

**ОПИСАНИЕ  
ИЗОБРЕТЕНИЯ  
К ПАТЕНТУ**  
(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **24188**

(13) **С1**

(46) **2024.02.28**

(51) МПК

**A 61L 27/34** (2006.01)

**A 61L 27/52** (2006.01)

**(54) ГИДРОГЕЛЕВАЯ ПОЛИМЕРНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ПОКРЫТИЯ  
СИНТЕТИЧЕСКИХ СОСУДИСТЫХ ИМПЛАНТАТОВ**

(21) Номер заявки: а 20210246

(22) 2021.08.19

(43) 2023.04.30

(71) Заявители: Государственное научное учреждение "Институт механики металлополимерных систем имени В.А.Белого Национальной академии наук Беларуси"; Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Шаповалов Виктор Михайлович; Цветкова Елена Александровна; Дорошко Евгений Юрьевич; Зяцьков Алексей Александрович; Тапальский Дмитрий Викторович; Зотов Сергей Валентинович; Гольдаде Виктор Антонович; Винидиктова Наталья Сергеевна; Каплан Марк Львович; Лызигов Алексей Анатольевич (ВУ)

(73) Патентообладатели: Государственное научное учреждение "Институт механики металлополимерных систем имени В.А.Белого Национальной академии наук Беларуси"; Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет" (ВУ)

(56) RU 2519103 C2, 2014.

RU 2462273 C1, 2012.

RU 2447902 C2, 2012.

EA 009598 B1, 2008.

ЦВЕТКОВА Е.А. и др. Материал для эндопротеза кровеносного сосуда на основе высокомолекулярных соединений. Вестник технологического университета, 2016, т. 19, № 20, с. 57-61.

(57)

Гидрогелевая полимерная композиция для покрытия синтетических сосудистых имплантатов, содержащая поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, хитозан, L-аспарагиновую или гиалуроновую кислоту и воду при следующем соотношении компонентов, мас. %:

поливиниловый спирт	3,0-10,0
поливинилпирролидон	3,0-7,0
хитозан	2,0-10,0
L-аспарагиновая или гиалуроновая кислота	0,1-3,0
вода	остальное.

Изобретение относится к медицине, а именно к имплантатам для сосудистой хирургии.

Лечение пациентов с облитерирующими заболеваниями артерий является одним из наиболее проблемных разделов сосудистой хирургии. У 75-90 % пациентов основной причиной развития облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей является атеросклеротическое поражение сосудистого русла. Основную роль в лечении окклюзи-

**ВУ 24188 С1 2024.02.28**

онного поражения сосудистого русла занимает хирургическая реваскуляризация. В результате усовершенствования материалов и способов изготовления протезов кровеносных сосудов к настоящему времени созданы синтетические протезы, выполненные на основе стабильных полимеров, не деградирующих в биологических средах. Изготовленные из них протезы не могут замещаться нативной тканью и после установки сохраняются в организме человека в течение всего времени эксплуатации. Наиболее часто используемыми оказались нетекстильные протезы из политетрафторэтилена и текстильные тканые и вязаные протезы из полиуретана (дакрон) и полиэтилентерефталата (фторлон-лавсановые) с покрытием на основе желатина, антикоагулянтных и антибактериальных веществ. Первичная проходимость синтетических протезов в период до 30 дней после операции колеблется от 89 до 99,7 %. Тромбоз и инфицирование искусственных сосудистых протезов и их анастомозов приводит к повторной ишемии нижней конечности и ставит под угрозу ее дальнейшую жизнеспособность и эффективность лечения. Тромбозы протезов в послеоперационном периоде происходят с частотой от 6 до 42 %, а частота случаев инфицирования находится в пределах от 1,5 до 6 % и за последние 30-35 лет не имеет тенденции к существенному снижению [1].

Различают два типа протезных инфекций: ранняя, возникающая в течение 4 месяцев, и поздняя, возникающая более чем через 4 месяца после операции. Наиболее часто инфицирование происходит грампозитивными видами *Staphylococcus epidermidis* и *aureus*, а также грамотрицательными микроорганизмами вида *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. vulgaris*. Патогенез инфекции заключается в образовании многослойной биопленки на поверхности протеза, которая является продукцией протеолитических ферментов. Бактериальная поверхность заряжена отрицательно, причем у грамположительных микроорганизмов это обусловлено наличием в клеточной стенке тейхоевых и липотейхоевых кислот, а у грамотрицательных - присутствием кислых липополисахаридов и белков. Неспецифическое прикрепление микроорганизмов в большей степени обратимо. Специфическая адгезия осуществляется в результате молекулярных взаимодействий между адгезинами микроорганизмов и рецепторами клеток хозяина [2].

