

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-2-122-136

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ И АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ СОСУДИСТЫХ ПРОТЕЗОВ РАЗЛИЧНОГО ПОЛИМЕРНОГО СОСТАВА С АТРОМБОГЕННЫМ И ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПОКРЫТИЕМ

Л.В. Антонова¹, Е.О. Кривкина¹, В.Н. Сильников², О.В. Груздева¹, М.А. Резвова¹,
Т.Н. Акентьева¹, Т.В. Глушкова¹, В.О. Ткаченко³, В.М. Сахарова¹, Л.С. Барбараиш¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация

² ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация

³ ФГБУН «Институт ядерной физики имени Г.И. Будкера» СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация

Создание сосудистых протезов с атромбогенным и противомикробным покрытием является очень актуальным направлением. **Цель.** Оценить биосовместимость и антимикробные свойства биodeградируемых сосудистых протезов различного полимерного состава с атромбогенным и противомикробным лекарственным покрытием. **Материалы и методы.** Модифицирование поверхности биodeградируемых сосудистых протезов проведено через комплексообразование с поливинилпирролидоном, который был полимеризован с поверхностью полимерных каркасов посредством ионизирующего излучения в 10 и 15 кГр. Оценены физико-механические свойства и гемосовместимость. Проведены бактериологические исследования с использованием тест-штаммов грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов: *Klebsiella pneumoniae* spp. ozaena № 5055, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* ATCC3177, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853. **Результаты.** Отмечено отсутствие влияния модифицирующих манипуляций с участием ионизирующего излучения на физико-механические характеристики биodeградируемых протезов. Сосудистые протезы с атромбогенным и противомикробным покрытием проявляли атромбогенные свойства при контакте с кровью, в 5–7 раз снижая агрегацию тромбоцитов ($p < 0,05$). Также на поверхности матриц с лекарственным покрытием выявлено снижение адгезии и индекса деформации тромбоцитов (для протезов на основе PCL последний уменьшился в 1,9 раза относительно немодифицированных аналогов ($p < 0,05$), на основе PNBV/PCL – в 1,3 раза относительно немодифицированных аналогов и в 1,5 раза относительно матриц с поливинилпирролидоном ($p < 0,05$). При проведении бактериологических исследований обнаружено местное ингибирующее действие в месте наложения на агар матриц с катионным амфифилом. Зон задержки роста не выявлено. Полимерный состав матриц и использованная доза ионизирующего излучения не привели к разнице в бактериостатических свойствах матриц с амфифилом. **Заключение.** Проведение полного цикла модифицирования поверхности полимерных биodeградируемых протезов на основе как PCL, так и композиции PNBV/PCL, привело к значимому повышению атромбогенных и противомикробных свойств протезов и не ухудшило физико-механические и биосовместимые свойства разрабатываемых конструкций.

Ключевые слова: биodeградируемые полимеры, сосудистый протез малого диаметра, атромбогенное лекарственное покрытие, катионный амфифил.

Для корреспонденции: Антонова Лариса Валерьевна. Адрес: 650002, Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6. Тел. (905) 906-04-51. E-mail: antonova.la@mail.ru

Corresponding author: Larisa Antonova. Address: 6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation. Phone: (905) 906-04-51. E-mail: antonova.la@mail.ru

EVALUATION OF THE BIOCOMPATIBILITY AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF BIODEGRADABLE VASCULAR GRAFTS OF VARIOUS POLYMER COMPOSITION WITH ATROMBOGENIC AND ANTIMICROBIAL DRUG COATING

L.V. Antonova¹, E.O. Krivkina¹, V.N. Silnikov², O.V. Gruzdeva¹, M.A. Rezvova¹, T.N. Akentieva¹, T.V. Glushkova¹, V.O. Tkachenko³, V.M. Sakharova¹, L.S. Barbarash¹

¹ Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

³ Budker Institute of Nuclear Physics, Novosibirsk, Russian Federation

Creation of vascular grafts with atrombogenic and antimicrobial coating is a very important area. **Objective:** to evaluate the biocompatibility and antimicrobial properties of biodegradable vascular grafts of various polymer compositions with atrombogenic and antimicrobial drug coating. **Materials and methods.** Modification of the surface of the biodegradable vascular grafts was performed through complexation with polyvinylpyrrolidone, which was polymerized with polymer scaffold surface by means of ionizing radiation at 10 and 15 kGy. Physical and mechanical properties, as well as hemocompatibility were evaluated. Bacteriological studies were carried out using test strains of gram-negative and gram-positive microorganisms: *Klebsiella pneumoniae* spp. ozaena No. 5055, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* ATCC3177, *Pseudomonas aeruginosa*. **Results.** There was no influence of modifying manipulations with ionizing radiation on the physical and mechanical characteristics of biodegradable prostheses. Vascular grafts with atrombogenic and antimicrobial coatings exhibited atrombogenic properties upon contact with blood, reducing platelet aggregation by 5–7 times ($p < 0.05$). Also decrease in adhesion and platelets deformation index was found on the surface of drug-eluting scaffolds (for PCL-based prostheses, the latter decreased by 1.9 times relative to unmodified counterparts ($p < 0.05$), for PHBV/PCL-based prostheses – by 1.3 times relative to unmodified counterparts and 1.5 times relative to scaffolds with polyvinylpyrrolidone ($p < 0.05$). Bacteriological studies revealed a local inhibitory effect in the place where scaffolds with cationic amphiphile were applied on agar. No growth retardation zones were identified. Polymeric composition of the scaffolds and the used dose of ionizing radiation did not lead to a difference in the bacteriostatic properties of the scaffolds with amphiphile. **Conclusion.** A full cycle of surface modification of biodegradable polymer prostheses based on both PCL and PHBV/PCL composition resulted in significant increase in the atrombogenic and antimicrobial properties of prostheses and did not worsen the physical-mechanical and biocompatible properties of the structures being developed.

Keywords: biodegradable polymers, small diameter vascular grafts, atrombogenic drug coating, cationic amphiphile.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из перспективных современных областей, занимающихся разработкой эффективных протезов кровеносных сосудов, является сосудистая тканевая инженерия [1]. Существуют различные подходы тканевой инженерии кровеносных сосудов, но все они направлены на создание функционального сосудистого имплантата, имеющего строение, схожее с организацией тканей нативной артерии, и демонстрирующего проходимость в отдаленный послеоперационный период. Основой подобного сосудистого протеза является искусственный трубчатый матрикс, чаще всего выполненный из биodeградируемых природных и/или синтетических полимеров, обладающих высокой биосовместимостью. Матрикс представляет собой каркас, который заселяется аутологичными клетками в условиях *in vitro* или *in situ*.

Широкое применение сосудистых протезов в медицине усилило потребность в полимерных материалах с антибактериальными свойствами. Точную этиологию инфицирования сосудистого протеза установить сложно, так как в большинстве случаев она носит многофакторный характер [2]. Обсеменение микроорганизмами сосудистого протеза может происходить как экзогенным, так и эндогенным путем (бактериемия) [3, 4]. Несмотря на размещение стерильного сосудистого протеза в неинфицированном поле, около 20% из них инфицируются, увеличивая процент последующей окклюзии протеза до 27% [5]. Данные обстоятельства требуют дополнительной антимикробной и атромбогенной защиты поверхности сосудистых протезов.

Патогенная микробная адгезия к поверхностям с последующим ростом и колонизацией клеток приводит к образованию биопленки с высокой устойчивостью к антибиотикам и защитным механизмам

хозяина [6, 7], что в клинической практике вызывает необходимость замены протеза. Это создает неудобства и увеличивает риск для пациента. Самый эффективный способ по предупреждению образования биопленки на поверхности протезного материала – предотвращение адгезии бактериальных клеток на начальном этапе инфицирования протезного материала. Этого можно добиться путем замены привычных протезных материалов на антимикробные биосовместимые полимеры [8, 9].

В сочетании с общими проблемами снижения эффективности антибактериальных препаратов в связи с появлением бактерий с множественной лекарственной устойчивостью становится крайне актуальной разработка сосудистого протеза с высокой антибактериальной активностью и низкой вероятностью индуцирования лекарственной устойчивости. Выходом из сложившейся ситуации может быть подход, заключающийся во введении антибактериального препарата непосредственно в структуру протеза. С одной стороны, данный подход решает проблему локальной доставки препарата, а с другой – обеспечивает воздействие препарата на микроорганизмы до момента формирования ими биопленок.

В последнее десятилетие для доставки и пролонгированного высвобождения лекарственных препаратов широкое распространение получили гидрогели – трехмерные полимерные сети, получаемые из водорастворимых или биodeградируемых природных или синтетических полимеров, в которых антибактериальный агент связан с полимерной матрицей посредством нековалентных взаимодействий [10].

Наиболее привлекательными соединениями с антимикробной активностью, к которым не развивается устойчивости микроорганизмов, относятся катионные амфифилы (КА) – молекулы с одной или несколькими положительно заряженными группами и липофильными фрагментами [11, 12]. Данные соединения являются синтетическими аналогами катионных природных антимикробных препаратов: они также способны вызывать нарушение трансмембранного потенциала, утечку цитоплазматического содержимого и в конечном итоге гибель клеток [13]. Большинство этих соединений обладают высокой эффективностью в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий (в том числе к штаммам, устойчивым к антибиотикам) наряду с хорошей селективностью в отношении клеток млекопитающих. Возможность получения амфифилов, разрушающих бактериальные мембраны и в то же время имеющих другие бактериальные мишени, в значительной степени снижает вероятность возникновения резистентности к таким соединениям. Высокая стабильность данных соединений, в том числе в физиологических жидкостях, в сочетании с низкой стоимостью их синтеза делает эти соединения наибо-

лее перспективными кандидатами на роль низкомолекулярных модификаторов полимерных материалов с антибактериальными свойствами.

