

УДК [61:678]:615.281

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2023-8-4-54-64>

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ И ОСОБЕННОСТИ ДЕГРАДАЦИИ ПОЛИМЕРНЫХ ПРОТИВОСПАЕЧНЫХ МЕМБРАН С АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

КУДРЯВЦЕВА Ю. А.* , КАНОНЫКИНА А. Ю., ЕФРЕМОВА Н. А., КОШЕЛЕВ В. А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»,
г. Кемерово, Россия

При проведении операций на органах брюшной и грудной полости основная доля послеоперационных осложнений представлена образованием спаек или развитием инфекционного процесса, что приводит к снижению качества жизни пациентов, необходимости проведения повторной операции и нередко служат причиной летальных исходов. Решением данной проблемы может стать применение интраоперационно биодеградируемых противоспаечных мембран, обладающих собственной антибактериальной активностью.

Цель. Разработка полимерных противоспаечных мембран с собственной противоспаечной и антибактериальной активностью, оценка их биосовместимости и биодеградации в экспериментах *in vivo*.

Материалы и методы. Мембраны изготовлены методом электроспиннинга из композиции биодеградируемых полимеров: сополимер полилактид-со-гликолид (50:50) и полилактид-со-гликолид (85:15). Для придания мембране антибактериальных свойств в раствор полимеров добавляли антибиотик Тигацил в различной дозировке – 0,125; 0,25 и 0,5 мг/мл полимерного раствора. Оценивали антибактериальную активность мембран *in vivo*. Изучали физико-механические свойства и оценивали структуру поверхности мембран при помощи сканирующего электронного микроскопа. Биосовместимость и динамику биодеградации оценивали *in vivo* путем имплантации лабораторным животным (крысы) на

сроки 14 суток, 1, 2 и 3 месяца с последующим гистологическим изучением эксплантированных образцов.

Результаты. Полимерные мембраны, изготовленные методом электроспиннинга, без включения Тигацила состоят из нитей, толщина которых составила 1,63 мкм (1,42-2,85 мкм), при включении в состав волокна Тигацила, толщина волокна снижается до 1,2 мкм (0,977 – 1,89 мкм), при этом нити более плотно и упорядоченно расположены. Прочность и модуль упругости мембран с Тигацилом почти в 2 раза выше, чем у образцов без включения препарата. Максимальный антибактериальный эффект был достигнут при дозировке Тигацила 0,5 мг/мл – зона подавления *Staphylococcus aureus* при концентрации Тигацила 0,125 мг/мл составила 146%, 0,25 мг/мл – 152% и при концентрации 0,5 мг/мл – 11,5 мм 177%. Включение Тигацила привело к снижению темпов биодеградации образцов *in vivo*. Образцы подвергались биодеградации без признаков острого и хронического воспаления.

Заключение. Включение Тигацила в состав мембраны придает ей антибактериальные свойства, при этом оптимальная концентрация Тигацила составила 0,5 мг/мл полимерного раствора. Включение Тигацила в состав полимерной композиции оказывает влияние на морфологию мембран, увеличивает прочность и модуль упругости, что привело к снижению темпов деградации при имплан-

Для цитирования:

Кудрявцева Ю. А., Каноникина А. Ю., Ефремова Н. А., Кошелев В. А. Биосовместимость и особенности деградации полимерных противоспаечных мембран с антибактериальной активностью. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2023;8(4): 54-64. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2023-8-4-54-64>

*Корреспонденцию адресовать:

Кудрявцева Юлия Александровна, 650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6, E-mail: kudryavtseva_yulia@list.ru
© Кудрявцева Ю. А. и др.

тации подкожно крысам. Отсутствие признаков воспаления подтверждает биосовместимость разработанных мембран.

Ключевые слова: противоспаечные мембраны, электроспиннинг, биосовместимость, антибактериальные свойства, тигецилин, деградация.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования

Результаты получены при поддержке Российской Федерации в лице Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Со-

глашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий от «30» сентября 2022 г. № 075-15-2022-1202, комплексной научно-технической программы полного инновационного цикла «Разработка и внедрение комплекса технологий в областях разведки и добычи твердых полезных ископаемых, обеспечения промышленной безопасности, биоремедиации, создания новых продуктов глубокой переработки из угольного сырья при последовательном снижении экологической нагрузки на окружающую среду и рисков для жизни населения» (утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 11 мая 2022 г. № 1144-р).

ORIGINAL RESEARCH

BIOCOMPATIBILITY AND FEATURES OF DEGRADATION OF POLYMER ANTI-ADJECTION MEMBRANES WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY

YULIYA A. KUDRYAVTSEVA*, ANASTASIA YU. KANONYKINA, NATALIA A. EFREMOVA, VLADISLAV A. KOSHELEV

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

When performing operations on the abdominal and thoracic organs, the main share of postoperative complications is represented by the formation of adhesions or the development of an infectious process, which leads to a decrease in the quality of life of patients, the need for reoperation and often causes deaths. A solution to this problem can be the use of intraoperative biodegradable anti-adhesion membranes that have their own antibacterial activity.

Aim. Development of polymer anti-adhesion membranes with their own anti-inflammatory and antibacterial activity, assessment of their biocompatibility and biodegradation in in vivo experiments

Materials and Methods. The membranes are made by electrospinning from a composition of biodegradable polymers: polylactide-co-glycolide

copolymer (50:50) and polylactide-co-glycolide (85:15). To impart antibacterial properties to the membrane, the antibiotic Tigacil was added to the polymer solution in various dosages – 0.125; 0.25 and 0.5 mg/ml polymer solution. The antibacterial activity of the membranes in vivo was assessed. The physical and mechanical properties were studied and the surface structure of the membranes was assessed using a scanning electron microscope. Biocompatibility and dynamics of biodegradation were assessed in vivo by implantation into laboratory animals (rats) for periods of 14 days, 1, 2 and 3 months, followed by histological examination of explanted samples.

Results. Polymer membranes made by electrospinning, without the inclusion of Tigacil, consist of threads whose thickness was 1.63 microns (1.42–2.85 microns); when Tigacil is included in the fiber

◀ English

For citation:

Yuliya A. Kudryavtseva, Anastasia Yu. Kanonykina, Natalia A. Efremova, Vladislav A. Koshelev. Biocompatibility and features of degradation of polymer anti-adjection membranes with antibacterial activity. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2023;8(4): 54–64. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2023-8-4-54-64>

*Corresponding author:

Dr. Yuliya A. Kudryavtseva, 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation, E-mail: kudryavtseva_yulia@list.ru
© Prof. Yuliya A. Kudryavtseva, et al.

composition, the fiber thickness decreases to 1.2 microns ($0.977 - 1.89 \mu\text{m}$), while the threads are more densely and orderly located. The strength and elasticity modulus of membranes with Tigacil are almost 2 times higher than those of samples without the inclusion of the drug. The maximum antibacterial effect was achieved at a Tigacil dosage of 0.5 mg/ml – the zone of inhibition of *Staphylococcus aureus* at a Tigacil concentration of 0.125 mg/ml was 146%, 0.25 mg/ml – 152% and at a concentration of 0.5 mg/ml – 11.5 mm 177%. The inclusion of Tigacil led to a decrease in the rate of biodegradation of samples in vivo. The samples underwent biodegradation without signs of acute and chronic inflammation.