Сосудистые протезы являются инородными для организма телами и могут быть инфицированы либо первично во время имплантации, либо вторично - гематогенным, лимфогенным или контактным путем. Нагноение послеоперационных ран обусловлено ослаблением адаптационных возможностей организма, снижением регенерационной способности тканей и их устойчивости к инфекции, наличием хронических трофических расстройств у значительной части пациентов в связи с длительным анамнезом заболевания. Частота таких осложнений варьирует от 4 до 21 %, а после операции у больных с IV стадией артериальной недостаточности количество гнойно-септических осложнений колеблется от 56,9 до 64,7 % и не зависит от общесистемной антибиотикопрофилактики. Частота инфекционных осложнений достигает 85 % у больных с хронической критической ишемией нижних конечностей, почти у 20 % больных с глубоким нагноением ран развивается аррозивное кровотечение. Такая частота развития инфекции частично связана и с самим присутствием инородного тела [2, 3].

Таким образом, проблема разработки биосовместимого биологического покрытия на сосудистый протез для защиты от инфекции не снята и остается одной из актуальных для медицины и биоматериаловедения.

Известна обработка поверхности тканых сосудистых протезов растворами таких белков, как коллаген и желатин, с последующей химической фиксацией белкового слоя обработкой формальдегидом или глутаральдегидом, импрегнирование серебром, введение в покрытие трансплантата гепарина и замачивание в растворе антибиотиков [4]. Неплохие результаты модифицирования текстильного материала показывает биодеградируемое герметизирующее покрытие на основе желатина с антимикробными и тромборезистентными свойствами. За период наблюдения от 2 месяцев до 16 лет у 1,9 % пациентов тромбоз

наступил в ближайшем послеоперационном периоде, у 4,1 % - в отдаленном периоде. Поверхностное нагноение послеоперационной раны наблюдалось в 4,3 % случаев, глубокое нагноение - в 1,4 % случаев [5]. Однако основной компонент покрытия - это желатин, который является хорошей питательной средой для патогенов.

Известна композиция [6], в которой предусматривается нанесение на поверхность изделий гидрогелевого покрытия на основе природных биodeградируемых полимеров, где в качестве природного биodeградируемого полимера используют полисахарид хитозан или его производные (сульфированный или карбоксиметилированный хитозан) в сочетании с полиэфиром - поли-3-гидроксibuтиратом.

Эта композиция имеет некоторые недостатки. Хитозан и его производные в целом ускоряют ранозаживляющие процессы, однако их вклад в первую фазу заживления раны после хирургического вмешательства, которое сопровождается кровотечением из поврежденных сосудов, отсутствует, при этом на фазе воспаления (первые 24 часа) начинается миграция в рану лейкоцитов. В результате в ране вначале доминируют полиморфно-ядерные лейкоциты, а позже - макрофаги и лимфоциты, которые регулируют создание соединительного матрикса формирующегося рубца путем выделения различных цитокинов, а хитозановый компонент вклад в механизм заживления еще не вносит.

Наиболее близкой по технической сущности к заявляемому объекту является биорезорбируемая гидрогелевая полимерная композиция для сердечно-сосудистой хирургии [7], содержащая сшитые биорезорбируемые полимеры - желатин, хитозан или смеси - хитозан и желатин, хитозан и полигидроксibuтират, L-карнозин, гепарин, дипиридамо́л, ацетилсалициловую кислоту, ципрофлоксацин, метронидазол, обладающая высокой механической прочностью не менее 1,2 МПа.