Создание тканеинженерного сосудистого протеза с высокопористой стенкой – крайне важный момент для полноценной миграции клеток в стенку протеза из кровотока и окружающих тканей и последующей пролиферации и дифференцировки клеток в сосудистом направлении. Однако протез с подобной архитектурой поверхности, безусловно, способен провоцировать тромбообразование. Поэтому дополнительная модификация поверхности тканеинженерных высокопористых сосудистых протезов малого диаметра лекарственными препаратами с антиагрегантной и антикоагулянтной активностью может предотвратить запуск процессов тромбообразования после имплантации подобных протезов в сосудистое русло.

Цель исследования – оценить биосовместимость и антимикробные свойства биodeградируемых сосудистых протезов различного полимерного состава с атромбогенным и противомикробным лекарственным покрытием.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Изготовление биodeградируемых сосудистых протезов

Методом электроспиннинга изготовлены две разновидности полимерных трубчатых каркасов диаметром 4 мм: из 12% раствора поли(ε-капролактона) (PCL; Sigma-Aldrich, США) и из полимерной композиции 2% раствор поли(3-гидроксипропаната-ко-3-гидроксивалерата) (PHBV, Sigma-Aldrich) и 12% раствор поли(ε-капролактона) (PCL, Sigma-Aldrich) в соотношении 1 : 2. В качестве растворителя использован 1,1,1,3,3,3-гексафлуоро-2-пропанол (Sigma-Aldrich, США). Электроспиннинг проводили на приборе Nanon-01A (MECC, Япония). Для изготовления протезов PCL выбран следующий режим: напряжение на игле – 22 kV, скорость подачи раствора полимера – 0,5 мл/ч, скорость вращения коллектора – 1000 об/мин, скорость передвижения иглы – 60 мм/с, расстояние от иглы до намоточного коллектора – 15 см. Для изготовления протезов PHBV/PCL использован режим: напряжение на игле – 20 kV, скорость подачи раствора полимера – 0,5 мл/ч, скорость вращения коллектора – 1000 об/мин, скорость передвижения иглы – 60 мм/с, расстояние от иглы до намоточного коллектора – 15 см.

Формирование атромбогенного покрытия на поверхности биodeградируемых сосудистых протезов

Дополнительная модификация поверхности протезов PCL и PHBV/PCL с целью повышения тром-

борезистентности проведена по собственной оригинальной методике [14]. Гидрогелевое покрытие на внутренней поверхности полимерного протеза формировали с помощью метода радиационной прививочной полимеризации. Для этого протезы PCL и PNBV/PCL диаметром 4 мм погружали на 30 мин в 5% раствор поливинилпирролидона (PVP, К 90; PanReac AppliChem, Германия) в этиловом спирте с полным заполнением внутреннего канала протезов. Далее протезы вынимали из раствора и сушили горизонтально в течение 24 часов на воздухе при комнатной температуре. Для проведения прививки PVP к поверхности протезов изделия помещали в стеклянные пробирки, которые заполняли инертным газом аргоном, герметично запаковывали парафилом и облучали ионизирующим излучением в двух различных режимах (с общей поглощенной дозой 10 и 15 кГр) с использованием импульсного линейного ускорителя ИЛУ-10 с энергией пучка 5 МэВ 50 кВТ (производитель – ИЯФ им. Г.И. Будкера СО РАН, Россия). Таким образом, одновременно с модифицированием происходила стерилизация сосудистых протезов, поэтому дальнейшие манипуляции по формированию лекарственного покрытия проводили в стерильных условиях. Непривитый полимер отмывали водой для инъекций в течение 60 минут. Качество прививки оценивали методом ИК-спектроскопии, анализируя спектры ИК НПВО внутренней поверхности модифицированных протезов на приборе Bruker Vertex 80v (Германия) с приставкой ATR (Германия) в спектральной области 4000–500 см⁻¹.

Для создания лекарственного покрытия были выбраны два вещества – илопрост и катионный амфифил 1,5-Бис-(4-тетрадецил-1,4-дiazониабисцикло[2.2.2]октан-1-ил)пентан тетрабромид без дополнительных реакционноспособных групп.

Илопрост (По, Вауер, Германия) – лекарственный препарат зарегистрирован на территории Российской

Федерации и разрешен к использованию в медицинских целях. Является синтетическим аналогом простаглицина, ингибирует агрегацию, адгезию и реакцию высвобождения тромбоцитов; восстанавливает нарушенную микроциркуляцию при помощи индукции вазодилатации, торможения активации тромбоцитов, активации фибринолиза, восстановления и защиты эндотелия; подавляет адгезию и миграцию лейкоцитов после повреждения эндотелия.

Катионные амфифилы (А) в целом, а 1,5-Бис-(4-тетрадецил-1,4-дiazониабисцикло[2.2.2]октан-1-ил)пентан тетрабромид (Нано Тех-С, Россия) в частности, обладают рибонуклеазной активностью, и как следствие, высокой антибактериальной и противовирусной активностью [15–17]. Дополнительным аргументом в пользу выбора данного соединения является тот факт, что оно прошло все необходимые испытания и используется в ветеринарии в качестве противовирусного препарата Тривиджект (ООО «ТрионисВет», Россия) в виде раствора для инъекций.

Катионный амфифил, 1,5-Бис-(4-тетрадецил-1,4-дiazониабисцикло[2.2.2]октан-1-ил)пентан тетрабромид без дополнительных реакционноспособных групп (соединение 3, рис. 1), был синтезирован, как описано ранее [16]. ЯМР-1Н спектр полученного соединения (3) совпадает с литературными данными [16].

Присоединение илопроста и катионного амфифила 1,5-Бис-(4-тетрадецил-1,4-дiazониабисцикло[2.2.2]октан-1-ил)пентан тетрабромид к гидрогелевому покрытию выполняли посредством комплексообразования. Готовили стерильный модифицирующий раствор, содержащий катионный амфифил (А) в концентрации 0,25 мг/мл. Для этого 0,025 г амфифила 1,5-Бис-(4-тетрадецил-1,4-дiazониабисцикло[2.2.2]октан-1-ил)пентан тетрабромид растворяли в 1–2 мл метанола. Полученный раствор медленно при пере-

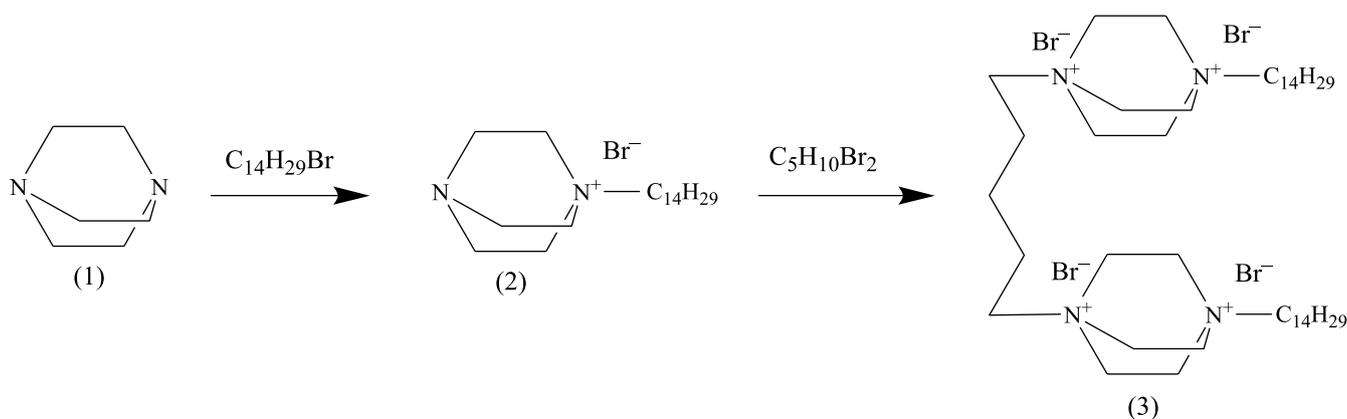


Рис. 1. Схема синтеза 1,5-Бис-(4-тетрадецил-1,4-дiazониабисцикло[2.2.2]октан-1-ил)пентан тетрабромид

Fig. 1. Synthesis scheme of 1,5-Bis-(4-tetradecyl-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octan-1-yl)pentane tetrabromide

мешивании добавляли в колбу со стерильной водой для инъекций и доводили объем до 98 мл. После этого в раствор вводили 2 мл илопроста (По) из расчета 20 мкг на 100 мл (0,2 мкг/мл). Для присоединения лекарственных препаратов к PVP покрытию сосудистые протезы выдерживали в модифицирующем растворе, содержащем лекарственные препараты, в течение 30 минут. Далее готовые сосудистые протезы PCL/PVP/По/А и PNBV/PCL/PVP/По/А высушивали на воздухе в стерильных условиях и размещали в стерильные емкости для хранения.