Conclusion. The inclusion of Tigacil in the membrane gives it antibacterial properties, and the optimal concentration of Tigacil was 0.5 mg/ml of the polymer solution. The inclusion of Tigacil in the polymer composition affects the morphology of the membranes, increases the strength and elastic modulus, which led to a decrease in the rate of degradation when implanted subcutaneously in rats. The absence of signs of inflammation confirms the biocompatibility of the developed membranes.

Keywords: anti-adhesion membranes, electrospinning, biocompatibility, antibacterial properties, tigecycline, degradation.

Conflict of Interest

None declared.

Funding

The study was supported by the Russian Federation, specifically the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, under the Agreement for providing grant funding in the form of subsidies from the federal budget, dated September 30, 2022, No. 075-15-2022-1202. The study is a part of a comprehensive scientific and technological program of the full innovation cycle, entitled “Development and implementation of technologies in the fields of solid mineral exploration and extraction, industrial safety, bioremediation, and the creation of new products through deep coal processing, all with a gradual reduction of environmental impact and risks to the population’s well-being”. This initiative was established by the Russian Government’s decree No. 1144-r on May 11, 2022.

Введение

Несмотря на развитие современной медицины, частота послеоперационных осложнений остается высокой. Для операций на органах брюшной и грудной полости основную проблему представляют спаечный и инфекционный процессы [1–6], развитие которых существенно отягощает основное заболевание, удлиняет время пребывания пациента в стационаре, увеличивает стоимость лечения, нередко служит причиной летальных исходов и негативно сказывается на сроках восстановления трудоспособности оперированных больных.

Образование спаек или спаечный процесс снижает качество жизни пациентов, перенесших хирургическое вмешательство. Для кардиохирургических больных спайки представляют опасность в случае проведения повторной операции [7], тогда как для пациентов, перенесших операции на органах брюшной полости, спайки являются причиной кишечной непроходимости, постоянных болей и поводом для дополнительного хирургического вмешательства [2,8].

Инфекционные осложнения представляют серьезную проблему для всех категорий оперативных вмешательств [1,9,10]. Инфицирова-

ние зоны хирургического вмешательства для кардиохирургических операций проявляется в виде развития медиастинита после операций на открытом сердце [11–16]. Согласно литературным данным, стерильная инфекция осложняет течение от 4% до 25% операций на сердце, а летальность, связанная с гнойным медиастинитом, может достигать 32% [11,13,16]. Для абдоминальной хирургии гнойно-воспалительные осложнения особенно значимы и составляют до 67% всех операций, включая госпитальный и поздний послеоперационный периоды [9, 17].

Для профилактики образования спаек в хирургии применяют различные противоспаечные средства – пленки, спреи, гели и т.д. [17–21]. Несмотря на многообразие противоспаечных продуктов на рынке, их эффективность остается невысокой, при этом противоспаечные средства, обладающие собственной антибактериальной активностью, отсутствуют.

Для профилактики инфекционных осложнений активно развивается направление, связанное с созданием шовного материала, обладающего антибактериальными свойствами за счет включения в состав нити антибиотиков или антибактериальных препаратов [22,23]. Анало-

гичный подход может быть использован и при разработке противоспаечных средств, где, помимо разделения раневых поверхностей и снижения риска образования спаек, данные изделия могут одновременно предупреждать развитие инфекции в зоне операции.

Для создания противоспаечных мембран применяют различные технологии, однако стоит отметить перспективность метода электроформования (электроспиннинга). В процессе электроспиннинга из раствора полимера в результате действия электростатических сил формируются микро- и нановолокна, куда, как в депо, можно размещать лекарственные препараты, которые будут пролонгированно выделяться непосредственно в зоне оперативного вмешательства и воздействовать локально. Состав такого изделия должен быть подобран таким образом, чтобы не оказывать негативного влияния на окружающие ткани, т.е. обладать биосовместимостью, деградировать по мере выполнения своей функции и предупреждать развитие воспалительного и инфекционного процессов.

Цель исследования

Разработка полимерных противоспаечных мембран с собственной противовоспалительной и антибактериальной активностью, оценка их биосовместимости и биodeградации в экспериментах *in vivo*.

Материалы и методы

Для изготовления мембран использовали композицию биodeградируемых полимеров: сополимер полилактид-со-гликолид (50:50) Мм 20-30 КДа (Новохим, Россия) и полилактид-со-гликолид (85:15) (Sigma-Aldrich, США). Полимеры растворяли в 1,1,1,3,3,3-Гексафторизопропанол (ГФИП, Sigma, США). Готовили исходные растворы: 20% раствор полилактид-со-гликолид (50:50) и 5% раствор полилактид-со-гликолид (85:15), после чего соединяли два приготовленных раствора в соотношении 60% и 40% соответственно. После полного смешивания растворов полимеров добавляли антибиотик Тигацил (PATHEON ITALIA, S.P.A., Италия) для придания мембране антибактериальных свойств. Для этого Тигацил разводили в физрастворе и добавляли в раствор полимера. Для выбора оптимальной дозы антибиотика было выбраны три различные дозировки – 0,125; 0,25 и 0,5 мг/мл полимерного раствора.

Формирование экспериментальных мембран осуществляли методом электроспиннинга на установке Nanop-01A (MECC Inc., Япония) при подаваемом напряжении 25 кВ и скорости подачи раствора 0,5 мл/ч. В качестве принимающего коллектора использовали поверхность металлического вращающегося со скоростью 200 г/мин штифта диаметром 8 мм. Расстояние от места выхода полимерной нити до коллектора составило 15 см, ширина укладки полимера на металлический штифт составила 100 мм, скорость движения каретки – 30 мм/сек. Диаметр иглы составлял 22G. Все эксперименты проводились при комнатной температуре и относительной влажности воздуха около 30%. Время формирования мембраны – 2 часа. Толщина готовых мембран составила 180–200 мкм.

Оценку структуры поверхности мембран проводили при помощи сканирующего электронного микроскопа S-3400N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 10 кВ. Перед исследованием образцы протезов размером 0,5×0,5 см подвергали золото-палладиевому напылению с получением покрытия толщиной 15 нм при использовании системы для напыления EM ACE200 (Leica Mikrosysteme GmbH, Австрия).

Оценку физико-механических свойств образцов проводили на универсальной испытательной машине Zwick/Roell (Германия) путем продольного растяжения образцов в соответствии с требованиями ИСО 2960:1974 «Ткани. Определение прочности на разрыв и растяжения при разрыве. Диафрагмальный метод». Испытания проведены с использованием датчика с номинальной силой 50 Н с пределом допустимой погрешности ±1%, скорость перемещения траверсы при испытании 50 мм/мин. Предел прочности материала оценивали как максимальное напряжение при растяжении (МПа) до начала разрушения. Упруго-деформативные свойства материала оценивали по относительному удлинению до начала разрушения образца (%) и модулю Юнга (МПа), который определяли в диапазонах физиологического давления (80–120 мм рт.ст.).