Недостатки прототипа:

в композиции присутствует желатин, который быстро разрушается под действием среды организма, а также является питательной средой для микроорганизмов, которые в избытке присутствуют в операционной ране;

наличие в композиции большого количества лекарственных средств на первом этапе (в течение недели) будет подавлять микрофлору, но в этот период не позволит начать восстановление близлежащих травмированных тканей из-за наличия гепарина и ацетилсалициловой кислоты, которые являются сильными антикоагулянтами и антиагрегантами;

гель с относительно высокой прочностью (1,2 МПа) не даст возможности для эпителизации, поскольку избыточная механическая прочность наряду с эластичностью нужна протезу, а на поверхности сердечно-сосудистого имплантата более важна защита от микроорганизмов.

В связи с этим актуальным вопросом является разработка биodeградируемого и биосовместимого покрытия на синтетический сосудистый имплантат для защиты от инфекции, лишённого вышеуказанных недостатков.

Задачи, на решение которых направлено изобретение:

создание стабильного эластичного пористого композитного материала, модифицирующего протез сосуда и обладающего липкостью, адаптированной к протезу сосуда;

обеспечение возможности введения в композит функциональных компонентов с регулируемой кинетикой их выделения;

обеспечение подавления микрофлоры без нанесения ущерба тканям.

Требуемый технический результат достигается тем, что заявляется гидрогелевая полимерная композиция для покрытия синтетических сосудистых имплантатов, содержащая поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, хитозан, L-аспарагиновую или гиалурионовую кислоту и воду при следующем соотношении компонентов, мас. %:

поливиниловый спирт	3,0-10,0
поливинилпирролидон	3,0-7,0
хитозан	2,0-10,0

аминокислоты (L-аспарагиновая или гиалуроновая) 0,1-3,0  
вода остальное.

Сущность изобретения состоит в следующем. Основой гелевой системы является поливиниловый спирт (ПВС) - нетоксичный полимер, который легко выводится из организма человека. Накоплен 50-летний опыт использования ПВС в качестве плазмозаменителя ("Полиглюкин", "Гемодез", "Поливинол"), дренирующих и ускоряющих заживление средств лечения ран, искусственных биологических тканей (роговая оболочка, стекловидное тело), биоцидных материалов, которые длительно находятся в организме, создавая лечебный эффект при постепенном рассасывании. Водные растворы ПВС обладают такими свойствами, как нетоксичность, отсутствие сенсibiliзирующего, мутагенного, канцерогенного и тератогенного действия [8].

Поливинилпирролидон, как водорастворимый полимер, составленный из мономерных единиц N-винилпирролидона, в водных композициях с ПВС образует устойчивую систему. Другое преимущество поливинилпирролидона лежит в его дезинтоксикационном действии, заключающемся в способности к комплексообразованию, а механизм лечебного действия заключается в способности активно связывать токсины и выводить из организма.

Использование хитозана основано на давно известной информации, что лекарственные препараты на основе хитина, хитозана и их производных широко используются в качестве иммуностимуляторов, для агрегации клеток лейкемии, а также для снятия болевых ощущений [9]. Одним из специфических механизмов действия модифицированного хитозана является стимуляция образования фибробластов с особыми морфофункциональными свойствами.

Для регулирования эластичности, адгезии и кислотности гелевых композитов для имплантации целесообразно использование аминокислот. Введение аминокислот также позволяет инициировать образование их комплексов с хитозаном. В эксперименте использовали L-аспарагиновую и гиалуроновую кислоты.

L-аспарагиновая кислота - заменимая кислая аминокислота - представляет собой эндогенное вещество, играющее важную роль для правильного функционирования нервной и эндокринной систем, а также способствующее выработке некоторых гормонов (соматотропин, тестостерон, прогестерон). На организм она действует как возбуждающий нейротрансмиттер центральной нервной системы. Кроме того, она используется в качестве биодобавок, бактерицидного средства, применяется для синтеза белка и роста мышц, а также участвует в создании молекул ДНК.

Гиалуроновая кислота - несulfированный гликозаминогликан, принимающий значительное участие в пролиферации и миграции клеток.

В качестве антибиотика использовали ванкомицин - антибиотик из группы трициклических гликопептидов. В настоящее время он является наименее преодолимым для суперрезистентных бактерий, а механизм его бактерицидного действия обусловлен ингибированием биосинтеза клеточной стенки. Также он может изменять проницаемость клеточной мембраны бактерий и изменять ход синтеза РНК.