В качестве немодифицированных контролей выступили образцы PCL и PNBV/PCL, в качестве групп сравнения – образцы PCL/PVP и PNBV/PCL/PVP с воздействием ионизирующего излучения в дозе 10 и 15 кГр. Все работы проведены в условиях стерильного бокса. Перечень опытных и контрольных групп представлен в табл. 1.

Таблица 1

Виды полимерных образцов
Types of polymer samples

Наименование образцов	
PNBV/PCL	PCL
PNBV/PCL/PVP – 10 кГр	PCL/PVP – 10 кГр
PNBV/PCL/PVP – 15 кГр	PCL/PVP – 15 кГр
PNBV/PCL/PVP/По/А – 10 кГр	PCL/PVP/По/А – 10 кГр
PNBV/PCL/PVP/По/А – 15 кГр	PCL/PVP/По/А – 15 кГр

Оценка физико-механических свойств

Оценку механических свойств биodeградируемых сосудистых протезов до и после осуществления дополнительного атромбогенного лекарственного покрытия проводили в условиях одноосного растяжения на универсальной испытательной машине серии Z (Zwick/Roell) с использованием датчика с номинальной силой 50 Н. Скорость перемещения траверсы при испытании составила 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.). В качестве контроля использовали интактную сонную артерию овцы.

Оценка гемосовместимости

Гемолиз эритроцитов

Исследование гемолиза эритроцитов после контакта с поверхностью полимерных образцов проводили согласно стандарту ISO 10993.4. Использовали свежую донорскую кровь, в которую добавляли цитрат натрия 3,8% в соотношении 1 : 9 (цитрат : кровь).

Полимерные образцы размером 25 см² в количестве 5 шт. для каждого вида материала помещали в бюксы, содержащие 10 мл физиологического раствора. Бюксы выдерживали в термостате при температуре 37 °С в течение 120 мин. В качестве положительного и отрицательного контролей использовали физиологический раствор и дистиллированную воду соответственно. Через два часа после инкубации в каждый бюкс добавляли по 200 мкл цитратной крови и снова помещали в термостат на 60 мин при 37 °С. После инкубации полимерные образцы изымали из бюксов в соответствующие пробирки и центрифугировали в течение 10 минут при 2800 об/мин с целью осаждения эритроцитов. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре GENESYS 6 (Thermo SCIENTIFIC, США) при длине волны 545 нм.

Степень гемолиза (Н) в % определяли по формуле [18, 19]:

$$H (\%) = \frac{D_t - D_{ne}}{D_{pe} - D_{ne}} \times 100\%$$

где D_t – оптическая плотность пробы, инкубируемой с исследуемым материалом; D_{ne} – оптическая плотность положительного контроля; D_{pe} – оптическая плотность пробы после 100% гемолиза.

За полное отсутствие гемолиза принимали среднее значение показателя оптической плотности при измерении физиологического раствора с кровью (положительный контроль), равное 0. За 100% гемолиз принимали среднее значение оптической плотности прибора при измерении дистиллированной воды с кровью (отрицательный контроль), которое составило 0,279.

Агрегация тромбоцитов

Исследование проводили согласно стандарту ISO 10993.4. Использовали свежую донорскую кровь, в которую добавляли цитрат натрия 3,8%, в соотношении 1 : 9 (цитрат : кровь). Для получения обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) кровь центрифугировали в течение 10 минут при 1000 об/мин. Бедную тромбоцитами плазму (БТП) получали при помощи повторного центрифугирования OTP в течение 20 минут при 4000 об/мин. БТП использовали для калибровки прибора. В качестве положительного контроля выступила интактная обогащенная тромбоцитами плазма. Измерения осуществляли в спонтанном режиме без индукторов агрегации. Для восстановления уровня ионов Ca⁺² в цитратной крови использовали раствор CaCl₂ с молекулярной массой 0,025 М, после чего производили измерения. Соотношение пробы и реагента составило 250 мкл OTP + 25 мкл CaCl₂. Время контакта исследуемых образцов с OTP – 3 минуты. Измерение максимума агрегации

тромбоцитов крови проводили на полуавтоматическом анализаторе агрегации тромбоцитов «АРАСТ 4004» (LAViТес, Германия).

Адгезия тромбоцитов

Образцы полимерных матриц (n = 2) размером 0,5 см² инкубировали в течение 2 ч при 37 °С в 300 мкл обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП), полученной из свежей цитратной донорской крови при ее центрифугировании в течение 10 мин при 1200 об/мин. Далее исследуемые образцы промывали фосфатно-солевым буферным раствором (рН – 7,4) с целью удаления неадгезированных компонентов плазмы. После чего образцы фиксировали в 2% растворе глутарового альдегида в течение 24 часов, промывали PBS и дегидротировали в серии спиртов восходящей концентрации от 30 до 100% в течение 15 минут в каждом с последующим досушиванием при комнатной температуре. Затем образцы монтировали на специальные столики с помощью углеродного скотча и на их поверхности формировали токопроводящее (Au/Pd) покрытие при помощи вакуумной установки EM ACE200 (Leica Mikrosysteme GmbH, Австрия). Для анализа использовали 8 наиболее характерных полей, выбранных случайным образом. Адгезивную способность поверхности материалов оценивали по количеству тромбоцитов на 1 мм², по преобладанию типа тромбоцита на поверхности и по индексу их деформации (ИД), который рассчитывали по формуле [18–20]:

$$\text{ИД} = (\text{Количество типа I} \times 1 + \text{количество типа II} \times 2 + \text{количество типа III} \times 3 + \text{количество типа IV} \times 4 + \text{количество типа V} \times 5) / \text{общее количество тромбоцитов}$$

Типы тромбоцитов в зависимости от активации:

I – тромбоцит дискообразной формы, без деформации;

II – тромбоцит увеличен в размере с зачатками псевдоподий в виде выпячиваний;

III – тромбоцит значительно увеличен в размере, неправильной формы, с ярко выраженными псевдоподиями, тромбоциты имеют тенденцию скапливаться в более крупные конгломераты;

IV – распластаный тромбоцит, цитоплазма распространяется между псевдоподиями;

V – тромбоцит в виде пятна с гранулами, за счет распространения цитоплазмы псевдоподии не могут быть идентифицированы.

Бактериологические исследования

Для проведения бактериологического исследования использовали следующие штаммы микроорганизмов: *Klebsiella pneumoniae* spp. *ozaena* № 5055, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* ATCC3177, *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC27853. Данные микроорганизмы были выбраны для эксперимента, ввиду того что они наиболее часто встречаются при инфекционных осложнениях в кардиохирургии. Определение чувствительности контрольных штаммов микроорганизмов к исследуемым полимерным матрицам проводили с помощью диско-диффузионного метода оценки чувствительности бактерий к катионному амфифилу (А), введенному в состав матрикса посредством комплексообразования с PVP в концентрации 0,25 мг/мл. Для приготовления суспензии микроорганизмов использовали метод прямого суспендирования колоний в стерильном изотоническом растворе до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда. Не позднее чем через 60 минут бактериальную суспензию наносили на чашки с агаром, штриховыми движениями в трех направлениях на всю поверхность агара таким образом, чтобы штрихи плотно прилегали друг к другу. Диски с полимерными матриксами раскладывали не позднее 15 минут после инокуляции чашек. Чашки инкубировали в термостате при температуре 35–36 °С в течение 24–48 часов.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных производили в программе Prism 7 (GraphPad, США). Характер распределения в выборках оценивали при помощи критерия Колмогорова–Смирнова. Данные представлены в виде медианы и процентилей (Me, 25–75%). Для множественного сравнения использовали h-критерий Краскела–Уоллиса с применением поправки FDR, достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты прививочной полимеризации поливинилпирролидона

В ИК-спектрах немодифицированных и модифицированных PVP матриц PNBV/PCL присутствовали полосы валентных колебаний C=O (эфирный карбонил) при 1724 см⁻¹, валентные полосы C–O были отмечены при 1278 и 1054 см⁻¹ (рис. 2) [21]. В спектрах всех исследуемых образцов также наблюдали полосы небольшой интенсивности при 2942 и 2865 см⁻¹, соответствующие асимметричным колебаниям метилен-кислородной группы (CH₂–O) и симметричным колебаниям метиленовой группы (CH₂–) соответственно [22]. В отличие от немодифицированных образцов, в спектрах PVP-модифицированных матриц присутствовала полоса при 1654 см⁻¹, относящаяся к карбонилу амидной группы пирролидинового кольца [23], что свидетельствует о прививке полимера к поверхности сосудистого протеза. Отсутствие изменений положения и интенсивности характеристических полос в ИК-спектре

PHBV/PCL говорит о незначительном влиянии условий модифицирования, в частности ионизирующего излучения на структуру материала. Аналогичная картина была получена при исследовании полимерных сосудов на основе PCL.

Физико-механические свойства

Оценку долгосрочной проходимости разрабатываемых сосудистых протезов планируется проводить на модели овцы. Поэтому в процессе изучения физико-механических свойств протезов в качестве

дополнительной группы сравнения выбрана сонная артерия овцы.

Процедура полимеризации промежуточного полимера PVP с поверхностью матриц из PCL с помощью ионизирующего излучения в 10 и 15 кГр снизила в 1,6 раза предел прочности ($p < 0,05$) и незначительно повысила Модуль Юнга данных матриц (табл. 2).