Для оценки антибактериальной активности противоспаечных мембран, содержащих антибиотик Тигацил, использовали стандартизованную методику определения чувствительности микроорганизмов на основе дисков. В качестве микробиологической нагрузки использовали лабораторный штамм *Staphylococcus*

aureus, как наиболее часто вызывающий инфицирование послеоперационных ран [1]. В условиях аттестованной бактериологической лаборатории был приготовлен агар Мюллера-Хинтона и разлит в стеклянные чашки Петри. Для приготовления инокулята использовали метод прямого суспендирования колоний в стерильном изотоническом растворе до плотности 0,5 по стандарту мутности МкФарланда. В чашки с агаром при комнатной температуре вносили бактериальную суспензию и равномерно разносили по всей площади чашки Петри. После этого на поверхность с бактериями размещали образцы контрольной и опытных групп. Опытный образец представлял собой фрагмент изготовленной мембраны, содержащей Тигацил, в виде круга (диска) диаметром 1 см. В качестве контроля использовали диски из стерильной фильтровальной бумаги аналогичного размера, которые пропитывали свежеприготовленным раствором Тигацила (10 мкл) в концентрации 0,5 мг/мл. Далее все исследуемые чашки Петри с образцами размещали на 24 часа в термостате при 37°C. По истечении времени инкубации оценивали зоны лизиса бактерий.

С целью оценки биосовместимости и динамики биодеградации *in vivo*, исследуемые полимерные образцы были имплантированы подкожно крысам-самцам линии Wistar (масса животных 90-100 г). Исследования проводили согласно требованиям ГОСТ Р ИСО 10993-6-2011 «Исследование местного действия после имплантации». Все хирургические манипуляции лабораторным животным проводили под ингаляционным наркозом изофлюрана в условиях чистой операционной согласно Межгосударственному стандарту, Руководству по содержанию и уходу за лабораторными животными, с соблюдением Правил содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами ГОСТ 33216-2014, а также с соблюдением правил оборудования помещений и организации процедур ГОСТ 33215-2014.

Образцы биоматериала размером 0,6х0,6 см предварительно подвергали радиационной стерилизации. Шерстяной покров на спине животных тщательно выбривали, область имплантации обрабатывали кожным антисептиком. Затем каждому животному в асептических условиях из отдельных разрезов длиной 0,5 мм справа и слева вдоль позвоночника формировали по 2 подкожных кармана (по одному с каждой стороны от позвоночника). В каждый из

них имплантировали подготовленные образцы – мембраны без лекарственного препарата (ЧП) и мембраны с Тигацилом (ТГ), после чего разрез зашивали нерассасывающимся полиэфирным шовным материалом Лавсан 4,0 (Линтекс, Россия). Всего было прооперировано по 5 животных на каждый срок наблюдения (14 суток, 1, 2 и 3 месяца, n=20).

Удаление образцов производили через 14 суток для оценки реакции окружающих тканей на имплантацию образцов (биосовместимость) и через 1, 2 и 3 месяца – для изучения динамики деградации полимерных образцов. Имплантаты вырезали вместе с образовавшейся капсулой и около 5 мм окружающих неизменных мягких тканей, помещали в формалин и далее изучали гистологическим методом. Подготовка образцов для гистологического изучения проводилась стандартно: обезвреживание в возрастающей концентрации спиртов, заливка в парафин. Далее готовились срезы толщиной 4–5 мкм с помощью ротационного микротомы НМ 325 (Thermo Fisher Scientific, Германия). После размещения на предметном стекле срезы окрашивали Гематоксилин-эозин и по Ван Гизон. Анализ окрашенных образцов осуществляли с использованием светового микроскопа AxioImager.A1 (Zeiss, Германия), обработку изображений производили с помощью программы AxioVision (Zeiss, Германия).

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования была проведена оценка оптимального количества Тигацила в мембране. Для этого изучили *in vitro* эффективность мембран с тремя различными концентрациями Тигацила – 0,125; 0,255 и 0,5 мг/мл (полимерного раствора). Результаты оценки антибактериальной активности полученных мембран показали, что максимальный антибактериальный эффект был достигнут при дозировке Тигацила 0,5 мг/мл (раствора полимера). Зона лизиса контрольного образца (**рисунок 1а**) составила 22 мм (220%). Необходимо отметить, что при стерилизации размер образцов уменьшился и составил 6,5 мм в диаметре, поэтому зону подавления в процентном отношении считали относительно последнего значения. Зона подавления *Staphylococcus aureus* при концентрации Тигацила 0,125 мг/мл составила 9,5 мм (146%), 0,25 мг/мл – 9,87 мм (152%) и при концентрации 0,5 мг/мл – 11,5 мм (177%) (**рисунок 1б**). Исходно содержание Тигацила в

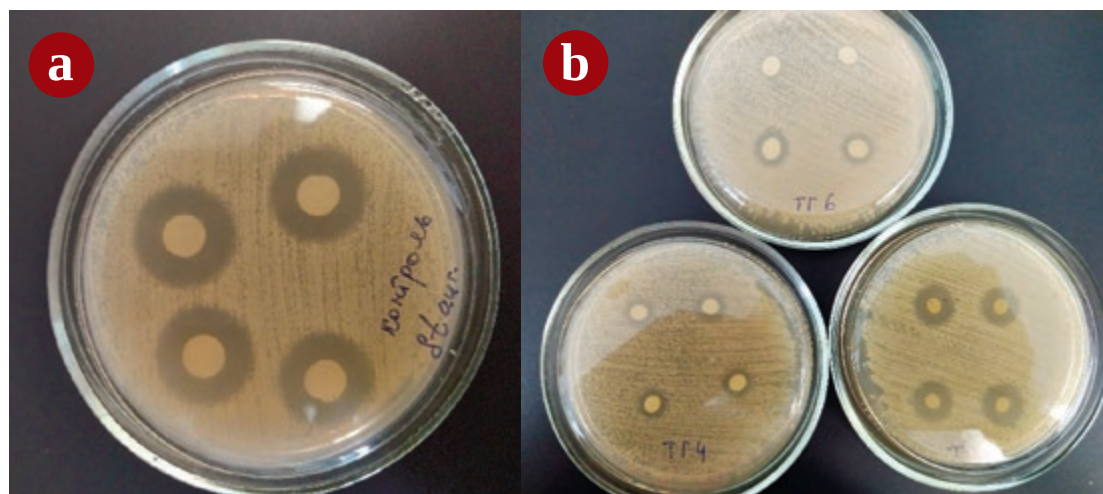


Рисунок 1.
Зона лизиса *Staphylococcus aureus*: а) контроль, б) мембраны с Тигацилом (пояснения: ТГ4 – 0,125 мг/мл; ТГ6 – 0,25 мг/мл, ТГ8 – 0,5 мг/мл).

Figure 1.
Lysis zone of *Staphylococcus aureus*: а) control, б) membranes with Tigacil (explanations: TG4 – 0.125 mg/mL; TG6 – 0.25 mg/mL, TG8 – 0.5 mg/mL)

контрольной группе и опытной группе ТГ8 было одинаковым и равным 0,5 мг/мл (рекомендуемая доза при внутривенном вливании препарата согласно инструкции). Некоторое снижение антибактериальной активности (на 20 %) опытных образцов относительно контрольных связано с влиянием процесса электроспиннинга и последующей стерилизации. Для дальнейших исследований была выбрана концентрация Тигацила 0,5 мг/мл полимерного раствора.