**Пример** получения композиции для покрытия на синтетический имплантат.

В эксперименте использовали ПВС (ГОСТ 10779, марка М ХЧ), поливинилпирролидон (ПВП) K12 (3500), CAS Number: 9003-39-8, хитозан низкомолекулярный (30-100), CAS Number: 9012-76-4, L-аспарагиновую кислоту  $C_4H_7NO_4$  (L-Aspartic acid) 200-291-6, CAS Number: 56-84-8 (пр-ва Великобритании) и низкомолекулярную гиалуроновую кислоту 20-50 KDa (пр-ва Франции).

Формирование биодеградируемой гидрогелевой композиции для покрытия синтетических сосудистых имплантатов осуществляли в следующей последовательности: обработка образцов синтетического имплантата в СЧ-плазме, приготовление и нанесение покрытия (раствора) на имплантат, криообработка, сушка, обработка коронным разрядом, пропитка антибиотиком. Криообработка позволяет формировать упорядоченную нерастворимую в

воде матрицу, способную удерживать лекарственное средство [10]. Обработка коронным разрядом позволяет создать в материале электретное состояние, которое влияет на рост и метаболизм живой ткани и взаимодействует с биоэлектрическим полем организма [11, 12].

Композиции - заявляемую и указанную в прототипе - готовили по растворной технологии.

Формировали композит из расчета на 100 мл с точностью до  $\pm 0,0001$ . На водяной бане готовили раствор ПВС с концентрацией последнего 3, 5, 7 или 10 мас. %, проводя постоянный контроль температуры, которая не должна превышать  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Формирование геля (до приемлемой вязкости раствора) происходит при любой концентрации ПВС от 3 до 10 мас. %. При концентрации менее 3 мас. % гелеобразования не происходит, а выше 10 мас. % образуется очень вязкий раствор, в который затруднительно введение других ингредиентов.

Для эксперимента была выбрана концентрация 7 мас. % ПВС. Порошок ПВС растворяли в дистиллированной воде на водяной бане до образования относительно вязкой прозрачной консистенции ориентировочно в течение 1 ч при обязательном постоянном помешивании раствора.

В гель ПВС вводили 3 мас. % ПВП, который быстро растворялся, образуя гомогенную прозрачную смесь. Превышение концентрации ПВП свыше 10 мас. % может повлиять на ограничение эпителизации из-за его протекторных свойств, поэтому его и используют часто при заболеваниях суставов, хоть и не на очень длительный срок.

Параллельно готовили 3 % раствор L-аспарагиновой кислоты при температуре  $80-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ , затем в остывший до  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  раствор вводили хитозан (4 мас. %), гомогенизировали и оставляли в течение 4 суток при комнатной температуре с периодическим перемешиванием до полного растворения хитозана, т. е. до получения вязкого прозрачного раствора. Оптимальное содержание хитозана экспериментально было установлено в диапазоне от 4 до 8 мас. %. Количество аминокислоты было ограничено возможностями взаимодействия с ней хитозана с получением гомогенной прозрачной вязкой консистенции. Содержание хитозана в композиции ниже 2 мас. % недостаточно для обеспечения ее ранозаживляющих свойств и создания стабильного поляризованного (электретного) заряда. Повышение содержания хитозана выше 10 мас. % ограничено ростом вязкости, что затрудняет формирование композита.

Затем растворы смешивали в пропорции 1:1, т. е. (ПВС с ПВП) и (хитозан с кислотой) соответственно, и перемешивали с помощью магнитной мешалки до полной гомогенизации.

Параллельно готовили композиции, содержащие:

ПВС, ПВП, хитозан и 0,5 % р-р гиалуроновой кислоты;

ПВС, хитозан, L-аспарагиновую кислоту;

раствор-прототип.

Из промышленных образцов сосудистых протезов, предназначенных для имплантации, вырезали образцы размером не более  $10\times 10$  мм.

Образцы сосудистого протеза для обеспечения смачиваемости его поверхности и биосовместимости обрабатывали СЧ-плазмой в камере установки ВУП-4, оборудованной СЧ-30 с рабочей частотой 32 кГц.