В то же время модификация PVP матриц PHBV/PCL не отразилась на их прочностных свойствах, но привела к повышению Модуля Юнга в 1,9 раза

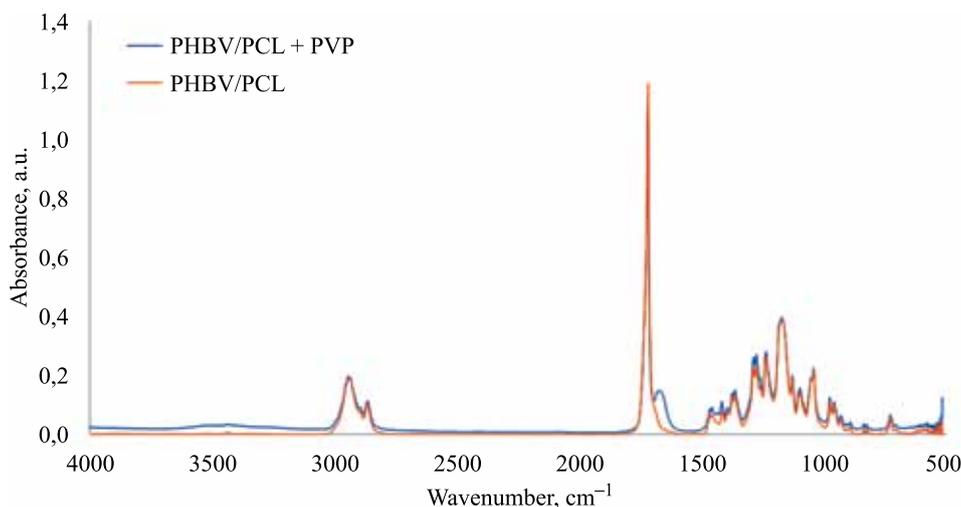


Рис. 2. ИК-спектры немодифицированной и модифицированной PVP внутренней поверхности полимерного сосудистого графта на примере PHBV/PCL

Fig. 2. IR spectra of unmodified and modified PVP of the inner surface of a polymer vascular graft using PHBV/PCL as an example

Таблица 2

Механические свойства полимерных трубчатых каркасов до и после модифицирования в сравнении с сонной артерией овцы

Mechanical properties of polymer tubular scaffolds before and after modification in comparison with sheep carotid artery

Вид образца	n	Напряжение, МПа	Относительное удлинение, %	Модуль Юнга, МПа
Сонная артерия овцы	14	1,2 (1,06–1,9)	158,5 (126,0–169,5)	0,49 (0,39–0,66)
PHBV/PCL	7	3,99 (3,71–4,23) [#]	1438,0 (1403,0–1510,0) [#]	11,52 (10,66–12,21) [#]
PCL	7	5,84 (5,56–6,13) [#]	1391,0 (1350,0–1413,0) [#]	9,33 (9,23–9,55) [#]
PHBV/PCL/PVP – 10 кГр	7	3,74 (3,5–3,83) [#]	1302,0 (1234,0–1360,0) ^{* #}	22,39 (21,59–23,71) ^{* #}
PHBV/PCL/PVP – 15 кГр	7	3,61 (3,23–4,01) [#]	1202,0 (1120,0–1298,0) ^{* #}	19,8 (18,23–20,9) ^{* #}
PCL/PVP – 10 кГр	7	3,56 (3,51–3,7) ^{* #}	1297,0 (1258,0–1342,0) ^{* #}	10,66 (10,37–11,01) ^{* #}
PCL/PVP – 15 кГр	7	3,75 (3,48–4,01) ^{* #}	1183,0 (1157,0–1215,0) ^{* #}	12,86 (11,86–14,06) ^{* #}
PHBV/PCL/PVP/Ио/А – 10 кГр	7	3,57 (3,28–3,93) [#]	1258,0 (1200,0–1392,0) ^{* #}	15,24 (14,78–15,84) ^{* #}
PHBV/PCL/PVP/Ио/А – 15 кГр	7	3,89 (3,88–3,99) [#]	1364,0 (1343,0–1393,0) ^{* #}	14,55 (13,22–15,24) ^{* #}
PCL/PVP/Ио/А – 10 кГр	7	3,77 (3,66–3,87) ^{* #}	1421,0 (1380,0–1467,0) ^{* ▲}	9,54 (9,43–9,76) ^{# ▲}
PCL/PVP/Ио/А – 15 кГр	7	4,02 (3,8–4,18) ^{* #}	1454,0 (1433,0–1458,0) ^{* # ▲}	10,15 (9,82–10,57) ^{* # ▲}

Примечание. * – $p < 0,05$ относительно PHBV/PCL или PCL; [#] – $p < 0,05$ относительно сонной артерии овцы; [▲] – $p < 0,05$ относительно PHBV/PCL-PVP облучение 15 кГр или PCL-PVP облучение 15 кГр.

Note. * – $p < 0.05$ relative to PHBV/PCL or PCL; [#] – $p < 0.05$ relative to the sheep carotid artery; [▲] – $p < 0.05$ relative to 15 kGy PHBV/PCL-PVP irradiation or 15 kGy PCL-PVP irradiation.

($p < 0,05$). Последующая модификация амфифилом и илопростом методом комплексообразования не повлияла на показатель прочности матриксов PCL, модифицированных PVP, но снизила жесткость матриксов PNBV/PCL, приобретенную в процессе полимеризации с PVP. Таким образом, процедура формирования лекарственного покрытия на поверхности сосудистых протезов PNBV/PCL и PCL с участием ионизирующего излучения не приводила к значимому изменению физико-механических характеристик протезов.

Гемосовместимые свойства

Изучение агрегационной активности тромбоцитов выявило статистически значимые отличия между интактной ОТП и всеми исследуемыми группами матриксов (табл. 3).

При сравнении двух видов немодифицированных матриксов PNBV/PCL и PCL между собой достоверных отличий не выявлено. Полимеризация поверхности матриксов с PVP под воздействием ионизирующего излучения 15 кГр несколько увеличила агрегацию тромбоцитов к поверхности матриксов. Однако последующая процедура комплексообразования полимеризованного PVP с илопростом и амфифилом в 6–7 раз снизила агрегацию тромбоцитов по сравнению с результатами интактной ОТП ($p < 0,05$). Такое значимое снижение агрегации тромбоцитов, по-видимому, связано с действием илопроста. При отсутствии амфифила в дозировке 0,25 мг/мл не при-

вело к достоверному увеличению агрегации тромбоцитов.

Гемолиз эритроцитов не превышал допустимые 2% при контакте эритроцитов с поверхностью всех разновидностей матриксов. Межгрупповых достоверных различий также не выявлено.

Адгезия тромбоцитов

После контакта немодифицированных матриксов PNBV/PCL и PCL с интактной ОТП количество тромбоцитов на поверхности матриксов PCL было в 3 раза больше, чем на поверхности PNBV/PCL (табл. 4, рис. 3, 4). На немодифицированных матриксах преобладали тромбоциты II и III типа, однако ИД тромбоцитов после контакта с поверхностью PCL оказался в 1,4 раза выше ($p < 0,05$), чем при контакте тромбоцитов с поверхностью матриксов PNBV/PCL.

После полимеризации поверхности PCL-матриксов с PVP с применением облучения в дозе 10 и 15 кГр не отмечено достоверных изменений степени адгезии тромбоцитов относительно немодифицированных PCL-матриксов. Однако обращает на себя внимание увеличение доли тромбоцитов IV типа при использовании облучения дозой 15 кГр.

Пришивка PVP к поверхности PNBV/PCL матриксов увеличила степень адгезии тромбоцитов вне зависимости от используемой дозы облучения почти в 2 раза с некоторым увеличением числа тромбоцитов IV типа при использовании дозы облучения 15 кГр. Однако ИД тромбоцитов после полимери-

Таблица 3

Максимум агрегации тромбоцитов крови человека после контакта с модифицированными и немодифицированными полимерными матриксами

Maximum aggregation of human blood platelets after contact with modified and unmodified polymer scaffolds

Вид образца	Максимум агрегации тромбоцитов, % Me (25–75%)	Степень гемолиза эритроцитов, % Me (25–75%)
PNBV/PCL	87,23 (83,95–89,84)*	0,504 (0,0–1,01)
PCL	87,23 (83,27–89,35)*	0,504 (0,0–1,01)
PNBV/PCL/PVP – 10 кГр	85,8 (84,37–89,03)*	0,704 (0,5–1,01)
PNBV/PCL/PVP – 15 кГр	88,53 (86,59–89,37)*	0,2 (0,0–0,5)
PCL/PVP – 10 кГр	83,51 (82,68–86,60)*	0,2 (0,0–0,5)
PCL/PVP – 15 кГр	90,12 (82,57–90,60)*	0,704 (0,5–1,01)
PNBV/PCL/PVP/Ило/А – 10 кГр	12,1 (11,05–12,78)* #	0,2 (0,0–0,5)
PNBV/PCL/PVP/Ило/А – 15 кГр	12,18 (11,15–12,24)* #	0,5 (0,0–0,5)
PCL/PVP/Ило/А – 10 кГр	10,86 (9,04–11,39)* #	0,504 (0,0–1,01)
PCL/PVP/Ило/А – 15 кГр	10,7 (10,38–17,23)* #	0,404 (0,0–1,01)
Интактная обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП)	74,65 (72,45–75,31)	–

Примечание. * – $p < 0,05$ относительно интактной ОТП; # – $p < 0,05$ относительно немодифицированных матриксов PCL и PNBV/PCL.