Качество изготовления мембран оценивали при помощи сканирующей электронной микроскопии. Полученные результаты свидетельствуют, что процесс электроспиннинга прошел удовлетворительно – мембрана состоит из нитей различного диаметра, волокна ровные,

без дефектов, хаотично расположены относительно друг друга (**рисунок 2**). В полимерных мембранах без включения Тигацила (**рисунок 2а, б**) медиана толщины нитей составила 1,63 мкм (1,42–2,85 мкм), в мембранах, содержащих Тигацил, – 1,2 мкм (0,977–1,89 мкм), при этом нити более упорядоченно расположены (**рисунок 2с, д**).

Оценка физико-механических свойств мембран показала, что при включении Тигацил в состав волокон привело к достоверному увеличению прочности и упругости образцов, при этом эластичность (удлинение) незначительно снизилась (**таблица 1**). Полученные результаты можно объяснить с учетом данных сканирующей электронной ми-

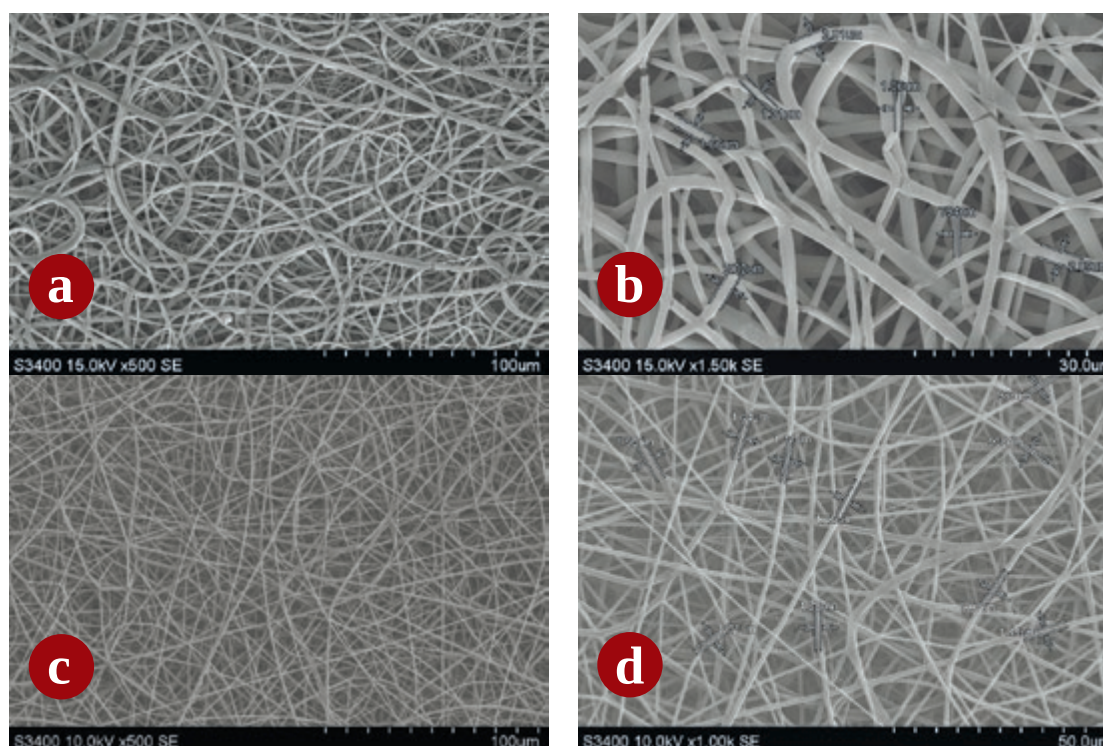


Рисунок 2.
Сканирующая электронная микроскопия поверхности мембран различного состава: а и б – полимерная мембрана без включений, с и д – полимерная мембрана, содержащая Тигацил

Figure 2.
Scanning electron microscopy of membrane surface of different composition: а and б – polymeric membrane without inclusions, с and д – polymeric membrane containing Tigacil

Таблица 1.
Физико-механические свойства полимерных мембран

Table 1.
Physical and mechanical properties of polymer membranes

№	Наименование образца/ Sample name	Прочность, МПа/ Strength, MPa	Эластичность, %/ Elasticity, %	Модуль Юнга (упругость)/ Young's modulus (elasticity)
1	Мембрана полимерная/ Polymeric membrane	2,43±0,03	560,34±10,85	28,19±6,34
2	Мембрана полимерная с ТГ/ Polymeric membrane containing Tigacil	4,50±0,09	519,81±15,96	57,86±8,3
	ρ	0.0001	0.069	0.022

кроскопии – включение Тигацила в состав полимера привело к существенному уменьшению толщины нитей, при этом возросло их количество, что, в конечном итоге, и увеличило прочность готовой мембраны, но при этом также изменило и модуль упругости. В целом полученные количественные показатели упруго-деформативных свойств полимерных противоспаечных мембран являются удовлетворительными

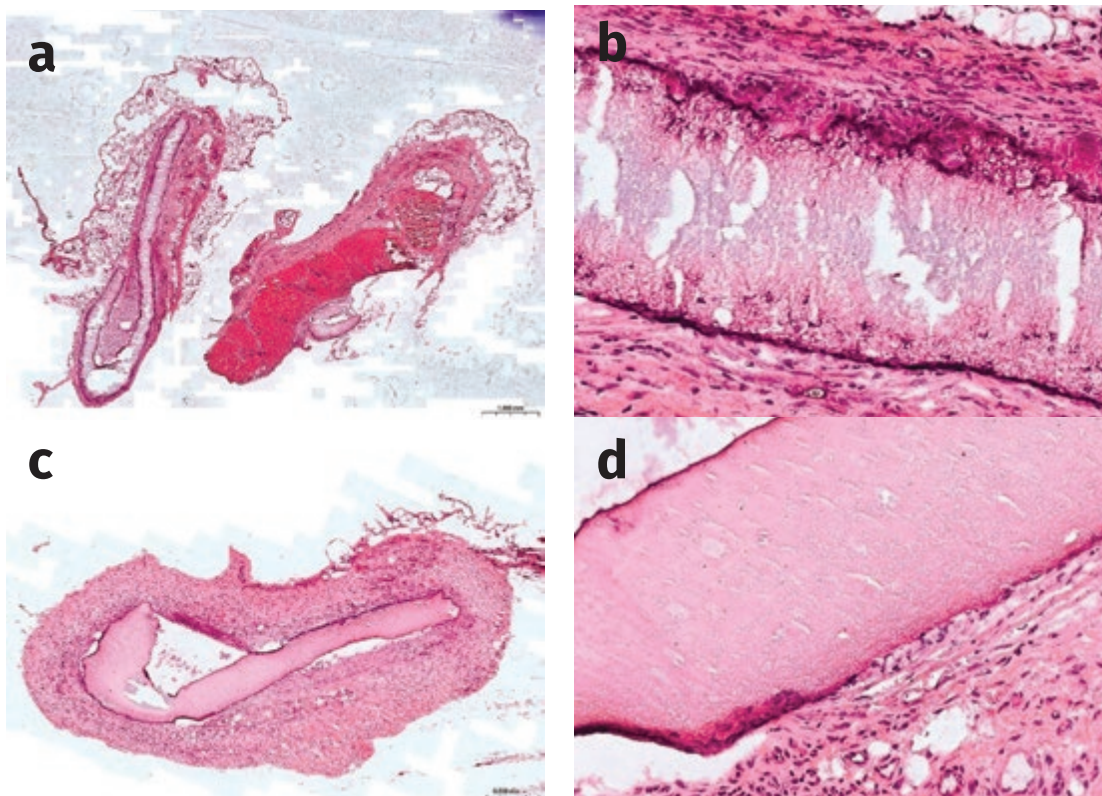
При имплантации мембран лабораторным животным оценивали влияние образцов на окружающие ткани и динамику биodeградации. На всех сроках наблюдения и вывода животных из эксперимента (2 недели, 1, 2 и 3 месяца) макроскопически не отмечено воспалительной реакции на имплантацию мембран. Микроскопически через 14 суток после имплантации отмечены более медленные темпы деграда-