Затем образцы погружали в раствор приготовленных гелей и выдерживали 10-15 минут, затем медленно извлекали и помещали в стерильные бюксы. Бюксы размещали в холодильной камере при температуре минус  $12\text{ }^{\circ}\text{C}$  на 24 ч строго в горизонтальном положении для получения одинакового по толщине покрытия. Криообработку образцов проводили по отработанной технологии [10] с целью формирования упорядоченной нерастворимой в воде матрицы, способной удерживать лекарственное средство. После двукратной криообработки образцы высушивали в течение 72 ч, после чего обрабатывали коронным зарядом отрицательной полярности с целью формирования электретного заряда. Образцы помеща-

ли на заземленный электрод, а сверху располагали игольчатый электрод, соединенный с источником высокого напряжения. На игольчатый электрод подавали потенциал от источника высокого напряжения. Напряженность поля коронного разряда составляла 20 кВ/см.

Формирование электретенного заряда основано на известном факте, что одним из важнейших следствий биоэлектретенного эффекта является рост тканей, обусловленный изменениями пространственных и временных параметров живой системы под влиянием собственного биополя организма, на возможность чего указывается в концепции полей в биологии. При операционных вмешательствах естественная конфигурация электрических полей нарушается, поэтому придание композиту электретенных свойств призвано скомпенсировать это нарушение. Очевидно, что на поляризационные процессы, спонтанно происходящие при структурировании гелевых систем в ходе их получения, влияет соотношение основных природных электретенгов, а именно хитозана и аминокислот, в том числе способных формировать комплексные соединения.

Финишные образцы перед проведением медико-биологических исследований погружали в 1 % раствор ванкомицина на 30 мин, т. е. до полного восстановления эластичности покрытия.

Проведена оценка наличия и продолжительности антибактериальной активности гидрогелевых композиций для покрытия синтетических сосудистых имплантатов в инфицированной ране лабораторных крыс.

Было сформировано пять групп, каждая из которых включала в себя по 40 однотипных образцов. Образцы представляли собой кусочки размерами не более 10×10 мм, вырезанные из полипропиленовых промышленно выпускаемых сосудистых имплантатов, на которые были нанесены разрабатываемые покрытия.

Первую группу составили образцы модифицированного сосудистого протеза, покрытие которого включало в свой состав ПВС, ПВП, хитозан, гиалуроновую кислоту, антибиотик (композиция I).

Вторую группу составили образцы, содержащие ПВС, ПВП, хитозан, L-аспарагиновую кислоту, антибиотик (композиция II).

Третью группу составили образцы, содержащие ПВС, хитозан, L-аспарагиновую кислоту, антибиотик (композиция III).

Четвертую группу составили образцы сосудистого кондуита без покрытия (IV).

Пятую группу составила композиция-прототип (V).

Раны животных инфицировали взвесью микробов, содержащей в 0,5-1 мл  $10^9$  микробных тел *Staphylococcus aureus* (St. aureus) ATCC 25923.

В исследование было включено 100 экспериментальных животных - белых крыс породы Вистар с массой тела 180-250 г в возрасте 3,5 месяца на момент начала исследования. Для двух исследуемых образцов использовали одно лабораторное животное, общую анестезию выполняли раствором "Хлороформ". На депилированной коже внутренней поверхности бедра крысы трижды производили обработку антисептиком "Йодискин". По истечении 5 мин скальпелем рассекалась кожа длиной 2-2,5 см, подкожная клетчатка и поверхностная фасция. Далее зажимом разводили края раны и подлежащие мышцы, затем в дно раны площадью 1-1,5 см<sup>2</sup> вводили взвесь микробов, содержащую в 0,5-1 мл  $10^9$  микробных тел *St. aureus*, и потом помещали два образца сосудистого протеза площадью 0,5-1 см<sup>2</sup> с покрытием I, II, III, IV или V (прототип). После этого, с целью создания герметичности, предотвращения травмирования и обсеменения, извне рану ушивали шелковой лигатурой 2,0.

Животные содержались в виварии Гомельского государственного медицинского университета. Доступ к воде и пище был свободным. Швы снимали на шестые сутки после операции и оценивали показатель "выживаемость/летальность". Животных выводили из эксперимента на четвертые, пятые, шестые и седьмые сутки от начала эксперимента. Ра-

боту проводили в соответствии с "Положением о порядке использования лабораторных животных в научно-исследовательских работах и педагогическом процессе Гомельского государственного медицинского института и методах по реализации требований биомедицинской этики" № 54-А от 23.05.2002 и постановлением МЗ РБ об утверждении Санитарных норм и правил "Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки" № 2 от 06.01.2017.