Note. * – $p < 0.05$ relative to intact PRP; # – $p < 0.05$ relative to unmodified PCL and PNBV/PCL scaffolds.

зации поверхности матриксов с PVP не претерпел достоверных изменений.

При анализе поверхности матриксов PCL/PVP/По/А – 10 кГр после контакта с интактной ОТП выявлено достоверное снижение относительно матриксов PCL/PVP – 10 кГр как количества адгезированных тромбоцитов, так и ИД тромбоцитов – в 1,5 и 1,7 раза соответственно ($p < 0,05$). При контакте с поверхностью матрикса PCL/PVP/По/А – 15 кГр исследуемые показатели уменьшились в 1,3 и 1,5 раза соответственно.

Формирование атромбогенного и противомикробного лекарственного покрытия По/А на поверхности матриксов PHBV/PCL/PVP – 15 кГр в 1,5 раза снизило количество адгезированных тромбоцитов и в 2 раза уменьшило количество тромбоцитов III типа с превалированием на поверхности матриксов PHBV/PCL/PVP/По/А – 10 кГр и PHBV/PCL/PVP/По/А – 15 кГр тромбоцитов I и II типа, что в итоге привело к снижению ИД тромбоцитов в 1,5 раза ($p < 0,05$).

Результаты бактериологического исследования

На рис. 5, 6 представлены фотографии, полученные при оценке бактериостатических свойств матриксов различного полимерного состава, содержащих катионный амфифил в концентрации 0,25 мг/мл при дозах облучения 10 и 15 кГр. В сравнительном

аспекте изучены бактериостатические свойства немодифицированных матриксов. Выявлено, что во всех образцах, содержащих катионный амфифил, подавление роста *Klebsiella pneumoniae* spp. ozaena № 5055, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* ATCC3177, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 носило местное ингибирующее действие в месте наложения матриксов на агар. Зон задержки роста не выявлено. Полимерный состав матриксов и использованная доза ионизирующего излучения не привели к разнице в бактериостатических свойствах матриксов с амфифилом.

Немодифицированные матриксы не обладали бактериостатическим эффектом: в месте наложения матриксов продолжен рост колоний.

Для того чтобы проверить возможность матриксов вызывать гемолиз эритроцитов, был использован агар Мюллера–Хинтона с кровью (рис. 7). *K. pneumoniae* не обладает гемолитическими свойствами, поэтому был выбран именно этот микроорганизм. В результате наблюдалось отсутствие гемолиза как вокруг матриксов, так и в зоне его локации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Поверхностная модификация биодеградируемых сосудистых протезов на основе PCL и PHBV/PCL осуществлена с помощью формирования на их

Таблица 4

Показатели адгезии тромбоцитов после контакта с полимерными матриксами PHBV/PCL и PCL в зависимости от варианта поверхностной модификации
Platelet adhesion indicators after contact with polymer scaffolds PHBV/PCL and PCL depending on the surface modification variant

Вид образца	Тип тромбоцита, %					Количество тромбоцитов на 1 мм ² Me (25–75%)	Индекс деформации Me (25–75%)
	I	II	III	IV	V		
PHBV/PCL	7,7	30,8	53,8	7,7	0,0	578,0 (0,0–1349,0)	1,75 (0,0–2,9)
PCL	4,7	46,5	41,9	4,7	2,3	1734,0 (866,9–3179,0)*	2,5 (2,0–2,7)*
PHBV/PCL/PVP – 10 кГр	49,0	1,0	48,0	2,0	0,0	953,0 (1,0–2689,0)*	1,85 (0,0–2,9)
PHBV/PCL/PVP – 15 кГр	3,0	27,3	45,5	21,2	3,0	1156,0 (0,0–3082,0)*	1,91 (0,0–2,9)
PCL/PVP – 10 кГр	8,1	64,9	16,2	10,8	0,0	1927,0 (96,3–3082,0)**	2,2 (0,5–2,5)
PCL/PVP – 15 кГр	12,5	25,5	12,5	50,0	0,0	1728,0 (846,4–3058,0) ^σ	1,9 (0,0–2,8)
PHBV/PCL/PVP/По/А – 10 кГр	25,0	50,0	21,6	3,4	0,0	768,6 (0–1366,0)	1,3 (0,0–2,6)**
PHBV/PCL/PVP/По/А – 15 кГр	12,5	62,5	18,8	6,2	0,0	770,6 (0–1445,0) ^σ	1,3 (0,0–2,4) ^σ
PCL/PVP/По/А – 10 кГр	3,7	56,0	31,4	8,9		1310,0 (0,0–3176,0) ^α	1,3 (0,0–2,6) ^{# α}
PCL/PVP/По/А – 15 кГр	4,7	6,3	71,8	17,2		1349,0 (0,0–3275,0)	1,3 (0,0–2,8) ^{# β}

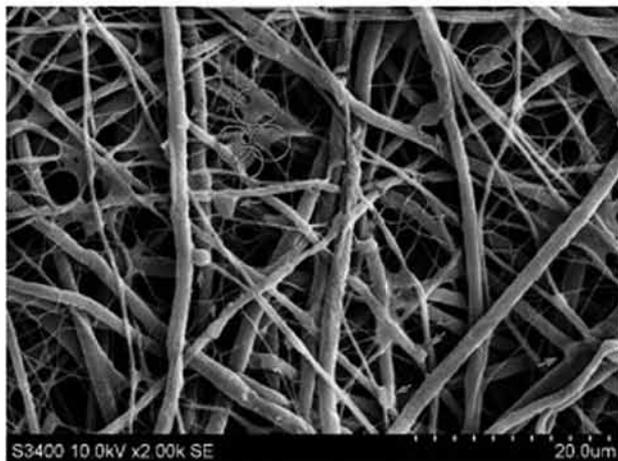
Примечание. * – $p < 0,05$ относительно показателей матрикса PHBV/PCL; ** – $p < 0,05$ относительно показателей матрикса PHBV/PCL/PVP – 10 кГр; ^σ – $p < 0,05$ относительно показателей матрикса PHBV/PCL/PVP – 15 кГр; [#] – $p < 0,05$ относительно показателей матрикса PCL; ^α – $p < 0,05$ относительно показателей матрикса PCL/PVP – 10 кГр; ^β – $p < 0,05$ относительно показателей матрикса PCL/PVP – 15 кГр.

Note. * – $p < 0.05$ relative to the parameters of the PHBV/PCL scaffold; ** – $p < 0.05$ relative to the parameters of the PHBV/PCL/PVP – 10 kGy scaffold; ^σ – $p < 0.05$ relative to the parameters of the PHBV/PCL/PVP – 15 kGy scaffold; [#] – $p < 0.05$ relative to the parameters of the PCL scaffold; ^α – $p < 0.05$ relative to the parameters of the PCL/PVP – 10 kGy scaffold; ^β – $p < 0.05$ relative to the parameters of the PCL/PVP – 15 kGy scaffold.

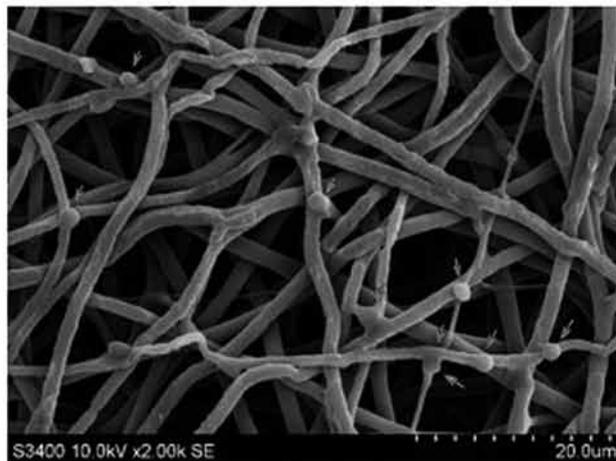
внутренней поверхности гидрогелевого покрытия из поливинилпирролидона, который способен не только связывать лекарственные средства в результате

комплексообразования, но и временно (до своего полного рассасывания) занимать полость пор, что значительно снижает риск адгезии тромбоцитов к по-