ции образцов мембран, содержащих Тигацил (**рисунок 3**). Вокруг всех образцов визуализируется формирование рыхлой соединительно-тканной капсулы, признаки острого воспаления отсутствуют. При большем увеличении на срезах мембран без Тигацила отмечается активный процесс эрозии поверхности мембраны, скопления клеток макрофагального ряда в местах разрыва мембраны. Вокруг образцов в толще капсулы отмечается умеренная васкуляризация (**рисунок 3а, б**).

В образцах, содержащих Тигацил, признаков активного разрушения мембраны не отмечено, по внешнему краю мембраны визуализируется плотно прилегающий слой клеток макрофагального ряда (**рисунок 3с**). Капсула вокруг образца рыхлая, васкуляризированная. В толще капсулы встречаются одиночные гигантские многоядерные клетки инородного тела (3–4 шт.

Рисунок 3.
Микрофотография гистологических препаратов, срок имплантации 14 суток. Обозначения: а и б – полимерная мембрана без включений; с и d – мембрана, содержащая Тигацил. Увеличение – а и б x 100, в и d x 400. Гематоксилин-эозин.

Figure 3.
Microphotograph of histologic preparations, implantation period of 14 days. Designations: a and b – polymeric membrane without inclusions; c and d – membrane containing Tigacil. Magnification – a and c x 100, b and d x 400. Hematoxylin-eosin



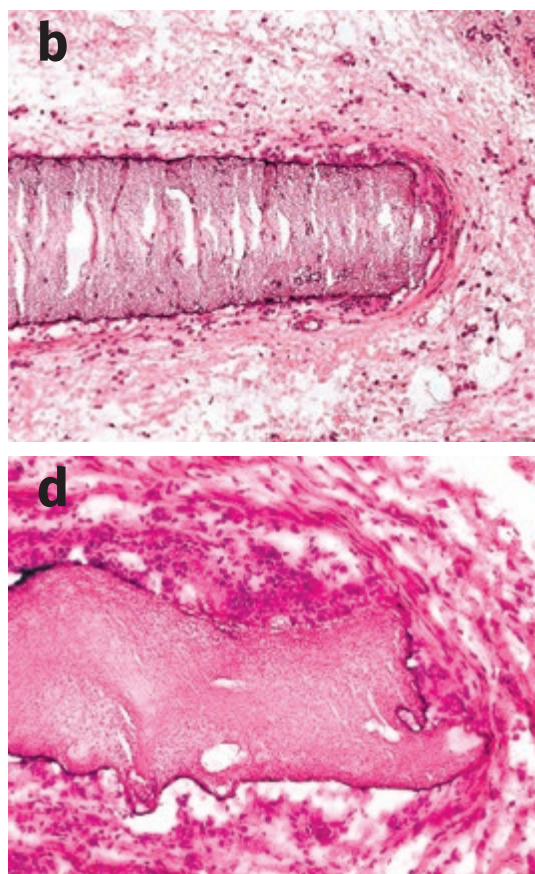


Рисунок 4. Микрофотография гистологических препаратов, срок имплантации 1 месяц. Обозначения: а и б – полимерная мембрана без включений; с и d – мембрана, содержащая Тигацил. Увеличение – а и с x 100, б и d x 400. Гематоксилин-эозин.

Figure 4. Microphotograph of histologic preparations, implantation period of 1 month. Designations: a and b – polymeric membrane without inclusions; c and d – membrane containing Tiganil. Magnification – a and c x 100, b and d x 400. Hematoxylin-eosin

на срез).

Через месяц после имплантации сохраняется тенденция к более медленным темпам деградации мембран, нагруженных Тигацилом (**рисунок 4**). По краям мембраны без Тигацила отмечаются углубления, заполненные макрофагами, некоторые проникают глубже, в толщу мембраны, усиливая ее разрушение. Капсула вокруг образца становится более плотной, клеточное наполнение умеренное (**рисунок 4b**). Мембраны с Тигацилом сохраняют целостность, отделены от окружающих тканей тонкой фиброзной капсулой. Внутри капсулы наблюдаются скопления макрофагов и нейтрофилов, что свидетельствует об активном процессе деградации полимерной матрицы (**рисунок 4с, d**).

Через два месяца после имплантации образцы мембран без Тигацила подвергаются дальнейшей интенсивной деградации без признаков хронического воспаления (**рисунок 5a, b**). Вокруг образцов сформирована тонкая соединительно-тканная капсула. Клеточное наполнение слабое и сосредоточено по границе контакта с образцом (**рисунок 5b**). Дальнейшая деградация образцов мембран, содержащих Тигацил, происходила по типу фрагментации (**рисунок**

5 с и d). Образец распался на мелкие фрагменты, которые густо окружены клетками макрофагального ряда, наблюдаем активный процесс биорезорбции полимерной матрицы. Встречаются единичные многоядерные клетки инородного тела.

Через три месяца имплантации образцы мембран без включения Тигацила полностью деградировали и не были обнаружены ни у одного подопытного животного. Образцы с Тигацилом подверглись дальнейшей фрагментации, макроскопически визуализировалось небольшое образование диаметром около 2 мм. Наличие мембраны определяли микроскопически – образцы сильно фрагментированы, окружены клетками макрофагального ряда (**рисунок 6**).