После выведения животного из эксперимента из раны извлекали имплантаты, но дополнительно до извлечения образцов тампоном брали мазок из раны с целью подтверждения контаминации раны *St. aureus* и определяли фермент лецитоветиллазу, а также стерильными пинцетами снимали покрытия. Образцы по одному помещали в подготовленные стерильные пробирки для последующего бактериологического исследования и в эппендорфы для молекулярно-генетического анализа.

Исследования образцов модифицированных синтетических сосудистых имплантатов включали в себя бактериологический и молекулярно-генетический методы. Качественный результат антибактериальной активности кондуитов за исследуемый период в группах подтверждался при трех и более повторениях. Количественные признаки представлены в виде медианы. Анализ результатов проводили с использованием программного комплекса Excel 2013.

Для экстракции ДНК, проведения ПЦР, электрофоретической детекции использовали коммерческие реагенты согласно инструкции производителя. Для проведения ПЦР использовали амплификатор Rotor-Gene Q 5plex HRM (Qiagen, Германия). Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью горизонтального гель-электрофореза (агарозный гель 1,7 %), используя электрофоретическую камеру фирмы Helicon и видеосистему фирмы Bio-Rad (США) GelDocXR. Для окрашивания применяли раствор бромистого этидия (концентрация 0,1-0,5 мкг/мл). В качестве отрицательного контроля использована вода (отсутствует амплификация); в качестве положительных контрольных образцов К+ использовали чистые бактериальные культуры с установленным видовым статусом *St. aureus*. Структура праймеров и ориентировочный размер ампликона представлены в табл. 1. Программа амплификации: денатурация 1 цикл - 95 °С, 3 мин; 37 циклов (94 °С - 60 с, 55 °С - 30 с, 72 °С - 90 с); финальная элонгация 1 цикл 72 °С - 3,5 мин.

Таблица 1

**Структура праймеров, используемых для выявления фрагмента гена термонуклеазы (Nuc) *St. aureus***

Название праймера	Нуклеотидная последовательность	Размер фрагмента, п.н.
Nuc-прямой	GCGATTGATGGTGATACGGTT	267
Nuc-обратный	AGCCAAGCCTTGACGAACATAAAGC	

При бактериологических исследованиях протезов экспериментальных групп, извлеченных на четвертые сутки, зафиксирован рост микробных тел *St. aureus* в 20 % случаев, или одном из пяти образцов модифицированного сосудистого протеза первой группы с КОЕ на протезе более 300. На остальных экспериментальных образцах роста *St. aureus* не выявлено (табл. 2). При бактериологических исследованиях протезов экспериментальных групп, извлеченных на пятые сутки, зафиксирован рост микробных тел *St. aureus* в 60 % случаев, или трех образцах модифицированного сосудистого протеза первой группы с КОЕ на протезе от 2 до более 300. На остальных экспериментальных образцах роста *St. aureus* не выявлено. На шестые сутки зафиксирован рост микробных тел *St. aureus* на поверхности четырнадцати из пятнадцати образцов с количеством КОЕ от 3 до более 300. В 20 % случаев, или на одном образце из второй группы, роста выявлено не было. Следует отметить, что на поверхности протезов второй группы на шестые сутки отмечалось

# BY 24188 C1 2024.02.28

наименьшее количество КОЕ (от 0 до 25) среди всех групп исследования. На седьмые сутки на поверхности всех образцов зафиксирован рост микробных тел *St. aureus* (табл. 2).

Таблица 2

## Результаты бактериологического исследования синтетических сосудистых протезов

Группы исследования	Срок наблюдения, сутки							
	4		5		6		7	
	КОЕ на протезе	Вид	КОЕ на протезе	Вид	КОЕ на протезе	Вид	КОЕ на протезе	Вид
I	роста нет	ЛВ(+)	2	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	>300	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	200	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	26	ЛВ(+)
II	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	80	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	3	ЛВ(+)	100	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	25	ЛВ(+)	7	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	13	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	18	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
III	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	250	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	40	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	60	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	200	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
IV (без покрытия)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
V (прототип)	20	ЛВ(+)	200	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	>300	ЛВ(+)	80	ЛВ(+)	>100	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)
	роста нет	ЛВ(+)	роста нет	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)	>300	ЛВ(+)

Примечание: ЛВ(+) - стафилококк с лецитовителлазой (*St. aureus*, им контаминировали раны); КОЕ - колониеобразующие единицы.