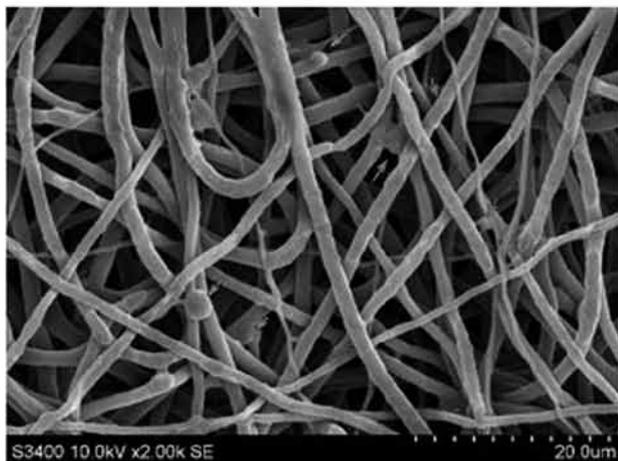
PCL



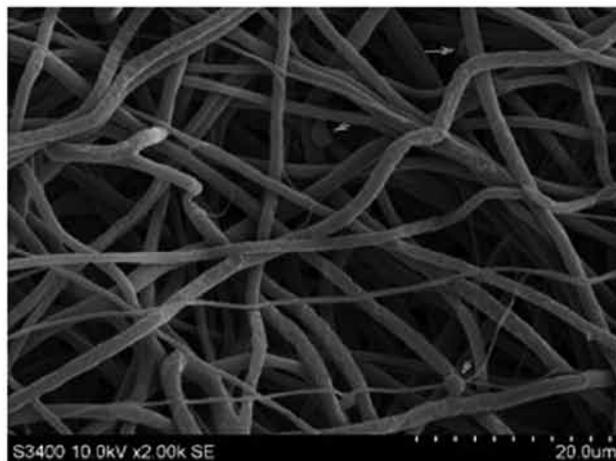
PCL/PVP – 10 кГр



PCL/PVP – 15 кГр



PCL/PVP/По/А – 10 кГр



PCL/PVP/По/А – 15 кГр

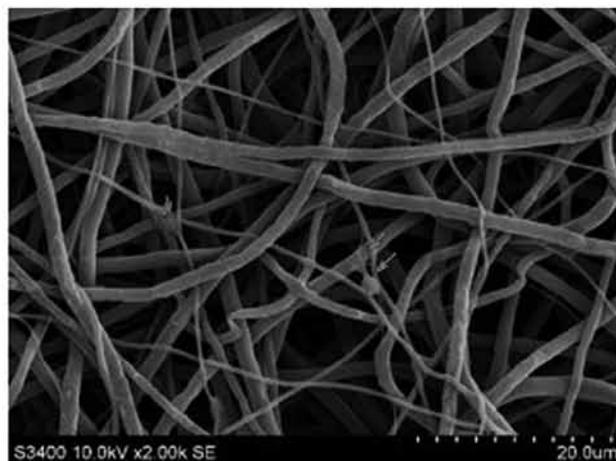


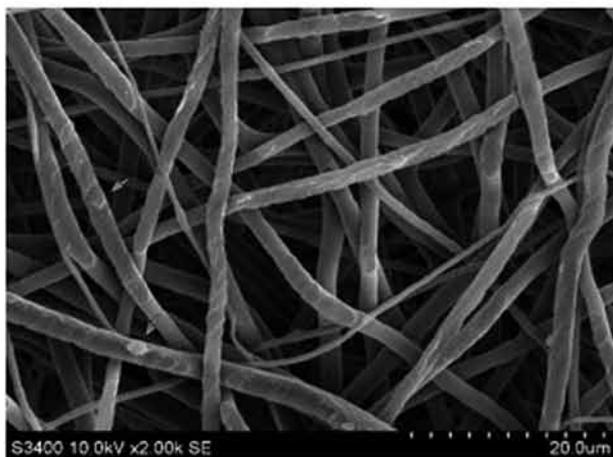
Рис. 3. Поверхность матриц PCL после контакта с обогащенной тромбоцитами плазмой, $\times 2000$. Стрелками и окружностями указаны тромбоциты

Fig. 3. Surface of PCL scaffolds after contact with platelet-rich plasma, $\times 2000$. Arrows and circles indicate platelets

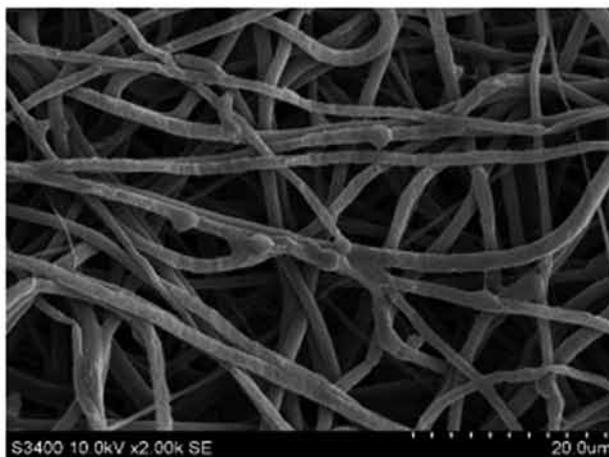
верхности протеза после имплантации последнего в сосудистое русло. Кроме того, известная гидрофильность PVP способствует снижению степени адгезии

белковых молекул и форменных элементов крови, в частности, тромбоцитов, а также предотвращению конформационных изменений белковых структур.

PHBV/PCL



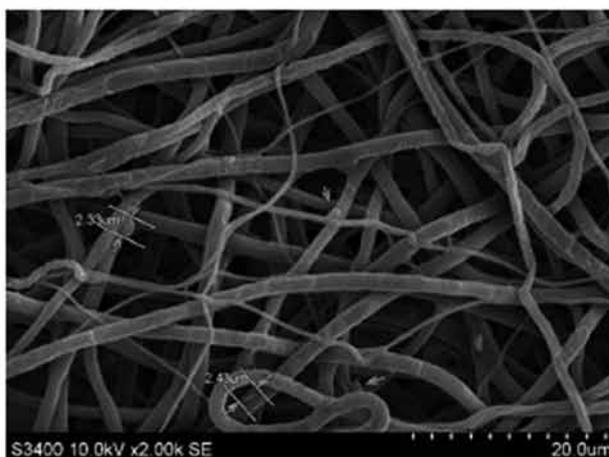
PHBV/PCL/PVP – 10 κГр



PHBV/PCL/PVP – 15 κГр



PHBV/PCL/PVP/По/А – 10 κГр



PHBV/PCL/PVP/По/А – 15 κГр

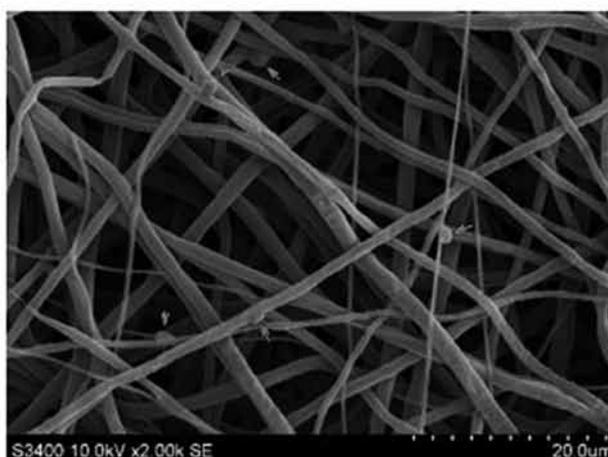


Рис. 4. Поверхность матрицков PHBV/PCL после контакта с обогащенной тромбоцитами плазмой, ×2000. Стрелками указаны тромбоциты

Fig. 4. Surface of PHBV/PCL scaffolds after contact with platelet-rich plasma, ×2000. Arrows indicate platelets

Подвижность макромолекулярных цепей в гидрогелях также обуславливает высокую скорость десорб-

ции молекул белка, что усиливает атромбогенный потенциал PVP [24].

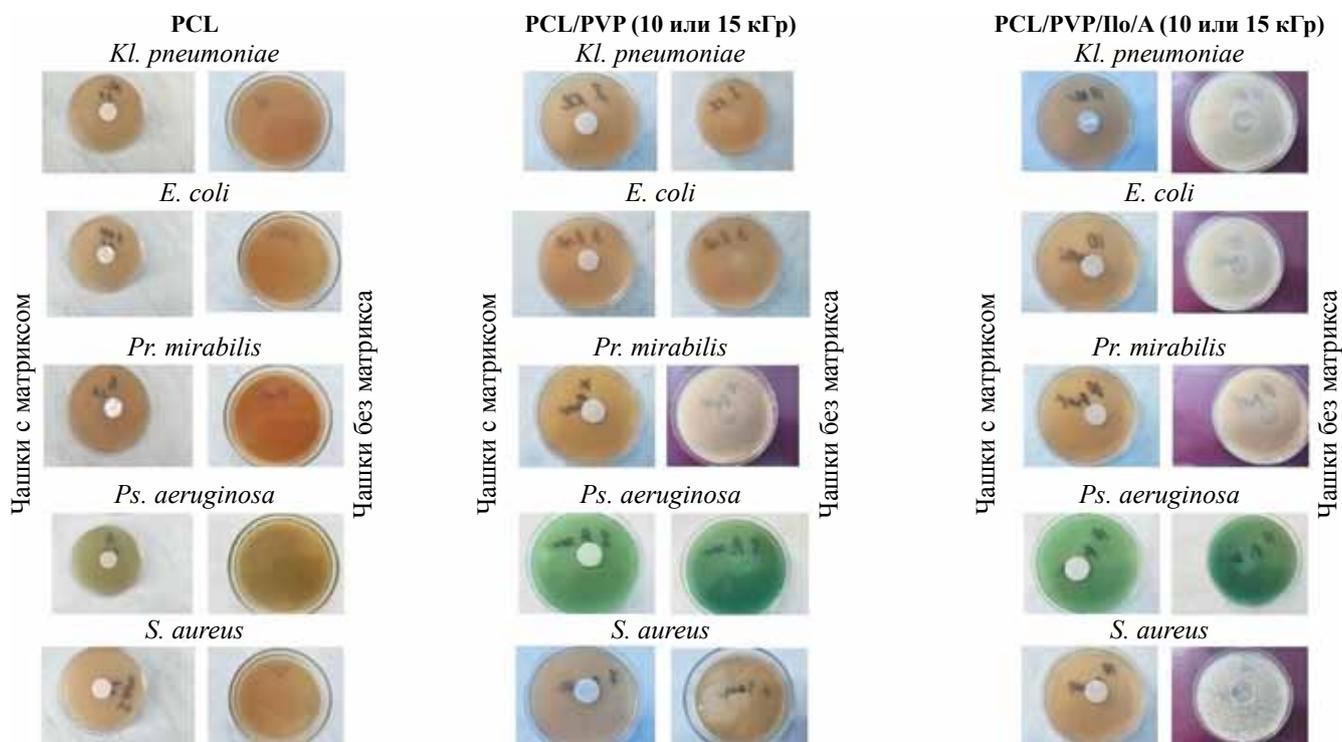


Рис. 5. Бактериостатические свойства матриксов PCL до и после модифицирования катионным амфифилом и илопростом