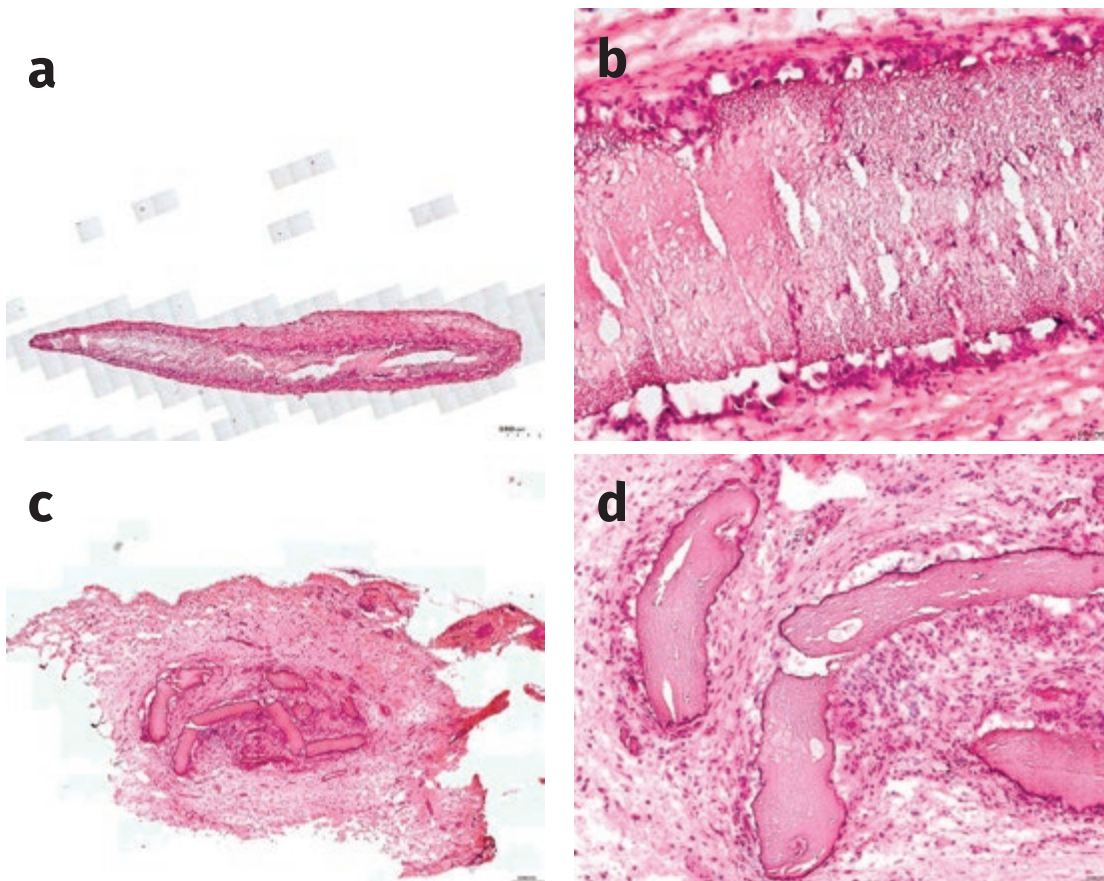
Гистологическая картина, наблюдаемая на всех сроках имплантации, свидетельствует о том, что биодеградация мембран происходила за счет активности макрофагов и ферментативного лизиса. Единичные многоядерные клетки инородного тела на всех сроках имплантации свидетельствуют о минимальной воспалительной реакции, что подтверждает удовлетворительную биосовместимость раз-

Рисунок 5.

Микрофотография гистологических препаратов, срок имплантации 2 месяца. Обозначения: а и б – полимерная мембрана без включений; с и d – мембрана, содержащая Тигацил. Увеличение – а и с x 100, б и d x 400. Гематоксилин-эозин

Figure 5.

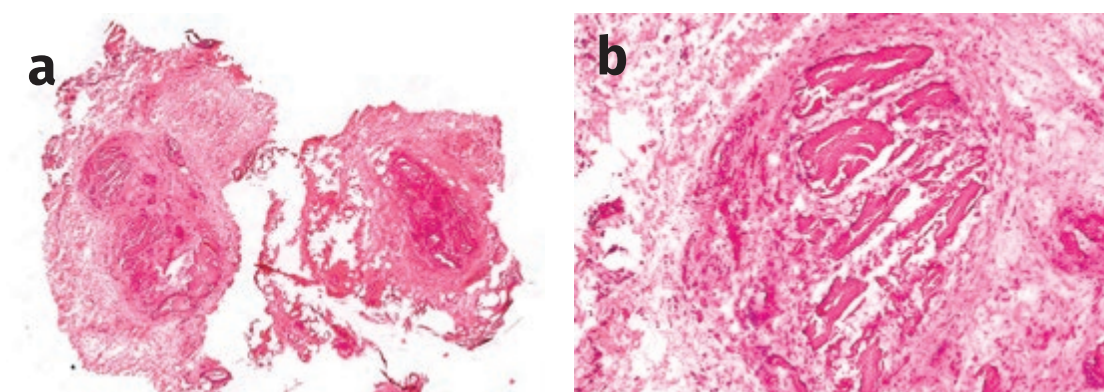
Microphotograph of histologic preparations, implantation period of 2 months. Designations: a and b – polymeric membrane without inclusions; c and d – membrane containing Tigacil. Magnification a and c x 100, b and d x 400. Hematoxylin-eosin

**Рисунок 6.**

Микрофотография гистологических препаратов, срок имплантации 3 месяца. Мембрана, содержащая Тигацил. Увеличение – а x 100, б x 400. Гематоксилин-эозин

Figure 6.

Microphotograph of histologic preparations, implantation period of 3 months. Membrane containing Tigacil. Magnification: a x 100, b x 400. Hematoxylin-eosin



работанных мембран.

Закключение

Проведенные исследования продемонстрировали перспективность выбранного подхода. Антибиотик Тигацил, добавленный в раствор полимеров, сохраняет свою активность после процессе электроспиннинга и этапа стерилизации методом радиоактивного воздействия. Несмотря на то, что антибактериальная активность образцов после всех манипуляций снизилась по сравнению с аналогичной дозировкой свежеприготовленного раствора Тигацила, следует признать антибактериальный эффект мембран удовлетворительным, поскольку мембраны были использованы в

эксперименте через 7 суток после изготовления и сохранили антибактериальную активность.

Включение лекарственного вещества в раствор полимеров, а точнее, жидкой фазы (антибиотик, растворенный в физиологическом растворе), привело к изменению архитектоники сформированной мембраны – волокна формировались тонкие, равномерно и плотно упакованные, что повлекло за собой ряд эффектов – увеличение прочности и модуля упругости. Увеличение модуля упругости характеризует повышение жесткости, что проявилось замедлением темпов биodeградации образцов, имплантированных подкожно крысам. Отличались и процессы деградации образцов без

и с Тигацилом. Более рыхлые и менее прочные образцы полимерных мембран деградировали по эрозивному типу и более быстрыми темпами. Образцы, содержащие Тигацил, подвергались более длительному воздействию со стороны клеток макрофагального ряда, биорезорбция проходила через этап фрагментации образца.

Таким образом, при включении Тигацила в состав полимерной композиции в процессе изготовления мембраны методом электроспиннинга формируются тонкие, плотно упакован-

ные волокна, что сказывается на увеличении прочности и модуля упругости мембраны, а также увеличивает сроки биорезорбции образцов при имплантации подкожно крысам. Отсутствие признаков воспаления подтверждает биосовместимость разработанных мембран. Включение Тигацила в состав мембраны придает ей антибактериальные свойства, которые сохраняются после этапа стерилизации. Оптимальная концентрация Тигацила составляет 0,5 мг/мл полимерного раствора.