Результаты бактериологического исследования образцов без покрытия (по пять на каждый срок наблюдения), извлеченных на четвертые, пятые, шестые и седьмые сутки, показали, что на поверхности всех образцов был выявлен рост *St. aureus* с количеством КОЕ на протезе более 300 (табл. 2).

Результаты бактериологического исследования образцов пятой группы (прототипа) показали (табл. 2), что на четвертые сутки в 40 % случаев (или двух образцах) зафиксирован рост *St. aureus* с КОЕ на протезе от 20 до более 300. На образцах, извлеченных на пятые сутки, зафиксирован рост микробных тел *St. aureus* в 60 % случаев (или трех образцах) с КОЕ от 80 до более 300. На шестые и седьмые сутки на поверхности всех образцов пятой группы был выявлен рост *St. aureus* с количеством КОЕ на протезе более 300 (табл. 2).

При молекулярно-генетическом анализе имплантов четвертой группы, извлеченных на четвертые, пятые, шестые и седьмые сутки, получены одинаковые результаты - выявлена ДНК *St. aureus*.

При ПЦР-исследованиях имплантов экспериментальных групп, извлеченных на четвертые сутки, выявлена ДНК *St. aureus* в 40 % случаев, или двух из пяти образцов первой и пятой групп. На остальных экспериментальных образцах ДНК *St. aureus* не выявлено.

На пятые сутки выявлена ДНК *St. aureus* у всех образцов первой и пятой групп и в 40 % случаев, или двух из пяти образцов третьей группы. На остальных экспериментальных образцах ДНК *St. aureus* не выявлено.

На шестые сутки выявлена ДНК *St. aureus* у всех образцов первой, третьей, пятой групп. В 60 % случаев, или трех из пяти образцов второй группы, также выявлена ДНК *St. aureus*.

На седьмые сутки выявлена ДНК *St. aureus* у всех образцов первой, второй, третьей и пятой групп.

Исходя из заданных параметров оценки качественного результата по данным бактериологического и ПЦР-исследований имплантов по периодам исследования наблюдается совпадение результатов антибактериальной активности образцов второй и третьей групп и образцов первой и пятой групп (табл. 3).

Таблица 3

### Качественные результаты антибактериальной активности гидрогелевой композиции для покрытия сосудистых имплантатов

Группы исследования	Период исследования, сутки			
	4	5	6	7
I	роста нет	инфицированы	инфицированы	инфицированы
II	роста нет	роста нет	инфицированы	инфицированы
III	роста нет	роста нет	инфицированы	инфицированы
IV	инфицированы	инфицированы	инфицированы	инфицированы
V (прототип)	роста нет	инфицированы	инфицированы	инфицированы

Летальных случаев при моделировании инфицированной раны 100 экспериментальным животным не зафиксировано. Все раны были инфицированы *St. aureus*, что подтверждается результатами бактериологического исследования тампонов, которые использовали для взятия мазка из раны во время извлечения протезов (табл. 4). Количество КОЕ *St. aureus* в ране представлено в виде медианы и варьирует от  $10^5$  до  $10^7$ . Других видов стафилококка в ране выявлено не было. Таким образом, получена стойкая экспериментальная модель инфицированной раны во всех изучаемых сроках наблюдения.

Анализ динамики изменения количества колониеобразующих единиц исходил из качественных результатов оценки антибактериальной активности имплантата. В первой группе по сравнению с контрольной группой на четвертые сутки наблюдения количество КОЕ *St. aureus* было в 100 раз меньше, а на пятые сутки наблюдения - в 10 раз меньше. Во второй и третьей группах по сравнению с контрольной группой на четвертые сутки и пятые наблюдения количество колониеобразующих единиц *St. aureus* было в 10 раз меньше. В пятой группе по сравнению с контрольной группой на четвертые сутки наблюдения количество КОЕ *St. aureus* было в 10 раз меньше. Следует отметить, что в эти сроки наблюдения все экспериментальные имплантаты обладают антибактериальной активностью, а разница в количестве КОЕ наиболее вероятно связана не только с индивидуальным иммунным ответом, способным подавить *St. aureus*, а еще и с бактерицидным действием экспериментальных образцов.