Fig. 5. Bacteriostatic properties of PCL scaffolds before and after modification with cationic amphiphile and iloprost

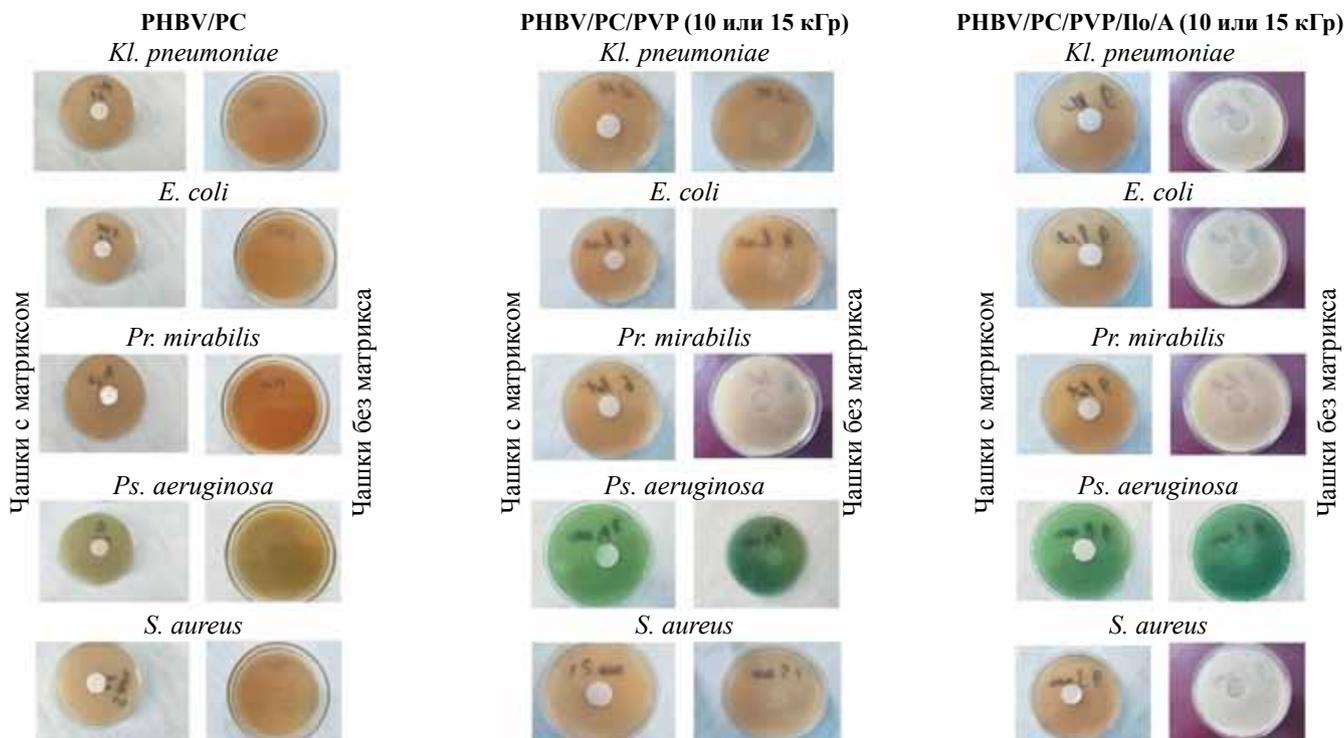


Рис. 6. Бактериостатические свойства матриксов PHBV/PCL до и после модифицирования катионным амфифилом и илопростом

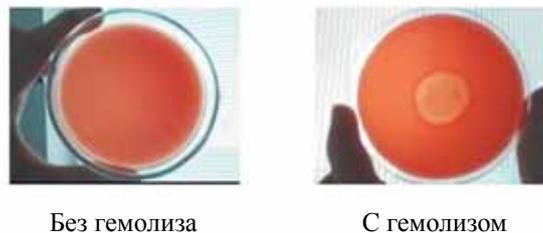
Fig. 6. Bacteriostatic properties of PHBV/PCL scaffolds before and after modification with cationic amphiphile and iloprost

Пришивку PVP к поверхности биodeградируемых протезов проводили с помощью метода радиационной прививочной полимеризации с использованием общих поглощенных доз 10 и 15 кГр. При этом доза 15 кГр используется для стерилизации изделий. Однако ионизирующее излучение способно влиять на биосовместимые свойства. Доказано, что использование общей поглощенной дозы 15 кГр недостоверно увеличивало адгезию тромбоцитов и их деформацию, не оказывая достоверного изменения физико-механических свойств протезов. Тем не менее последующие этапы отмывки и присоединения лекарственных препаратов методом комплексообразования нивелировали эти негативные моменты ионизирующего излучения в отношении увеличения адгезии и деформации тромбоцитов. Следовательно, в последующем выбор дозы облучения 15 кГр будет предпочтительнее, так как, не влияя пагубно на биосовместимость конечного изделия, позволяет одновременно проводить полимеризацию поливи-

нилпирролидона с поверхностью биodeградируемых протезов и стерилизацию протезов.

С учетом способности PVP образовывать комплексы присоединение лекарственных препаратов к свободным реакционным группам гидрогеля PVP выполнено методом комплексообразования. Такой способ включения лекарственных препаратов в отличие от ковалентного связывания позволяет максимально сохранить биологическую активность лекарственных веществ, не создавая стерических препятствий и не блокируя центры связывания молекул с факторами свертывания крови. Эффективность илопроста и 1,5-Бис-(4-тетрадецил-1,4-диазониабцикло[2.2.2]октан-1-ил)пентан тетрабромиды после комплексообразования с PVP доказана как в тестах на гемосовместимость, так и при проведении бактериологических исследований. Выявлено значимое снижение адгезии тромбоцитов к поверхности протезов с лекарственным покрытием в сравнении с немодифицированными аналогами и матриксами

Контрольные чашки



Опытные чашки после удаления с агара исследуемых матриц

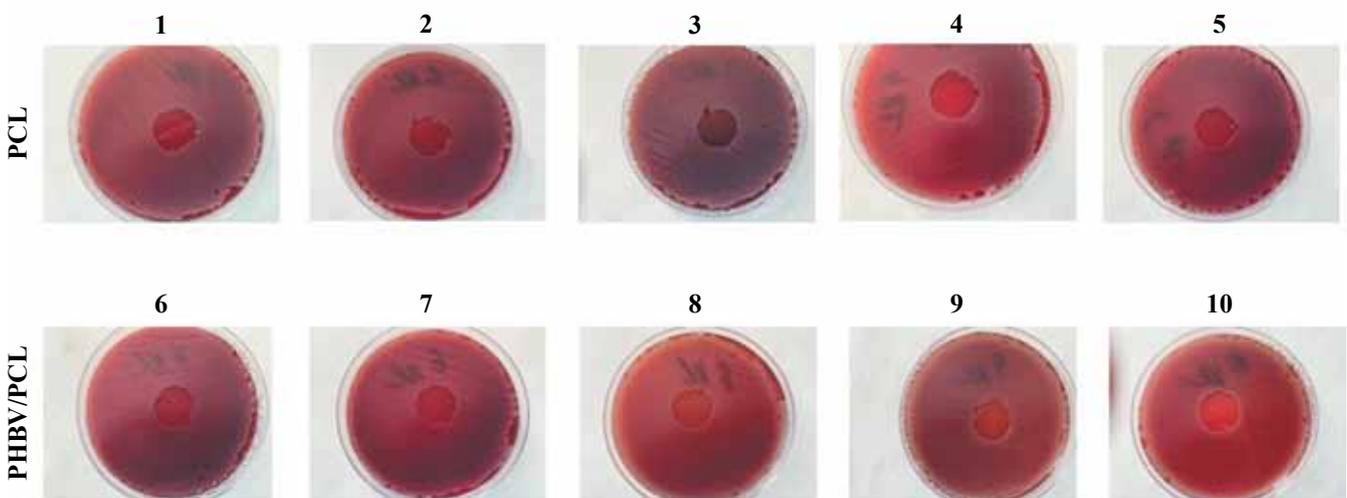


Рис. 7. Задержка роста *K. pneumoniae* и отсутствие гемолиза в месте локации полимерных матриц: 1 – PCL; 2 – PCL/PVP – 10 кГр; 3 – PCL/PVP – 15 кГр; 4 – PCL/PVP/Ilo/A – 10 кГр; 5 – PCL/PVP/Ilo/A – 15 кГр; 6 – PHBV/PCL; 7 – PHBV/PCL/PVP – 10 кГр; 8 – PHBV/PCL/PVP – 15 кГр; 9 – PHBV/PCL/PVP/Ilo/A – 10 кГр; 10 – PHBV/PCL/PVP/Ilo/A – 15 кГр