Литература:

1. Профилактика инфекций области хирургического вмешательства. Клинические рекомендации. Н. Новгород: Ремедиум Приволжье, 2018. 72 с.
2. Андреев А.А., Остроушко А.П., Кирьянова Д.В., Сотникова Е.С., Бритиков В.Н. Спаечная болезнь брюшной полости. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2017;11(4):320-326. <https://doi.org/10.18499/2070-478X-2017-10-4-320-326>
3. Azoury S.C., Norma E.F., Qing L.H., Kevin C.S., Caitlin W.H., Faris K.A., Rodriguez-Unda N.A., Poruk K.E., Cornell P., Burce K.K., Cooney C.M., Nguyen H.T., Eckhauser F.E. Postoperative abdominal wound infection – epidemiology, risk factors, identification, and management. *Chronic Wound Care Management and Research*. 2015;2:137-148. <https://doi.org/10.2147/CWCMR.S62514>
4. Бокерия Л.А., Сивцев В.С. Послеоперационный спаечный перикардит: факторы риска, патогенез и методы профилактики. *Анналы хирургии*. 2014;6:7-15.
5. ten Broek R.P., Bakkum E.A., Laarhoven C.J., van Goor H. Epidemiology and Prevention of Postsurgical Adhesions Revisited. *Ann Surg*. 2016;263(1):12-19. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001286>
6. Попов Д.А. Послеоперационные инфекционные осложнения в кардиохирургии. *Анналы хирургии*. 2013;5:15-21.
7. Salminen J.T., Mattila I.P., Punttila J.T., Sairanen H.I. Prevention of postoperative pericardial adhesions in children with hypoplastic left heart syndrome. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg*. 2011;12(2):270-272. <https://doi.org/10.1510/icvts.2010.24144>
8. Маркосьян С.А., Лысяков Н.М. Этиология, патогенез и профилактика спаикообразования в абдоминальной хирургии. *Новости хирургии*. 2018;26(6):735-744. <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2018.6.735>
9. Абдоминальная хирургическая инфекция: Российские национальные рекомендации / под. ред. акад. Б.Р. Гельфанда, акад. РАН А.И. Кириенко, проф. Н.Н. Хачатрян. 2-е изд., перераб. и доп. Moscow: ООО «Медицинское информационное агентство», 2018. 168 с.
10. Aga E., Keinan-Boker L., Eithan A., Mais T., Rabinovich A., Nassar F. Surgical site infections after abdominal surgery: incidence and risk factors. A prospective cohort study. *Infect. Dis (Lond)*. 2015;47(11):761-767. <https://doi.org/10.3109/23744235.2015.1055587>
11. Чернявский А.М., Таркова А.Р., Рузатов Т.М., Морозов С.В., Григорьев И.А. Инфекции в кардиохирургии. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2016;(5):64-68. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2016564-68>
12. Jayakumar S., Khoyneshad A., Jahangiri M. Surgical Site Infections in Cardiac Surgery. *Crit. Care Clin*. 2020;36(4):581-592. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2020.06.006>
13. Абакумов М.М. Диагностика и лечение гнойного медиастинита – особая глава в истории хирургии. *Хирургия. Журнал хирургии им. Н.И. Пирогова*. 2019;3(1):105-110. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2019031105>
14. Степин А.В. Этиология инфекции области хирургического вмешательства после операций на открытом сердце: одноцентровое десятилетнее наблюдение. *РМЖ*. 2022;7:2-6.
15. Sahu M.K., Siddharth B., Choudhury A., Vishnubhatla S., Singh S.P., Menon R., Kapoor P.M., Talwar S., Choudhary S., Airan B. Incidence, microbiological profile of nosocomial infections, and their antibiotic resistance patterns in a high volume Cardiac Surgical Intensive Care Unit. *Ann. Card. Anaesth*. 2016;19(2):281-7. <https://doi.org/10.4103/0971-9784.179625>
16. Park C.B., Suri R.M., Burkhart H.M., Greason K.L., Dearani J.A., Schaff H.V., Sundt T.M. Identifying patients at particular risk of injury during repeat sternotomy: analysis of 2555 cardiac reoperations. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. 2010;140(5):1028-1035. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2010.07.086>
17. Head W.T., Paladugu N., Kwon J.H., Gerry B., Hill M.A., Brennan E.A., Kavarana M.N., Rajab T.K. Adhesion barriers in cardiac surgery: A systematic review of efficacy. *J. Card. Surg*. 2022;37(1):176-185. <https://doi.org/10.1111/jocs.16062>
18. Хромова В. Н. Постгоспитальные послеоперационные осложнения в абдоминальной хирургии. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2011;2(18):128-135.
19. Рыбаков К.Д., Седнев Г.С., Морозов А.М., Рыжова Т.С., Минакова Ю.Е. Профилактика формирования спаечного процесса брюшной полости (обзор литературы). *Вестник новых медицинских технологий*. 2022. 29(1):22-28. <https://doi.org/10.24412/1609-2163-2022-1-22-28>
20. Самарцев В.А., Кузнецова М.В., Гаврилов В.А. Кузнецова М.П., Паршаков А.А. Противоспаечные барьеры в абдоминальной хирургии: современное состояние проблемы. *Пермский медицинский журнал*. 2017;XXXIV(2):87-93.
21. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А. Перспективы профилактики спаечного процесса при оперативных вмешательствах на сердце. *Acta biomedica scientifica*. 2021;6(6-2):125-132. <https://doi.org/10.29413/ABS.2021-6.6-2.13>
22. Мохов Е.М., Сергеева А.Н. Имплантационная антимикробная профилактика инфекции области хирургического вмешательства. *Сибирское обозрение*. 2017;(3):75-81. <https://doi.org/10.20333/2500136-2017-3-75-81>
23. Назарчук А.А., Вернигородский С.В., Палий В.Г., Назарчук Г.Г. Экспериментальное исследование эффективности антимикробных хирургических материалов, содержащих декаметоксин. *Новости хирургии*. 2018;26(1):16-23. <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2018.1.16>

References:

1. Profilaktika infekcij oblasti hirurgicheskogo vmeshatel'stva. Clinical guidelines N. Novgorod: Remedium Privolzh'e, 2018. 72 p. (in Russ).
2. Andreev AA, Ostroushko AP, Sotnikova ES, Kiryanova DV, Britikov VN. Adhesive Disease of the Abdominal Cavity. *Journal of experimental and clinical surgery*. 2017;10(4):320-326. (in Russ). <https://doi.org/10.18499/2070-478X-2017-10-4-320-326>
3. Azoury SC, Norma EF, Qing LH, Kevin CS, Caitlin WH, Faris KA, Rodriguez-Unda NA, Poruk KE, Cornell P, Burce KK, Cooney CM, Nguyen HT, Eckhauser FE. Postoperative abdominal wound infection – epidemiology, risk factors, identification, and management. *Chronic Wound Care Management and Research*. 2015;2:137-148. <https://doi.org/10.2147/CWCMR.S62514>
4. Bockeria LA, Sivtsev VS. Postoperative pericardial adhesion: risk factors, pathogenesis and preventive methods. *Annaly khirurgii*. 2014;6:7-15. (in Russ).
5. ten Broek RP, Bakkum EA, Laarhoven CJ, van Goor H. Epidemiology and Prevention of Postsurgical Adhesions Revisited. *Ann Surg*. 2016;263(1):12-19. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001286>