**Результаты бактериологического исследования тампонов**

Группы исследования	Срок наблюдения, сутки							
	4		5		6		7	
	М, КОЕ/мл в ране	Вид	М, КОЕ/мл в ране	Вид	М, КОЕ/мл в ране	Вид	М, КОЕ/мл в ране	Вид
I	10 <sup>5</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>5</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>5</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>6</sup>	ЛВ(+)
II	10 <sup>6</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>5</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>5</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>5</sup>	ЛВ(+)
III	10 <sup>6</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>5</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>5</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>7</sup>	ЛВ(+)
IV	10 <sup>7</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>6</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>6</sup>	ЛВ(+)	10 <sup>6</sup>	ЛВ(+)
V	10 <sup>6</sup>	ЛВ(+)						

Примечание: М - медиана; ЛВ(+)- стафилококк с лецитовителлазой.

По результатам бактериологического, ПЦР-исследования и качественной оценки антибактериальной активности по заданным параметрам все образцы без покрытия IV инфицируются *St. aureus* на всех сроках наблюдения. При бактериологическом исследовании модифицированные образцы с покрытиями I, III и V обладают антибактериальной активностью к *St. aureus* до пяти суток, а модифицированные образцы с покрытиями II - до шести суток. При молекулярно-генетическом анализе образцы с покрытиями I и V обладают антибактериальной активностью к *St. aureus* до четырех суток, с покрытиями III обладают антибактериальной активностью к *St. aureus* до пяти суток, а с покрытиями II - до шести суток. По результатам качественной оценки антибактериальной активности образцы с покрытием I и V не инфицируются *St. aureus* до четырех суток, а с покрытием II и III - до пяти суток.

Таким образом, все образцы синтетических сосудистых имплантатов, модифицированные гидрогелевой композицией, обладают бактерицидным действием к *St. aureus*. Представленный результат достигнут.

Следует отметить, что содержание в геле ПВС (синтетического полимера) находится в очень незначительном количестве. Поступление содержащей лекарственное средство жидкой фазы криогеля в зону операционной раны кровеносного сосуда происходит в "эластичном" гидродинамическом режиме, а пролонгированное действие антибиотика подавляет воспалительный процесс. Можно также предположить, что разработанные составы покрытий будут способствовать скорейшей эпителизации, так как для их изготовления выбраны биоинертные и биодegradирующие материалы, которые хорошо показали себя в медицинской практике.

Источники информации:

1. ДОРОШКО Е.Ю. и др. Биомеханические свойства, патогенетические механизмы и пути инфицирования тканых сосудистых протезов в ангиохирургии. Проблемы здоровья и экологии, 2020, № 4, с. 79-86.
2. ЛЫЗИКОВ А.А. Инфекционные осложнения при имплантации сосудистых протезов. Проблемы здоровья и экологии, 2011, № 4, с. 75-79.
3. САРКИСЯН А.С. Инфекция сосудистых протезов. Вестник хирургии Армении, 2011, № 1, с. 23-29.
4. ПОПОВА И.В. Экспериментальное изучение сосудистого протеза, изготовленного методом электроспиннинга: дисс. канд. мед. наук, Новосибирск, 2016, 113 с.

# ВУ 24188 С1 2024.02.28

5. БОКЕРИЯ Л.А и др. Текстильные сосудистые протезы в ангиохирургии. *Анналы хирургии*, 2019, т. 24, № 3, с. 165-174.
6. RU 2462273, 2014.
7. RU 2519103, 2014.
8. НИКОЛАЕВ А.Ф. и др. Поливиниловый спирт и сополимеры поливинилового спирта в медицине. *Пластические массы*, 2000, № 3, с. 34-42.
9. РЫЧКОВ Ю.Г. и др. Физиологическая генетика человека в проблеме заживления ран. Москва: Наука, 1985, 183 с.
10. ВУ 15555, 2012.
11. КУЛИН Е.Т. Биоэлектретный эффект. Минск: Наука и техника, 1980, 216 с.
12. Цветкова Е.А. и др. Взаимодействие электромагнитных полей с биополем человека. *Проблемы физики, математики и техники*, 2012, № 1 (10), с. 51-58.