Fig. 7. Delayed growth of *K. pneumoniae* and absence of hemolysis at the location of polymer matrices: 1 – PCL; 2 – PCL/PVP – 10 kGy; 3 – PCL/PVP – 15 kGy; 4 – PCL/PVP/Ilo/A – 10 kGy; 5 – PCL/PVP/Ilo/A – 15 kGy; 6 – PHBV/PCL; 7 – PHBV/PCL/PVP – 10 kGy; 8 – PHBV/PCL/PVP – 15 kGy; 9 – PHBV/PCL/PVP/Ilo/A – 10 kGy; 10 – PHBV/PCL/PVP/Ilo/A – 15 kGy

с полимеризованным PVP. Полимерные матрицы с катионным амфифилом в своем составе проявляли убедительные бактериостатические свойства в месте наложения матриц на агар, не вызывая гемолиза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение полного цикла модифицирования поверхности полимерных биodeградируемых протезов на основе как PCL, так и композиции PNBV/PCL, привело к значимому повышению атромбогенных и противомикробных свойств протезов и не ухудшило физико-механических и биосовместимых свойств разрабатываемых конструкций.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-15-00075 «Разработка биodeградируемого сосудистого протеза малого диаметра с атромбогенным и противомикробным покрытием»).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Taggart DP. Current status of arterial grafts for coronary artery bypass grafting. *Ann. Cardiothorac Surg.* 2013; 2 (4): 427–430. doi: 10.3978/j.issn.225-319X.2013.07.21. PMID: 23977618.
2. Altun G, Pulathan Z, Hemsinli D. Obturator bypass in the treatment of prosthetic graft infection: Classic but still effective. *Turk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg.* 2018; 26 (3): 480–483. doi: 10.1010.5606/tgkdc.dergisi.2018.15744. PMID: 32082784.
3. Gentili A, Di Pumpo M, La Milia DI, Vallone D, Vangi G, Corbo MI et al. A Six-Year Point Prevalence Survey of Healthcare-Associated Infections in an Italian Teaching Acute Care Hospital. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17 (21): 7724. doi: 10.3390/ijerph17217724. PMID: 33105772.
4. Welborn MB, Valentine RJ. Vascular infection. In *Vascular Medicine*; 2006. p. 859–879. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-7216-0284-4.50067-1.
5. Sousa JV, Antunes L, Mendes C, Marinho A, Gonçalves A, Gonçalves Ó et al. Prosthetic vascular graft infections: a center experience. *Angiologia e Cirurgia Vascolar.* 2014; 10 (2): 52–57. doi.org/10.1016/S1646-706X(14)70050-3.
6. Aslam S, Darouiche RO. Role of antibiofilm-antimicrobial agents in controlling device-related infections. *Int J Artif Organs.* 2011; 34 (9): 752–758. doi: 10.5301/ijao.5000024. PMID: 22094553.
7. Geipel U. Pathogenic organisms in hip joint infections. *Int J Med Sci.* 2009; 6 (5): 234–240. doi: 10.7150/ijms.6.234. PMID: 19834588.
8. Staneviciute E, Na'amnih W, Kavaliauskas P, Praka-paite R, Ridziauskas M, Kevlicius L et al. New *in vitro* model evaluating antiseptics' efficacy in biofilm-associated *Staphylococcus aureus* prosthetic vascular graft infection. *J Med Microbiol.* 2019; 68 (3): 432–439. doi: 10.1099/jmm.0.000939. PMID: 30735113.
9. Zhao G, Hochwalt PC, Usui ML, Underwood RA, Singh PK, James GA et al. Delayed wound healing in diabetic (db/db) mice with *Pseudomonas aeruginosa* biofilm challenge: a model for the study of chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2010; 18 (5): 467–477. doi: 10.1111/j.1524-475X.2010.00608.x. PMID: 20731798.
10. Ng VW, Chan JM, Sardon H, Ono RJ, Garcia JM, Yang YY et al. Antimicrobial hydrogels: a new weapon in the arsenal against multidrug-resistant infections. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014; 78: 46–62. doi: 10.1016/j.addr.2014.10.028. PMID: 25450263.
11. Ghosh C, Haldar J. Membrane-Active Small Molecules: Designs Inspired by Antimicrobial Peptides. *Chem Med Chem.* 2015; 10 (10): 1606–1624. doi: 10.1002/cmde.201500299. PMID: 26386345.
12. Molchanova N, Hansen PR, Franzyk H. Advances in Development of Antimicrobial Peptidomimetics as Potential Drugs. *Molecules.* 2017; 22 (9): 1430. doi: 10.3390/molecules22091430. PMID: 28850098.
13. Ghosh C, Haldar J. Membrane-Active Small Molecules: Designs Inspired by Antimicrobial Peptides. *Chem-MedChem.* 2015; 10 (10): 1606–1624. doi: 10.1002/cmde.201500299. PMID: 26386345.
14. Антонова ЛВ, Севостьянова ВВ, Резцова МА и др. Технология изготовления функционально активных биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра с лекарственным покрытием: пат. 2702239. Заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ) (RU); № 2019119912; заявл. 25.06.2019; опубл. 07.10.2019, Бюл. № 28. Antonova LV, Sevostyanova VV, Rezvova MA et al. Technology of producing functionally active biodegradable small-diameter vascular prostheses with drug coating: patent # 2702239. Proprietor: Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe nauchnoe uchrezhdenie «Nauchno-issledovatel'skij institut kompleksnykh problem serdechno-sosudistykh zabo-levanij» (NII KPSSZ) (RU); № 2019119912; effective date for property rights: 25.06.2019; registration date: 07.10.2019, Bull. № 28. [In Russ].
15. Fedorova AA, Azzami K, Ryabchikova EI, Spitsyna YE, Silnikov VN, Ritter W et al. Inactivation of a non-enveloped RNA virus by artificial ribonucleases: honey bees and acute bee paralysis virus as a new experimental model for *in vivo* antiviral activity assessment. *Antiviral Res.* 2011; 91 (3): 267–277. doi: 10.1016/j.antiviral.2011.06.011. PMID: 21722669.
16. Yarinich LA, Burakova EA, Zakharov BA, Boldyreva EV, Babkina IN, Tikunova NV et al. Synthesis and structure-activity relationship of novel 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane derivatives as potent antimicrobial agents. *Eur J Med Chem.* 2015; 95: 563–573. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.03.033. PMID: 25867737.

17. Burakova EA, Saranina IV, Tikunova NV, Nazarkinaa ZK, Laktionova PP, Karpinskaya LA et al. Biological evaluation of tetracationic compounds based on two 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane moieties connected by different linkers. *Bioorg Med Chem*. 2016; 24 (22): 6012–6020. doi: 10.1016/j.bmc.2016.09.064. PMID: 27720324.
18. Ye X, Wang Z, Zhang X, Zhou M, Cai L. Hemocompatibility research on the micro-structure surface of a bionic heart valve. *Biomed Mater Eng*. 2014; 24 (6): 2361–2369. doi: 10.3233/BME-141049. PMID: 25226936.
19. Shen X, Su F, Dong J, Fan Z, Duan Y, Li S. *In vitro* biocompatibility evaluation of bioresorbable copolymers prepared from L-lactide, 1, 3-trimethylene carbonate, and glycolide for cardiovascular applications. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2015; 26 (8): 497–514. doi: 10.1080/09205063.2015.1030992. PMID: 25783945.
20. Jung F, Braune S, Lendlein A. Haemocompatibility testing of biomaterials using human platelets. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013; 53 (1–2): 97–115. doi: 10.3233/CH-2012-1579. PMID: 22954639.
21. Bai J, Dai J, Li G. Electrospun composites of PHBV/pearl powder for bone repairing. *Progress in Natural Science: Materials International*. 2015; 25 (4): 327–333. doi: 10.1016/j.pnsc.2015.07.004.
22. Lyu JS, Lee JS, Han J. Development of a biodegradable polycaprolactone film incorporated with an antimicrobial agent via an extrusion process. *Sci Rep*. 2019; 9 (1): 20236. doi: 10.1038/s41598-019-56757-5. PMID: 31882928.
23. Mireles LK, Wu MR, Saadeh N, Yahia H, Sacher E. Physicochemical Characterization of Polyvinyl Pyrrolidone: A Tale of Two Polyvinyl Pyrrolidones. *ACS Omega*. 2020; 5 (47): 30461–30467. doi: 10.1021/acsomega.0c04010. PMID: 33283094.
24. Källrot M, Edlund U, Albertsson AC. Surface functionalization of degradable polymers by covalent grafting. *Biomaterials*. 2006; 27 (9): 1788–1796. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.10.010. PMID: 16257444.

*Статья поступила в редакцию 12.04.2021 г.
The article was submitted to the journal on 12.04.2021*