6. Popov D. A. Postoperative infectious complications in cardiac surgery. *Annals of Surgery (Russia)* 2013;5:15-21. (in Russ).
7. Salminen JT, Mattila IP, Puntilla JT, Sairanen HI. Prevention of postoperative pericardial adhesions in children with hypoplastic left heart syndrome. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2011;12(2):270-272. <https://doi.org/10.1510/icvts.2010.241448>
8. Markosyan SA, Lysyakov NM. Etiology, Pathogenesis and Prophylaxis of Adhesions in Abdominal Surgery. *Surgery news.* 2018;26(6):735-744. (In Russ). <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2018.6.735>
9. *Abdominal'naya khirurgicheskaya infektsiya* : Rossiyskie natsional'nye rekomendatsii / BR Gel'fanda, AI Kirienko, NN Khachatryan, editors. 2nd ed. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2018. 168 p. (in Russ).
10. Aga E, Keinan-Boker L, Eithan A, Mais T, Rabinovich A, Nassar F. Surgical site infections after abdominal surgery: incidence and risk factors. A prospective cohort study. *Infect Dis (Lond).* 2015;47(11):761-767. <https://doi.org/10.3109/23744235.2015.1055587>
11. Cherniavskii AM, Tarkova AR, Ruzmatov TM, Morozov SV, Grigor'ev IA. Infections in cardiac surgery. *Pirogov Russian Journal of Surgery.* 2016;(5):64-68. (In Russ). <https://doi.org/10.17116/hirurgia2016564-68>
12. Jayakumar S, Khoynezhad A, Jahangiri M. Surgical Site Infections in Cardiac Surgery. *Crit Care Clin.* 2020;36(4):581-592. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2020.06.006>
13. Abakumov MM. Diagnosis and treatment of suppurative mediastinitis – a special chapter in the history of surgery. *Pirogov Russian Journal of Surgery.* 2019;3(1):105-110. (In Russ). <https://doi.org/10.17116/hirurgia2019031105>
14. Stepin AV. Etiology of the surgical site infection after open-heart surgery: single-center ten-year follow-up. *RMJ.* 2022;7:2-6. (in Russ).
15. Sahu MK, Siddharth B, Choudhury A, Vishnubhatla S, Singh SP, Menon R, Kapoor PM, Talwar S, Choudhary S, Airan B. Incidence, microbiological profile of nosocomial infections, and their antibiotic resistance patterns in a high volume Cardiac Surgical Intensive Care Unit. *Ann Card Anaesth.* 2016;19(2):281-287. <https://doi.org/10.4103/0971-9784.179625>
16. Park CB, Suri RM, Burkhart HM, Greason KL, Dearani JA, Schaff HV, Sundt TM 3rd. Identifying patients at particular risk of injury during repeat sternotomy: analysis of 2555 cardiac reoperations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;140(5):1028-1035. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2010.07.086>
17. Head WT, Paladugu N, Kwon JH, Gerry B, Hill MA, Brennan EA, Kavarana MN, Rajab TK. Adhesion barriers in cardiac surgery: A systematic review of efficacy. *J Card Surg.* 2022;37(1):176-185. <https://doi.org/10.1111/jocs.16062>
18. Khromova VN. Postgospital'nye posleoperatsionnye oslozhneniya v abdominal'noy khirurgii. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Meditsinskie nauki.* 2011;2(18):128-135. (in Russ).
19. Rybakov KD, Sednev GS, Morozov AM, Ryzhova TS, Minakova YuYe. /Prevention of the formation of adhesions in the abdominal cavity (literature review)/ *Journal of New Medical Technologies.* 2022;1:22-28. DOI: 10.24412/1609-2163-2022-1-22-28. (in Russ). <https://doi.org/10.24412/1609-2163-2022-1-22-28>
20. Samartsev VA, Kuznetsova MV, Gavrilov VA, Kuznetsova MP, Parshakov AA. Anticommisural barriers in abdominal surgery: up-to-date state of problem. *Perm medical journal.* 2017;XXXIV(2):87-93. (in Russ).
21. Shurygin MG, Shurygina IA. Prospects for prevention of adhesion process during cardiac surgical interventions. *Acta Biomedica Scientifica.* 2021;6(6-2):125-132. (In Russ). <https://doi.org/10.101010.29413/ABS.2021-6-6-2.13>
22. Mokhov EM, Sergeev AN. Implantation antimicrobial prevention of infection in the surgery intervention area. *Siberian Medical Review.* 2017;(3):75-81. (In Russ). <https://doi.org/10.20333/2500136-2017-3-75-81>
23. Nazarchuk AA, Vernygorodskiy SV, Palii VG, Nazarchuk GG. Experimental Research of Effectiveness of Antimicrobial Surgical Materials Containing Decamethoxinum. *Novosti Khirurgii.* 2018;26(1):16-23 (In Russ). <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2018.1.16>

Сведения об авторах

Кудрявцева Юлия Александровна, доктор биологических наук, заведующая отделом экспериментальной медицины, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

Вклад в статью: разработка дизайна исследований, написание статьи.

ORCID: 0000-0002-6134-7468

Канонькина Анастасия Юрьевна, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной, трансляционной и цифровой медицины, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

Вклад в статью: изготовление мембран, имплантация мембран лабораторным животным, гистологический анализ биоптатов.

ORCID: 0000-0003-2810-3100

Ефремова Наталья Александровна, врач-бактериолог, лаборатория клинической диагностики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

Вклад в статью: проведение бактериологических исследований, анализ и интерпретация данных.

ORCID: 0009-0007-7750-3940

Коселев Владислав Александрович, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной, трансляционной и цифровой медицины, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6).

Вклад в статью: оценка структуры мембран методом сканирующей электронной микроскопии, анализ полученных данных.

ORCID: 0000-0001-6840-1116

Authors

Prof. Yuliya A. Kudryavtseva, DSc (Biol), Head of the Department of Experimental Medicine, Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: development of research design, wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-6134-7468

Mrs. Anastasia Yu. Kanonykina, Junior Research Scientist, Laboratory of Molecular, Translational and Digital Medicine, Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: membranes fabrication, implantation of membranes in laboratory animals, histological analysis of biopsy specimens.

ORCID: 0000-0003-2810-3100

Dr. Natalia A. Efremova, MD, bacteriologist, clinical diagnostic laboratory, Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: work of bacteriological studies, analysis and interpretation.

ORCID: 0009-0007-7750-3940

Mr. Vladislav A. Koshelev, Junior Research Scientist, Laboratory of Molecular, Translational and Digital Medicine, Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

Contribution: studying of membrane structure by scanning electron microscopy, analysis of the data obtained.

ORCID: 0000-0001-6840-1116

Статья поступила: 18.11.2023 г.

Принята в печать: 30.11.2023 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Received: 18.11.2023

Accepted: 30.11.2023

Creative Commons Attribution
CC BY 4.0.