовали их в плазме H₂O₂ на оборудовании STERRAD®.

В межлопаточной области у крысы линии "Вистар" под ингаляционным наркозом произвели забор кожи и подкожной клетчатки размерами 1 × 1 см для культивирования аутофибробластов. Образовавшийся дефект ушили узловыми кетгутowymi швами. Культуру первичных фибробластов кожи крысы получили стандартным методом изоляции фибробластов. Рутинное культивирование провели в полной среде при 37 °C и 5 % CO₂ в 60 мм чашке Петри для культивирования адгезионных культур (83.1801 SARSTEDT). В эксперимент брали клетки пятого пассажа. Для этого в чашки Петри диаметром 60 мм поместили образцы сетки, покрытых поликапролактоном, внесли 5 мл суспензии клеток (2 × 10⁶ кл) в полной среде (DMEM, 41966 GIBCO; L-глутамин 4 mM; 10 mM HEPES; 1 % антибиотик/антимикотик; 10 % ЭТС) и инкубировали при 37 °C и 5 % CO₂. Замену среды провели 2-3 раза в неделю. Прижизненное микроскопирование образцов в проходящем

свете провели на инвертированном микроскопе XDS-3FL4 (ОПТИКА, Италия). На 14 сутки сетки отмыли, фиксировали 2 %-ным раствором параформальдегида и выполнили флуоресцентные исследования. На 14 сутки культивирования *in vitro*, на поверхности полимерного покрытия наблюдали формирование относительно равномерного клеточного монослоя без деструкции полимера.

Для изучения реакции тканей на сетчатый протез с покрытием поликапролактоном и без покрытия, образцы размером 1x2 см имплантировали в межлопаточную область крысы под общим ингаляционным наркозом. Через 2 недели вывели животного из эксперимента и выполнили иссечение эндопротеза с прилегающими тканями. Провели фиксацию, гистологическую проводку и изготовили гистологические срезы. Препараты окрасили гематоксилином и эозином по стандартной методике. По результатам предварительного исследования покрытие не вызвало патологических реакций со стороны тканей организма. На 14 сутки после имплантации репаративные процессы у животного находились на стадии заживления и характеризовались закономерным формированием полноценной соединительной ткани.

Предлагаемое изобретение позволяет расширить арсенал средств для имплантационной герниопластики неосложненных грыж брюшной стенки, позволяет выполнять реконструктивные операции на основе клеточных технологий у пациентов с дисплазией соединительной ткани, позволяет создать на поверхности эндопротеза биосовместимую матрицу для улучшения показателей адгезии клеточных элементов соединительной ткани в месте имплантации, а также пригодную для предимплантационного закрепления на его поверхности аутологичных клеток *in vitro*.

Использование предлагаемого способа позволит создавать эндопротезы для герниопластики с заранее заданными свойствами для пациентов с дисплазией соединительной ткани, что снизит частоту осложнений и рецидивов заболевания, повысит качество жизни пациентов, а также позволит получить значимый экономический эффект за счет сокращения сроков временной нетрудоспособности и стационарного пребывания.

Источники информации:

1. Доценко Н.Я. и др. Проявление неклассифицируемой дисплазии соединительной ткани в зависимости от возраста: прогноз // Украинский ревматологічний журнал. - 2012. - № 1 (47). - С. 19-23.
2. Иванов И.С. и др. Анализ соотношения коллагена I и III типов в коже и апоневрозе у больных с вентральными грыжами // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. - 2013. - № 3 (6). - С. 331-334.
3. Богдан В.Г., Гаин Ю.М., Зафранская М.М., Лазнев К.В. Экспериментальная оценка возможности адгезии и роста мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на полипропиленовом сетчатом имплантате, применяемом для герниопластики // Медицинский журнал / -2009. - № 1. - С. 29-32.
4. Иванов И.С. и др. Анализ соотношения коллагена I и III типов в коже и апоневрозе у больных с вентральными грыжами // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. - 2013. - № 3 (6). - С. 331-334.
5. Иванов И.С. и др. Использование клеточных технологий с целью улучшения свойств соединительной ткани в эксперименте // Новости хирургии. - 2012. - № 4 (20). - С. 3-8.
6. RU 2316290, МПК А 61F 2/00, D 06M 16/00, 2008.
7. RU 2143868, МПК А 61F 2/08, А 61L 27/00, 2000.